



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

FACULTAD DE MEDICINA

DPTO. DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Tesis Doctoral

**ESTUDIO DE LA SUPERVIVENCIA EN EL
CÁNCER COLORRECTAL EN RELACIÓN
CON EL GRADO ARQUITECTURAL
SUMATORIO Y TOPOGRÁFICO**

ISABEL GARCÍA MUÑOZ

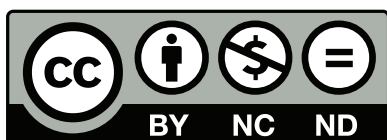
Málaga, 2013



SPICUM
servicio de publicaciones

AUTOR: Isabel García Muñoz

EDITA: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Málaga



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons:

Reconocimiento - No comercial - SinObraDerivada (cc-by-nc-nd):

[Http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es)

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es



Dpto. de Histología y Anatomía Patológica
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga

Prof. Dr. D. Alfredo Matilla Vicente, Catedrático de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de Málaga.

Prof. Dr. Luis Vicioso Recio, Prof. Titular del Dpto. de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de Málaga.

Dra. Martina Álvarez Pérez, Prof. Asociado del Dpto. de Anatomía patológica de la Facultad de Medicina de Málaga.

CERTIFICAN: Que D^a Isabel García Muñoz, ha realizado personalmente y bajo nuestra dirección el trabajo de Tesis Doctoral titulada: “Estudio de la Supervivencia en el Carcinoma Colorrectal en relación con el grado arquitectural sumatorio y topográfico.”

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes expide el presente en Málaga, a 10 de Octubre de 2013

Prof. Dr. D. Alfredo Matilla

Prof. Dr. D. Luis Vicioso

Prof. Dra. D. Martina Álvarez

A mis padres

*Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto,
y pensar lo que nadie más ha pensado.
Albert Szent Gyorgi (1893-1986).*

AGRADECIMIENTOS

Muchas son las personas que han participado en este trabajo y a ellos quiero expresar mi gratitud por el apoyo y la confianza que me han prestado.

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento a los directores de esta tesis doctoral: al Dr. Alfredo Matilla, por la idea original de este estudio, y su confianza en mí para defenderla; a la Dra. Martina Álvarez, por su paciencia y sus sabios consejos; y al Dr. Luis Vicioso, por su contribución a mi formación como patóloga en el plano asistencial e investigador.

Gracias a los pacientes, de los que nace y a los que va destinado este trabajo, que con su consentimiento desinteresado nos permiten seguir investigando sus enfermedades.

Gracias a los exresidentes del Hospital Virgen de la Victoria, por ser más que compañeros; y en especial a Dani, por su inmensa colaboración en este proyecto.

Gracias a Vanesa, José Antonio y María José, por su trabajo en la construcción de matrices y realización de técnicas de inmunohistoquímica.

Gracias a mis actuales compañeros, los miembros y el jefe del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital San Agustín de Linares, por su acogida, su apoyo, y por permitirme acudir a Málaga cada vez que lo he necesitado.

Gracias a mis hermanos, sobrinos, amigos y a todos aquellos que están cerca de mí, que han comprendido mis momentos de ausencia y me han prestado un gran apoyo moral y afectivo.

Y gracias a mis padres, por su apoyo incondicional, y por su constancia y esfuerzo en mi educación.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Abreviaturas	10
I. Introducción	11
1. Epidemiología y factores etiológicos del carcinoma colorrectal	12
1.1 Prevalencia, incidencia y mortalidad	12
1.2 Factores etiopatogénicos	17
2. Aspectos clínicos del carcinoma colorrectal	19
2.1 Forma de presentación. Signos y síntomas	19
2.2 Imagen radiológica y endoscópica	20
2.3 Marcadores tumorales: CEA	20
2.4 Tratamiento	21
3. Aspectos anatomopatológicos del carcinoma colorrectal	21
3.1 Localización y hallazgos macroscópicos	21
3.2 Histopatología. Variantes histológicas	22
3.3 Progresión y metástasis	27
3.4 Estadificación	28
3.5 Carcinogénesis del carcinoma colorrectal	38
4. Factores pronósticos del carcinoma colorrectal	42
4.1 Clasificación de los factores pronósticos	42
4.2 Factores pronósticos cronoinsensibles relacionados con el tumor	44
4.3 Factores pronósticos cronosensibles relacionados con el tumor	47
4.4 Factores pronósticos relacionados con el entorno	49
4.5 Factores pronósticos relacionados con el paciente	50
5. Grado histológico. Sistemas de gradación y valor pronóstico	50
6. Estudio IHQ de biomarcadores de proliferación y control del ciclo celular	66

II. Planteamiento del tema. Hipótesis y objetivos	73
1. Planteamiento del tema	74
2. Hipótesis	75
3. Objetivos	75
III. Material y métodos	76
1. Tipo de estudio	77
2. Población	77
3. Recogida de datos	77
4. Matrices de tejido	78
5. Valoración del grado sumatorio	83
6. Estudio inmunohistoquímico	87
7. Variables	89
8. Método estadístico	92
9. Limitaciones del estudio	92
10. Aspectos éticos de la investigación	93
IV. Resultados	94
1. Estudio descriptivo	95
1.1 Parámetros clínicos	95
1.2 Parámetros histopatológicos	96
1.3 Parámetros inmunohistoquímicos	103
1.4 Seguimiento	106
2. Estudio analítico	107
2.1 Patrones arquitecturales y distintas variables	108

2.2 Grado histológico sumatorio y distintas variables	129
2.3 Expresión de p53 y distintas variables	138
2.4 Expresión de ki67 y distintas variables	146
3. Estudio de supervivencia	153
3.1 SG	154
3.2 SGE	147
3.3 SGE y patrones arquitecturales	155
3.4 SGE y grado sumatorio	158
3.5 SGE y parámetros clínicos y pronósticos clásicos	159
3.6 SGE y marcadores de proliferación y control del ciclo celular	167
V. Discusión	170
1. Patrones arquitecturales y grado histológico sumatorio	173
1.1 Patrones arquitecturales y supervivencia	173
1.2 Grado sumatorio y supervivencia	174
1.3 Patrones arquitecturales y grado sumatorio con parámetros clínicos	175
1.4 Patrones arquitecturales y grado sumatorio con parámetros histológicos	177
2. Estudio IHQ de biomarcadores de proliferación y control del ciclo celular	182
2.1 Valor pronóstico del estudio de p53	182
2.2 Valor pronóstico del estudio de ki-67	184
VI. Conclusiones	187
VII. Bibliografía	189

ABREVIATURAS

AG	Alto grado	IHQ	Inmunohistoquímica
AJCC	American Joint Committee on cancer	MMR	Mismatch Repair
APC	Adenomatous poliposis coli	MSI	Inestabilidad de microsatélites
CAP	Colegio Americano de Patólogos	MSI-H	Alta inestabilidad de microsatélites
CCR	Carcinoma colorrectal	MSI-L	Baja inestabilidad de microsatélites
CD	Colon derecho	NAG	No alto grado
CEA	Antígeno Cárcinoembrionario	OMS	Organización Mundial de la Salud
CI-S	Colon izquierdo-sigma	pAG	Patrones alto grado
Ck	Citoqueratina	pBG	Patrones bajo grado
CT	Colon transversal	PCR	Reacción en cadena de la Polimerasa
CDKs	Kinasas dependientes de Ciclina	PK	Protein Kinasa
CU	Colitis ulcerosa	QT	Quimioterapia
dUMP	Dexoxiuridinamonofosfato	RHT	Registro Hospitalario de Tumores
dTMP	Dexoxitiminamonofosfato	RM	Resonancia Magnética
EC	Enfermedad de Crohn	RT	Radioterapia
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal	SG	Supervivencia global
FAP	Poliposis Adenomatosa familiar	SGE	Supervivencia global específica
HNPCC	CCR hereditario no asociado a poliposis	TC	Tomografía Computerizada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico	TCS	Tejido celular subcutáneo
EGF	Factor de crecimiento epidérmico	TMA	Tissue microarrays
EGFR	Receptor del EGF	TNM	Clasificación de los estadios tumorales
FISH	Hibridación in situ por IF	TS	Timidilato Sintetasa
H/E	Hematoxilina/Eosina	UICC	Union International contra el cáncer
IF	Inmunofluorescencia		

I. INTRODUCCIÓN

1. Epidemiología y factores etiológicos del carcinoma colorrectal

1.1 Prevalencia, incidencia y mortalidad

El carcinoma colorrectal (CCR) es una neoplasia muy frecuente en hombres y mujeres, y la primera causa de muerte por cáncer en países occidentales. Además se trata de un cáncer cuya incidencia no desciende, como ocurre con otras neoplasias malignas, sino que está experimentado, en algunas regiones, un aumento considerable, llegando a suponer el 9.5 % de todos los tumores. A nivel mundial el CCR es el cuarto cáncer más frecuente en hombres (tras el de pulmón, próstata y estómago); y el tercero en mujeres (tras el de mama y cérvix). El CCR tiene una distribución mundial, pero con diferencias significativas entre unas zonas y otras; presentan la incidencia más alta Europa, Australia, Nueva Zelanda, América del Norte y Japón (40-60 por 100.000)¹ (*fig. I.1*). Su incidencia es sustancialmente menor, hasta 10 veces, en Méjico, Sudamérica y África². Se considera que los factores medio ambientales y la dieta están implicados en las diferencias geográficas; entre los inmigrantes y sus descendientes se observa que la incidencia se aproxima más a la de sus países adoptivos que a la de sus países de origen³.

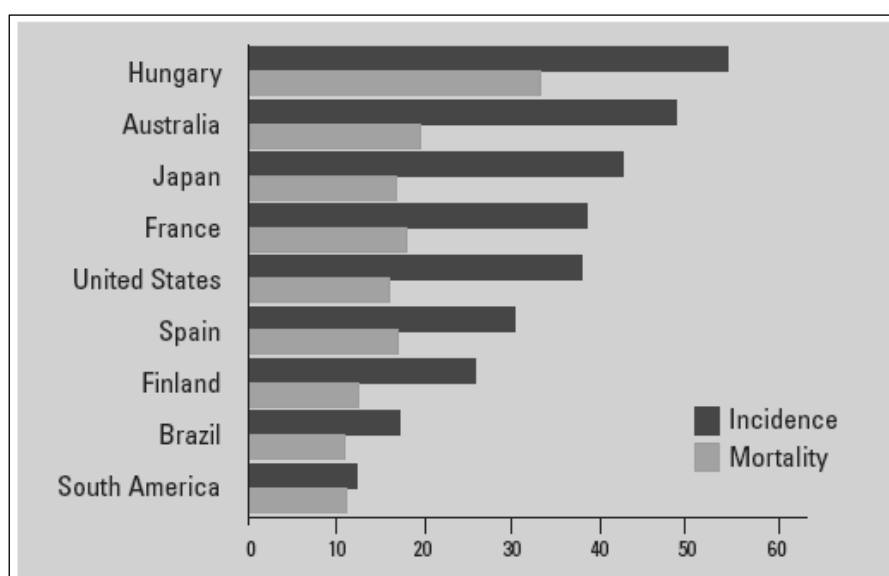


Figura I.1. Incidencia y mortalidad del CCR en determinados países. Tomada de ref. ¹.

A nivel mundial la incidencia es de más de un millón de casos (1.23 millones en 2008), que suponen 529.000 muertes; y en nuestro continente, es de 377.000 casos nuevos al año, con una mortalidad de 204.000 personas (fig. I.2 y I.3).

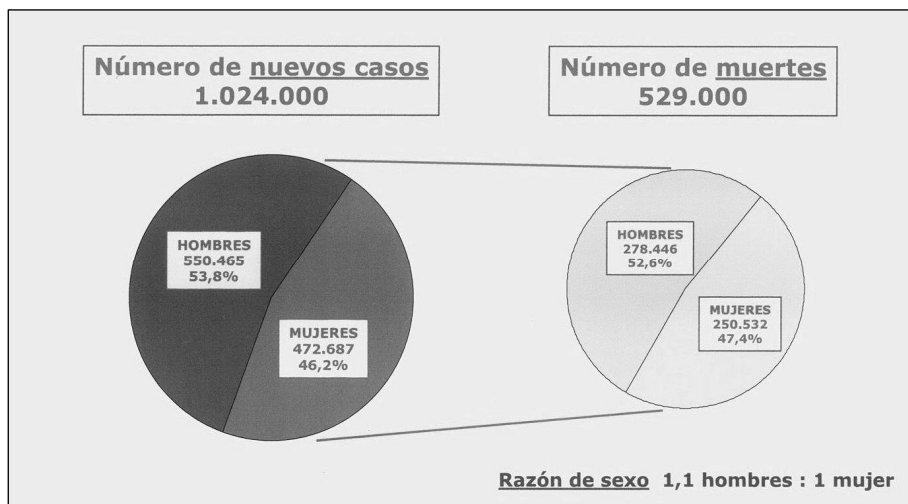


Figura I.2. Incidencia y mortalidad del CCR a nivel mundial.

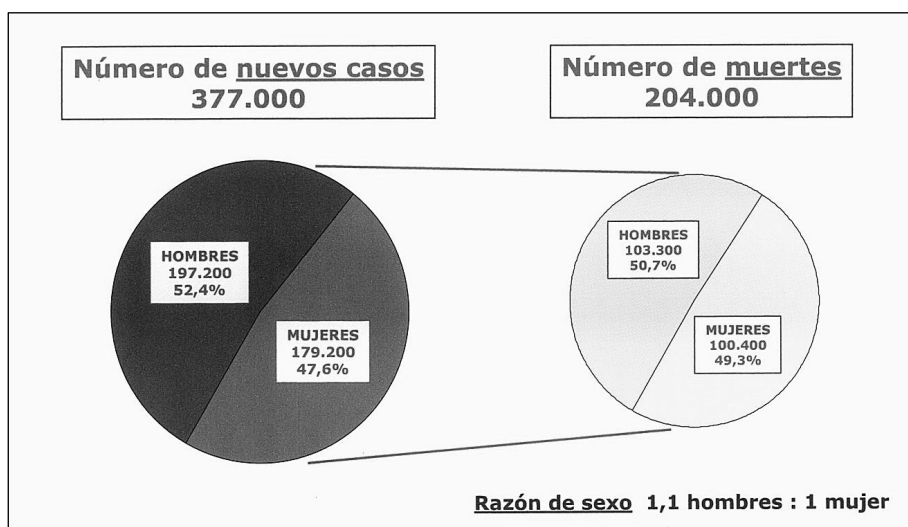


Figura I.3. Incidencia y mortalidad del CCR en Europa.

En EEUU el CCR presenta una incidencia de aprox. 148.300 casos nuevos por año, que producen 56.600 muertes/año, suponiendo el 10% de todas las muertes por cáncer en ese país.

En España se trata del tumor maligno con mayor incidencia, con 25.000 nuevos casos/año, suponiendo el 15% de los tumores; el 12.7% de los tumores malignos en hombres y el 11% en mujeres.

La supervivencia media de los pacientes con cáncer de colon en España está dentro de la media de los países europeos (49.5% para cáncer de colon y 43% para cáncer de recto), que lo sitúan como 2ª causa de muerte por cáncer (fig. I.4 y I.5).

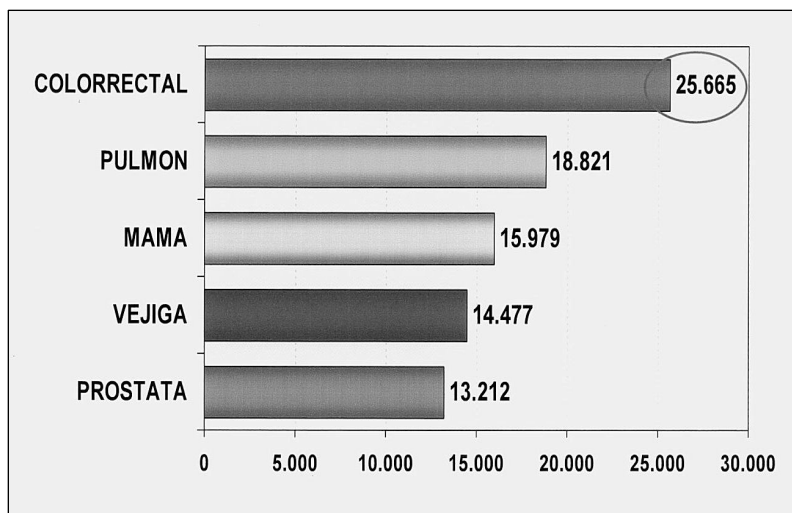


Figura I.4 Incidencia del CCR en España.

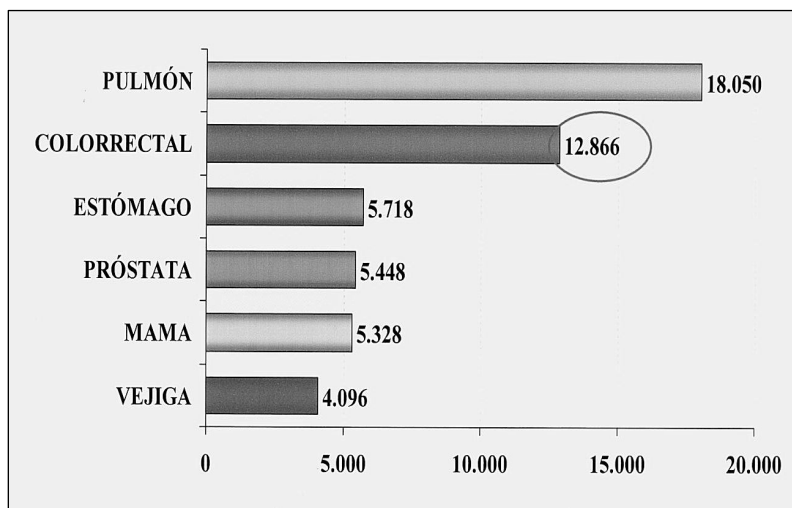


Figura I.5 Mortalidad del CCR en España.

En Andalucía en CCR es la segunda causa de muerte por cáncer (11% del total), y el más prevalente en ambos sexos. La incidencia estimada de los cánceres más frecuentes para 2002 y 2007, refleja un aumento de los CCR tanto en hombres como mujeres, con 2.893 casos nuevos en varones y 2.270 en mujeres, según el II Plan Integral de Oncología de Andalucía 2007-2012⁴ (tablas I.1 y I.2).

	2002			2007		
	INCIDENCIAS			INCIDENCIAS		
	Nº de casos	Tasa bruta	Tasa estand. (pobl. europea)	Nº de casos	Tasa bruta	Tasa estand. (pobl. europea)
HOMBRES						
Pulmón	3.116	86	83	3.084	85	77
Colon-recto	2.170	60	56	2.893	80	69
Próstata	1.867	52	46	2.385	66	54
Vejiga urinaria	1.511	42	39	1.640	45	38
Estómago	634	18	17	614	17	15
Laringe	591	16	17	510	14	13
Total	15.095	418	400	16.729	460	412
MUJERES						
Mama	3.862	105	98	4.925	132	115
Colon-recto	1.755	48	36	2.270	61	43
Vejiga urinaria	153	4	3	136	4	2
Estómago	324	9	6	300	8	5
Total	10.045	273	234	11.426	307	248

Tabla I.1. Estimaciones para la incidencia total de cánceres más frecuentes en Andalucía. Tomada del II Plan Integral Oncología de Andalucía 2007-2012.

	HOMBRES			MUJERES		
	Prevalencia a 1 año	Prevalencia a 3 años	Prevalencia a 5 años	Prevalencia a 1 año	Prevalencia a 3 años	Prevalencia a 5 años
Pulmón	1.583	2.919	3.651	--	--	--
Mama	--	--	--	4.452	11.990	18.056
Colon-Recto	2.151	5.045	7.016	1.727	4.106	5.758
Próstata	1.912	4.654	6.518	--	--	--
Cuerpo de útero	--	--	--	--	--	--
Laringe	437	1.146	1.748	--	--	--
Vejiga urinaria	1.338	3.361	4.896	101	244	354
Estómago	344	723	984	174	379	527
Total cáncer	11.859	28.347	40.253	8.854	22.624	33.566

Tabla I.2. Estimaciones de la prevalencia de cánceres en Andalucía según sexo y localización. Tomada del II Plan Integral Oncología de Andalucía 2007-2012.

Se estima que entre los años 2010 y 2014 el número de fallecimientos en nuestra comunidad autónoma, a causa del CCR, será de 6.393 hombres (11% de todos los cánceres), y de 5.101 mujeres (16%) (*Tablas I.3 y I.4*).

LOCALIZACIÓN	DEFUNCIONES	%	TASAS AJUSTADAS 10 ⁵
Todos	58.078	100	253,65
Pulmón	17.390	29,9	78,36
Colorrectal	6.393	11,0	26,8
Próstata	4.951	8,5	18,88
Vejiga	3.770	6,5	15,43
Hígado	3.439	5,9	15,03
Estómago	3.299	5,7	14,34
Laringe	1.644	2,8	7,59
Leucemias	1.592	2,7	6,99
Linfoma no Hodgkin	1.279	2,2	5,83
Esófago	1.107	1,9	5,11

Tabla I.3. Estimación del número de defunciones por cáncer en varones. . Tomada del II Plan Integral Oncología de Andalucía 2007-2012.

LOCALIZACIÓN	DEFUNCIONES	%	TASAS AJUSTADAS 10 ⁵
Todas	31.868	100	103,77
Mama	5.792	18,0	21,55
Colorrectal	5.101	16,0	15,22
Útero	1.681	5,3	5,72
Ovario	2.204	6,9	8,09
Pulmón	1.918	6,0	6,71
Estómago	1.524	4,8	4,62
Hígado	1.255	3,9	3,62
Páncreas	1.245	3,9	3,83
Leucemias	1.108	3,5	3,73
SNC	869	2,7	3,47

Tabla I.4. Estimación del número de defunciones por cáncer en mujeres. Tomada del II Plan Integral Oncología de Andalucía 2007-2012.

1.2. Factores etiopatogénicos

La etiología del CCR se relaciona con factores genéticos y ambientales⁵. Entre los **factores ambientales**, la dieta y el estilo de vida juegan un papel relevante. Se observa una alta incidencia de CCR en poblaciones con dieta occidental y vida sedentaria. Diversos estudios demuestran que las familias que han emigrado desde áreas de bajo riesgo a EEUU, han adquirido al cabo de 20 años, la tasa prevalente del nuevo continente. Y se ha observado una asociación inversa entre el CCR y el consumo de vegetales, el uso prolongado de Antiinflamatorios no esteroideos, la terapia hormonal y la actividad física⁶.

Los **factores dietéticos** más relevantes son la ingesta excesiva de calorías en relación con los requerimientos, el bajo contenido de fibras vegetales inabsorbibles, el alto contenido de hidratos de carbono refinados, el consumo de carnes rojas, y la disminución de micronutrientes protectores.

Se considera que la disminución del consumo de fibra conduce a un menor volumen y a un aumento del tiempo del tránsito en el intestino, y a alteraciones de la flora bacteriana intestinal. Los productos colaterales oxidantes, potencialmente tóxicos, de la degradación de hidratos de carbono por bacterias se encontrarían presentes a concentraciones más altas en las heces y se mantienen en contacto con la mucosa del colon durante periodos de tiempo más largos. Además, la ingesta alta de colesterol con carnes rojas potencia la síntesis de ácidos biliares que pueden ser convertidos en carcinógenos potenciales por las bacterias intestinales^{7 8 9 10}. Las dietas refinadas contienen también menos vitaminas A, C y E, capaces de actuar como aceptores de radicales de oxígeno.

Pero aunque existen muchas especulaciones interesantes, aun no se conocen con exactitud los mecanismos responsables de los posibles efectos de la dieta en la etiopatogenia del CCR¹¹.

Otro factor etiológico importante es la **inflamación crónica**, como demuestra la mayor incidencia de CCR entre los pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal¹². El riesgo aumenta después de los 8-10 años de la enfermedad y es mayor en pacientes con inicio temprano y afectación extensa. Los pacientes con

Colitis Ulcerosa (CU) padecen una incidencia de CCR 20 veces mayor que el resto de la población^{13 14 15 16}. Los CCR asociados a CU pueden ser múltiples, planos, infiltrativos, mucinosos y con células en anillo de sello. Aunque las alteraciones moleculares en los CCR esporádicos y asociados a CU son similares, se han visto diferencias en frecuencia y secuencia de alteraciones genéticas; la mutación APC ocurre más tarde y la mutación de TP53 tiene lugar de forma más precoz en los CCR asociados a CU. La proctitis ulcerosa no se asocia a mayor riesgo de carcinoma. En los pacientes con Enfermedad de Crohn (EC) el riesgo de CCR es tres veces el de la población normal¹⁷, y existe riesgo de adenocarcinoma de intestino delgado y grueso. Los adenocarcinomas mucinosos son vistos en la EC con mayor frecuencia que en CCR esporádicos¹⁸, y estos pacientes también presentan un incremento de frecuencia de adenocarcinomas en fístulas perianales, y de carcinomas escamosos en mucosa anal¹⁹.

La **irradiación pélvica**, principalmente por cánceres ginecológicos previos, se considera un raro pero bien reconocido factor etiológico de CCR²⁰.

La implicación de **factores genéticos** en la etiopatogenia del CCR es obvia, como demuestran la alta predisposición en los pacientes con Poliposis Adenomatosa Familiar (FAP), que alcanza el 100% a los 50 años; y los pacientes con Síndrome de Lynch o Síndrome de cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (HNPCC, del inglés: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer), que desarrollan CCR en el 80-90% de los casos^{21 22 23}.

Los pacientes con **FAP** presentan numerosos pólipos adenomatosos (al menos 100), que tienden a progresar a CCR, junto a otras manifestaciones. La enfermedad, que se hereda de forma autosómica dominante, se caracteriza por una mutación en el gen (APC) Adenomatous Poliposis Coli, localizado en el brazo largo del cromosoma 5 (5q21-22). Los criterios diagnósticos actuales establecidos para diagnosticar esta enfermedad son los siguientes: 100 o más adenomas colorrectales, o mutación germinal del gen APC, o historia familiar de FAP junto a al menos una de las siguientes manifestaciones: quistes epidermoides, osteomas o tumor desmoide. Los adenomas de los pacientes con FAP presentan morfología tubular y recuerdan a los adenomas esporádicos, con una distribución más frecuente en recto y sigma. Lo más importante de esta enfermedad es su

invariable progresión a CCR a una edad media de 40 años. El CCR de la FAP es histológicamente idéntico al esporádico.

El **HNPCC** (Síndrome de Lynch) es una enfermedad también autosómica dominante, caracterizada por el desarrollo de CCR, carcinoma endometrial, cáncer de intestino delgado, uréter o pelvis renal. Los criterios diagnósticos actuales de esta enfermedad son los siguientes (Criterios Amsterdam II, (2004): al menos tres pacientes con cáncer en las localizaciones asociadas a HNPCC que cumplan los siguientes parámetros: uno de ellos debe ser pariente de primer grado con respecto a los otros dos; al menos dos generaciones sucesivas deben estar afectadas; al menos un tumor debe ser diagnosticado antes de los 50 años; debe ser excluida la FAP en los casos de CCR; y los tumores deben ser verificados histológicamente. Las lesiones colorrectales de los pacientes con HNPCC se presentan a edad más temprana y en localización proximal. Los adenomas que aparecen en los pacientes con HNPCC tienen morfología vellosa y son más displásicos que los adenomas detectados en la población general, y aunque se pueden observar en gran número, nunca llegan a presentar una poliposis florida. CCR sincrónicos o metacrónicos se han observado en el 35% de los pacientes, y el 90% de los casos muestran inestabilidad de microsátélites (MSI)²⁴.

2. Aspectos clínicos del carcinoma colorrectal

2.1 Forma de presentación. Signos y síntomas

La edad media de presentación se sitúa entre los 60 y 79 años. El CCR es raro antes de los 40 años, en pacientes sin factores de riesgo (síndromes con susceptibilidad genética o EII).

El CCR se puede presentar con sangrado rectal, cambios en el hábito intestinal, anemia o dolor abdominal. La obstrucción intestinal es más frecuente en los situados en el colon izquierdo y rara en los CCR de ciego y colon ascendente. La perforación intestinal puede ocurrir de forma poco frecuente, y se puede dar en el sitio del tumor o en el ciego como resultado de la distensión causada por la obstrucción de un carcinoma distal. El CCR puede permanecer asintomático durante mucho tiempo, y la presentación de síntomas puede indicar un estadio

avanzado de la enfermedad. Por esta razón se realizan programas de screening en la población para detectarlo en fases iniciales.

2.2 Imagen radiológica y endoscópica

Las técnicas de imagen actuales permiten detectar el CCR en estadios precoces y asintomáticos, y ayudan a realizar la estadificación. La TC y la RM permiten establecer la invasión tumoral y la presencia de metástasis regionales y a distancia²⁵.

La endoscopia permite visualizar toda la superficie mucosa del intestino grueso y realizar biopsias de lesiones identificadas. La apariencia del CCR es muy característica, presentándose en la mayoría de los casos como lesiones excrecentes y ulceradas, fácilmente biopsiables (*fig. I.6*).



Figura I.6. Imágenes endoscópicas de CCR. A-polipode. B-plano. C-Ulcerado. Tomada de ref. ¹.

2.3 Marcadores tumorales: CEA

El Antígeno Carcinoembrionario (CEA) ha sido detectado en el suero del 72-97% de los pacientes con CCR^{26 27}. Los valores elevados desaparecen después de la resección tumoral, reapareciendo en los casos de recurrencia y metástasis. Los valores más altos se asocian a tumores que se extienden más allá de la pared intestinal, a los pobremente diferenciados y a tumores con invasión vascular, linfática y perineural²⁸. Pero su elevación no es específica, se detectan niveles altos de CEA en carcinomas de otras localizaciones (estómago, páncreas, mama y próstata), y en pacientes con enfermedad hepática o renal. Debido a que puede no estar elevado en estadios muy iniciales, no se considera un buen método de

screening. Se utiliza principalmente para monitorizar el tratamiento y para la detección precoz de metástasis^{29 30}.

2.4 Tratamiento

El tratamiento estándar para el CCR es la resección quirúrgica, con el tipo de cirugía apropiado según la localización anatómica³¹. Los CCR de ciego y colon ascendente se tratan con ileocolectomía, y los tumores localizados más allá de la reflexión peritoneal han sido tratados tradicionalmente con resección abdominoperineal, pero actualmente se ha visto que las técnicas quirúrgicas que conservan el esfínter pueden ser muy efectivas en casos seleccionados³². Para el resto de localizaciones el tratamiento es la resección anterior, con una extensión que permita extirpar los ganglios linfáticos potencialmente afectados. La tasa de CCR resecables es del 92%, y la mortalidad por la cirugía del 2%. Las colonoscopias periódicas en los primeros años tras la cirugía son muy importantes porque permiten detectar recurrencias potencialmente curables. Otros métodos como la resección transrectal endoscópica, la fulguración o la escisión local son alternativas aceptables para carcinomas rectales de pequeño tamaño, superficiales y bien diferenciados³³.

El papel de la quimioterapia y radioterapia pre y postoperatoria en casos operables de CCR, y particularmente de recto, ha sido ampliamente investigado; algunos estudios muestran una disminución de las recurrencias locales y un aumento de supervivencia en los pacientes con carcinoma rectal tratados con quimioterapia y radioterapia postoperatoria³⁴. Y grandes estudios europeos han mostrado un aumento de supervivencia con radioterapia preoperatoria combinada con escisión total mesorectal³⁵.

Las metástasis hepáticas y de otros órganos, únicas o incluso múltiples, también se pueden beneficiar del tratamiento quirúrgico.

3. Aspectos Anatomopatológicos del carcinoma colorrectal

3.1. Localización y hallazgos macroscópicos

Aproximadamente el 55% de los CCR se localizan en la región rectosigmoidea, en ciego y colon ascendente el 22%, en colon transversal el 11%, y en otras zonas

el 6%³⁶. Se ha descrito cierta correlación entre la localización del tumor y los hallazgos clínicos³⁷. Así se ha visto que los tumores localizados en colon derecho se presentan con más frecuencia en ancianos, en pacientes de raza negra y en pacientes con enfermedad diverticular^{38 39 40}.

El aspecto macroscópico del tumor depende de la fase en la historia natural de la lesión en el momento del diagnóstico y también de la localización. El CCR se puede presentar de diversas formas, como una masa exofítica con crecimiento predominantemente intraluminal; como una lesión endofítica y ulcerada con crecimiento predominantemente intramural; como un lesión difusamente infiltrativa/linnitis plástica; o como una afectación circunferencial/anular de la pared intestinal⁴¹. Los CCR localizados en colon proximal se suelen presentar como masas exofíticas, mientras que los localizados en colon transverso y descendente suelen tener morfología endofítica o anular. Éstos últimos, de morfología plana o infiltrante, se piensa que se originan de novo desde la mucosa sana, y no como transformación maligna de un adenoma previo^{42 43}; y muestran mayor tendencia a la infiltración estromal e invasión linfática que los de tipo exofítico o polipoide⁴⁴ (*fig. I.7*).

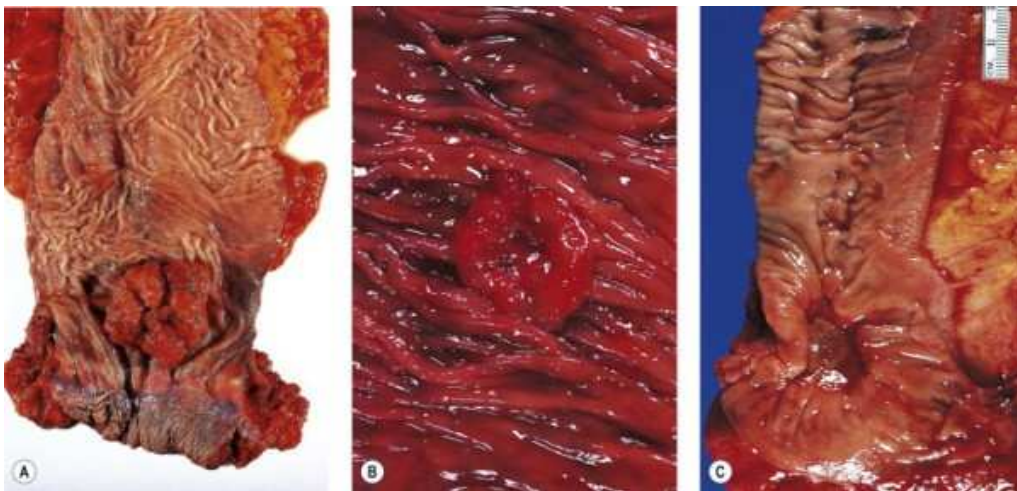


Figura I.7. Imágenes macroscópicas de CCR. A-polipoide. B-exofítico-ulcerado. C-plano infiltrante. Tomada de ref. ³⁶.

3.2 Histopatología. Variantes histológicas.

A diferencia de la patología macroscópica, las características microscópicas de los CCR son similares entre sí, con independencia de su localización. La mayoría son

adenocarcinomas bien o moderadamente diferenciados, con secreción de mucina en cantidad variable y abundantes detritus celulares (*fig. I.8*).

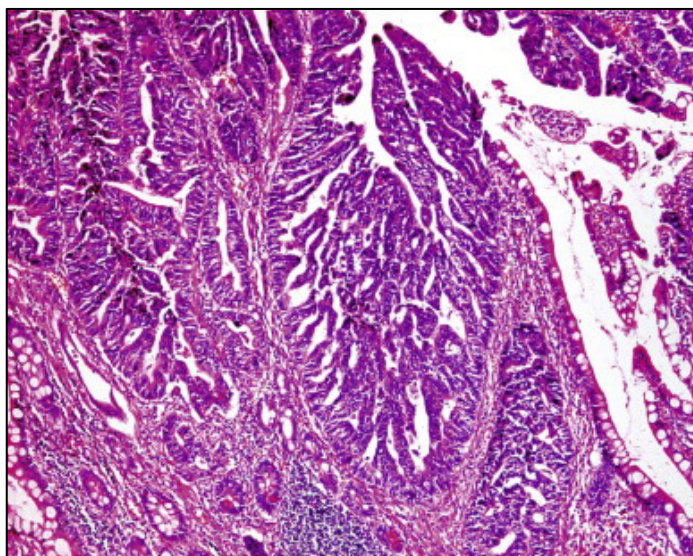


Figura I.8. Imagen histológica de CCR. Tomada de ref.³⁶.

La diferenciación puede oscilar desde células tumorales altas que recuerdan a sus equivalentes en las lesiones adenomatosas, hasta masas indiferenciadas francamente anaplásicas, y hasta en el 10% de los CCR se pueden observar focos de diferenciación endocrina. El CCR infiltrante muestra una gran respuesta desmoplásica e inflamatoria del estroma circundante, mas evidente en los bordes de la lesión, y que conduce a la característica consistencia firme de estos carcinomas. La mayoría de las células inflamatorias acompañantes son linfocitos T, pero linfocitos B, células plasmáticas, histiocitos y células dendríticas pueden estar presentes^{45 46}.

El tumor puede invadir todas las capas de la pared intestinal, y extenderse hasta grasa pericólica, e invadir espacios perineurales y vasculares.

En los bordes del tumor se pueden evidenciar focos de pólipo residual, o más frecuentemente cambios hiperplásicos de la mucosa, que se conoce como mucosa transicional, y que se reconoce como un proceso reactivo que también se observa en los bordes de otros tumores (linfomas, carcinomas metastásicos, etc) y de lesiones no neoplásicas^{47 48 49}.

A nivel histo e inmunohistoquímico, la gran mayoría de lo CCR son positivos para tinciones de mucina, expresan MUC1 y MUC3, y son invariablemente

positivos para citoqueratinas, con un patrón característico de Ck20 + y Ck7 -, que permite realizar el diagnóstico diferencial con adenocarcinomas de otras localizaciones, como pulmón y ovario^{50 51}. Los carcinomas pobremente diferenciados pueden presentar patrones de inmunoreactividad aberrantes⁵². La positividad para CEA es casi constante, tanto que la ausencia de expresión de este marcador en un adenocarcinoma hace el origen colónico poco probable⁵³. Además las células tumorales expresan una tinción difusa, a diferencia de la tinción polar de las células normales⁵⁴. Existe buena correlación entre la inmunotinción para CEA y los niveles séricos, pero no con el estadio ni el grado de diferenciación⁵⁵⁵⁶. Una minoría de CCR, especialmente los indiferenciados, pueden expresar Calretinina⁵⁷; y un alto porcentaje de CCR expresan reactividad para HCG, especialmente los mucinosos y pobremente diferenciados⁵⁸. La fosfatasa alcalina placentaria se detecta en el 10% de los CCR⁵⁹. Los receptores de estrógenos y progesterona suelen estar ausentes en la mayoría de los casos; y cuando están presentes sólo se expresan en una minoría de las células tumorales⁶⁰.

Recientemente se ha detectado la expresión de CDX2 en la mayoría de los CCR, y ha resultado ser un marcador útil para realizar el diagnóstico diferencial con carcinomas de otro origen; pero no es un marcador específico y puede estar presente en carcinomas mucinosos de ovario y vejiga⁶¹.

Variantes histológicas:

Existen diversas variantes histológicas reconocidas del CCR, y algunas de ellas muestran características moleculares específicas. Las recogidas en la última edición del libro de la OMS son las siguientes:

-Carcinoma mucinoso: Supone el 15% de todos los CCR. Se presenta con grandes lagos de mucina extracelular, mezclada con colecciones de células tumorales (*fig. 1.9*), por definición, el componente mucinoso debe suponer al menos la mitad del tumor. En algunos casos se acompaña de mucina intracelular dando lugar a células en anillo de sello. Suelen ser lesiones con morfología exofítica. Son mas frecuentes en recto y en general se considera que tienen peor pronóstico que el adenocarcinoma convencional^{62 63}. Muchos de los carcinomas mucinosos presentan alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y por tanto son de bajo grado; aquellos que no presentan inestabilidad de microsatélites o tienen baja inestabilidad (MSI-L) se comportan como lesiones de alto grado. Los

carcinomas que presentan áreas mucinosas, pero que no alcanzan el 50% de la lesión, se clasifican como adenocarcinomas convencionales con componente mucinoso.

-Carcinoma de células en anillo de sello: El 50% del tumor debe estar compuesto por células en anillo de sello. Suele afectar a pacientes más jóvenes. Se presenta macroscópicamente como una infiltración difusa de la pared, y al microscopio se observan células con mucina intracelular que desplaza al núcleo adoptando la imagen característica que le da nombre a esta variante (*fig. I.9*). El patrón de extensión es por diseminación peritoneal y en general tiene peor pronóstico^{64 65}. En los casos en los que se presenta con alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) se comporta como lesiones de bajo grado, pero aquellos que no muestran esa alta inestabilidad son muy agresivos. Si las áreas con células en anillo de sello no suponen el 50% de la neoplasia se consideran adenocarcinomas convencionales con componente de células en anillo de sello.

-Carcinoma de células claras: Variante morfológica muy infrecuente en la que la acumulación de glucógeno en el interior del citoplasma de las células neoplásicas da una apariencia característica⁶⁶. Su importancia radica en el diagnóstico diferencial con metástasis de otras localizaciones.

-Carcinoma medular: Variante poco frecuente que suele afectar a ciego y se da más en mujeres. Se caracteriza por nidos de células malignas indiferenciadas, con prominente nucleolo, y abundante citoplasma eosinófilo, inmersas en un denso infiltrado linfocitario. Esta variante está invariablemente asociada a alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y tiene un pronóstico más favorable⁶⁷.

-Carcinoma con diferenciación escamosa: Es más frecuente en neoplasias localizadas en ciego. En la mayoría de los casos el componente escamoso va asociado al componente glandular (carcinoma adenoescamoso) y en muy raras ocasiones se puede observar de forma pura (carcinoma escamoso)⁶⁸.

-Carcinoma hepatoide: Variante muy infrecuente y con características histológicas similares a su contrapartida gástrica, mucho más común.

-Carcinoma con diferenciación endocrina: Nos podemos encontrar en el 10-50% de los CCR con células aisladas con diferenciación endocrina en un adenocarcinoma convencional, hecho sin significación pronóstica^{69 70}; o con tumores mixtos que muestran adenocarcinoma convencional entremezclado con áreas de diferenciación endocrina; o tumores totalmente compuestos por células

grandes neuroendocrinas; o el típico carcinoma neuroendocrino de células pequeñas, idéntico al de otras localizaciones. Éste último con peor pronóstico^{71 72}.

-Adenocarcinoma serrado: Rara variante con arquitectura similar a los pólipos sesiles serrados, con bajo ratio núcleo/citoplasma, y que se puede acompañar de áreas mucinosas, cribiformes o trabeculares. Este tipo de neoplasias se ha observado asociada a baja o alta inestabilidad de microsatélites, mutaciones de BRAF, y áreas de hipermetilación CpG.

-Adenocarcinoma tipo comedo-cribiforme: Tumor infrecuente que muestra glándulas de patrón cribiforme con necrosis central, similar al observado en mama. Normalmente presenta estabilidad para microsatélites con hipermetilación CpG.

-Adenocarcinoma micropapilar: Variante poco frecuente que muestra como peculiaridad la presencia de pequeños agregados de células tumorales sin estroma interpuesto, que recuerda a canales vasculares. Ha sido descrita también en cáncer de mama y vejiga. Este patrón puede ser visto como un componente diferenciado dentro de un carcinoma de colon convencional. A nivel inmunohistoquímico muestra un característico patrón de tinción con MUC1.

-Carcinoma de células fusiformes: Carcinoma bifásico con componente sarcomatoso de células fusiformes, que muestran, al menos focalmente, inmunotinción positiva para citoqueratinas.

-Carcinoma indiferenciado: Este nombre se asigna a aquellos tumores que no muestran evidencias morfológicas, inmunohistoquímicas, ni moleculares de diferenciación. Pueden presentar variables hallazgos histológicos y algunos de estos tumores muestran alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H).

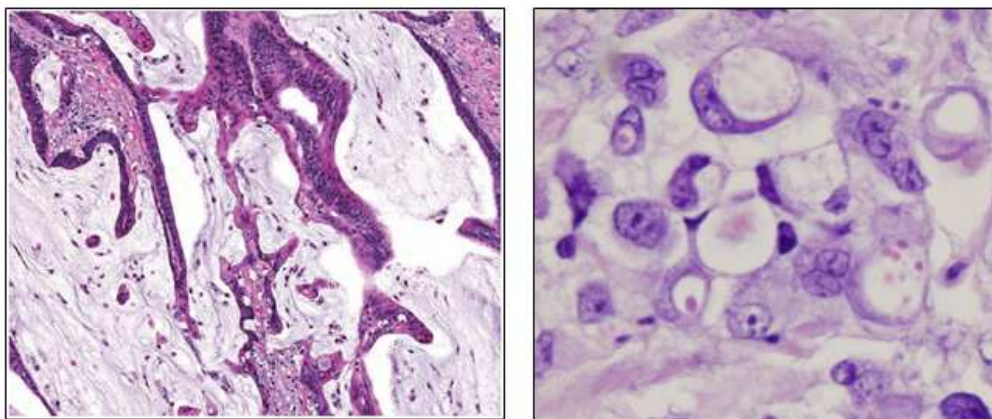


Figura I.9. CCR mucinoso y CCR con células en anillo de sello.

3.3 Progresión y metástasis

El CCR progresa extendiéndose a través de la pared intestinal alcanzando tejidos pericólicos y perirrectales, y pudiendo afectar, en aquellos casos más avanzados, estructuras adyacentes. Las consecuencias de la extensión directa de la neoplasia dependen principalmente de la localización anatómica de la lesión: en el caso de carcinomas rectales se pueden ver afectadas estructuras pélvicas como vagina o vejiga; y en los tumores colónicos se puede afectar directamente la cavidad peritoneal. La afectación de la superficie peritoneal debe ser diagnosticada sólo en aquellos casos en los que el peritoneo está ulcerado, o se observan claramente células neoplásicas penetrando en el mesotelio.

La extensión por vía tanto linfática como vascular, se ha observado que puede ocurrir desde fases muy tempranas de la historia natural del CCR, y se asocia a peor pronóstico. Se ha observado que las metástasis ganglionares son más frecuentes en los tumores pobremente diferenciados y en los de patrón de crecimiento muy infiltrante⁷³, y tienen una significación pronóstica muy relevante, por lo que se debe realizar un estudio muy minucioso de los ganglios linfáticos en las piezas de resección intestinal. Las últimas recomendaciones estiman que se deben localizar un mínimo de 14 a 15 ganglios linfáticos en cada pieza de resección de CCR⁷⁴ para realizar un estudio correcto de la afectación ganglionar. La presencia de micrometástasis ganglionares pueden ser detectadas tras la realización de cortes seriados y estudio inmunohistoquímico⁷⁵, o con los nuevos sistemas de detección molecular⁷⁶, pero su significación pronóstica aun no está del todo establecida.

En cuanto a las metástasis extranodales, el órgano más frecuentemente afectado por metástasis de CCR es el hígado, y son más frecuentes en aquellos tumores que muestran invasión vascular. También se pueden observar metástasis en otros órganos como peritoneo, pulmón y ovario; y de forma mucho más infrecuente se han detectado metástasis en otras localizaciones como SNC, hueso, testículo, útero o cavidad oral.

3.4 Estadificación

Se han descrito diversas clasificaciones para estatificar el CCR. En el año 1937 Dukes propuso su famoso sistema de estadificación para el carcinoma rectal que también se aplicó al carcinoma de colon⁷⁷, y que aun se sigue usando por su relación directa con el pronóstico.

Este sistema se basa en dos parámetros histopatológicos:

- grado de invasión de la pared intestinal
- ausencia/presencia de metástasis ganglionares

Sistema de Estadificación de **Dukes** (1937) para el CCR:

- A- Afectación de la pared intestinal.
- B- Afectación más allá de la pared intestinal.
- C- Afectación ganglionar.

Este sistema ha sufrido diversas modificaciones, la primera de ellas propuesta por el propio Dukes, que subdividió la categoría C en C1 y C2 según la localización de los ganglios linfáticos afectados (*fig. I.10*). Y posteriormente se añadió la categoría D para aquellos pacientes con metástasis a distancia⁷⁸.

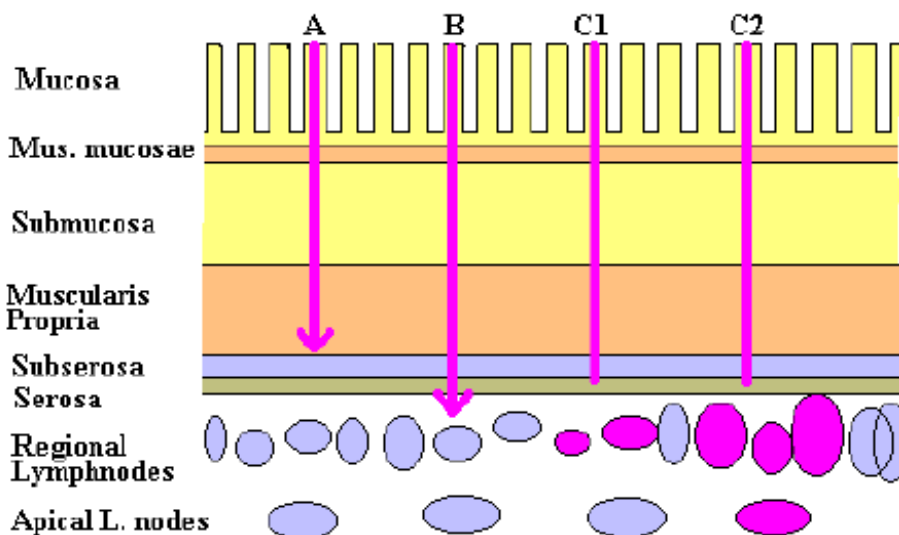


Figura I.10. Estadificación de Dukes para el CCR.

En 1954 **Astler y Coller**⁷⁹ propusieron un nuevo sistema de estadificación del CCR, que se ha mantenido hasta la actualidad.

Estadificación de **Astler y Coller** para el CCR (*fig. I.11*):

- A: El tumor está limitado a la mucosa.
- B₁: Infiltra la capa muscular propia, sin atravesarla y los ganglios linfáticos no están afectados.
- B₂: Atraviesa la capa muscular propia, pero los ganglios linfáticos no están afectados.
- C₁: Infiltra la capa muscular propia, sin atravesarla, pero afecta los ganglios linfáticos.
- C₂: Atraviesa la capa muscular propia y afecta los ganglios linfáticos.
- D: Existen metástasis a distancia.

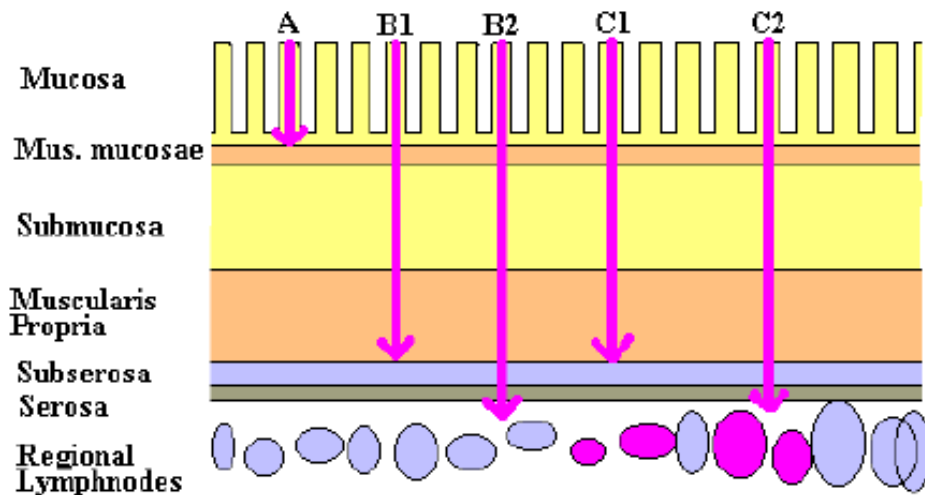


Figura I.11. Estadificación de Astler-Coller para el CCR.

Posteriormente se publicó otro sistema de estadificación para el CCR propuesto por **Jass et al**⁸⁰ en 1987, en el que además de los parámetros anatómicos usados en las anteriores clasificaciones: invasión de la pared y afectación ganglionar; se añaden otros parámetros biológicos como la infiltración linfocítica peritumoral o el patrón de crecimiento en el margen tumoral (*fig. I.12 y I.13*).

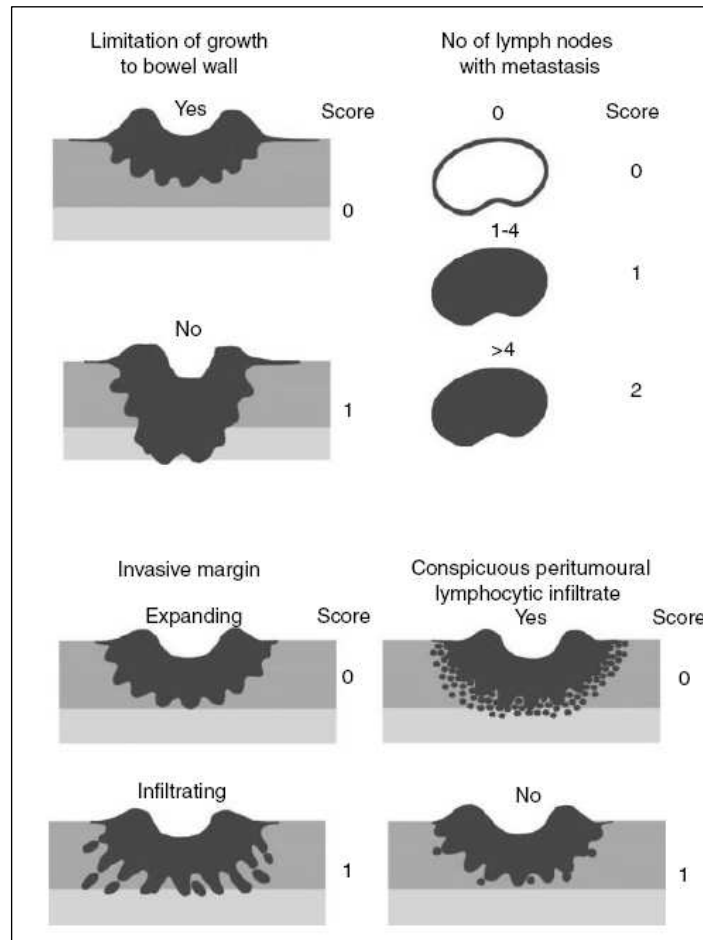


Figura I.12. Esquema de la estadificación de Jass para el CCR⁸⁰.

Crecimiento limitado a la pared intestinal	SI	0	PUNTAJÓN TOTAL	GRUPO JASS
	NO	1		
Crecimiento invasivo	Expansivo	0	0-1	I
	Infiltrante	1	2	II
Infiltrado linfocítico peritumoral evidente	SI	0	3	III
	NO	1	4-5	IV
Número de metástasis en ganglios linfáticos	0	0		
	1-4	1		
	>4	2		

Figura I.13. Sistema de puntuación y grupos de Jass del CCR⁸⁰.

Se han publicado diversos estudios que comparan los distintos tipos de clasificación del CCR y su significación pronóstica, así como la combinación de varios de ellos. Haslam AC et al⁸¹ realizaron un estudio con 612 pacientes en los que compararon los estadios de Dukes y Jass con la supervivencia a 5 años, concluyendo que la combinación de los criterios biológicos de la clasificación de Jass unidos a los de la clasificación de Dukes, permiten separar subgrupos de pacientes Dukes B y C con diferencias significativas en la supervivencia a 5 años (fig. I.14).

	n	% survival	Log rank
Dukes A			
Total	49	89.80	< 0.0005
Jass I	44	95.45	
Jass II	5	40.00	
Dukes B			
Total	212	62.26	P = 0.0018
Jass I	4	75.00	
Jass II	99	73.74	
Jass III	109	51.38	
Dukes C			
Total	214	29.91	P = 0.0029
Jass II	6	83.33	
Jass III	44	43.18	
Jass IV	164	24.39	
Dukes D			
Total	20	5.00	P = 0.1609
Jass III	3	33.33	
Jass IV	17	0.00	
Total	495	48.69	

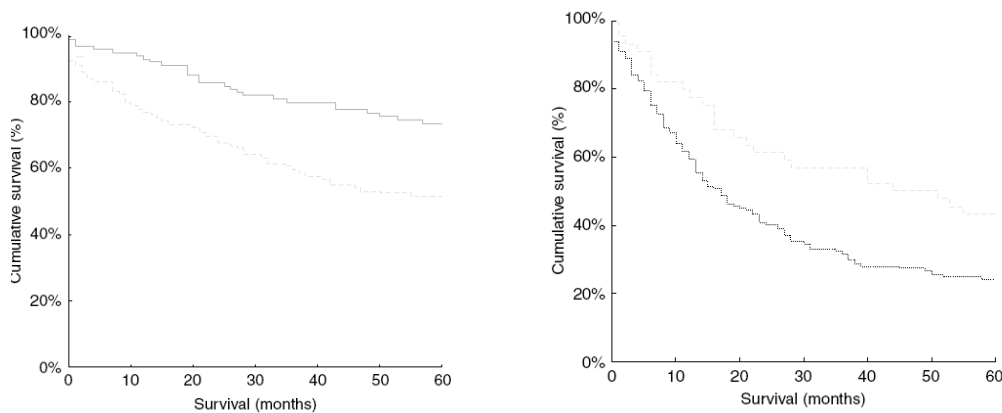


Figura I.14. Supervivencia a 5 años de pacientes con estadio Dukes B (Jass II y III), y pacientes con estadio Dukes C (Jass III y IV)⁸¹.

Pero sin duda, el sistema más ampliamente usado en la actualidad es el **TNM** propuesto por el American Joint Committee on Cancer (AJCC), y la International Union Against Cancer (UICC)^{82 83}. Es el sistema recomendado por el College of American Pathologist, el Royal College of Pathologists, la Commission on Cancer of the American College of Surgeons, y el Nacional Cancer Institute. El TNM es en definitiva el lenguaje internacional de la estadificación del CCR en todas las disciplinas. Como en los anteriores, se valora la extensión de la afectación de la pared, el estado de los ganglios linfáticos y las metástasis a distancia. La T se refiere a la extensión local del tumor primario no tratado, la N al estado de los ganglios linfáticos regionales, y la M hace referencia a las metástasis a distancia (fig. I.15 y I.16). La letra “p” precediendo a las siglas TNM se refiere a la determinación realizada por el patólogo; mientras que la letra “c” hace referencia a la determinación clínica.

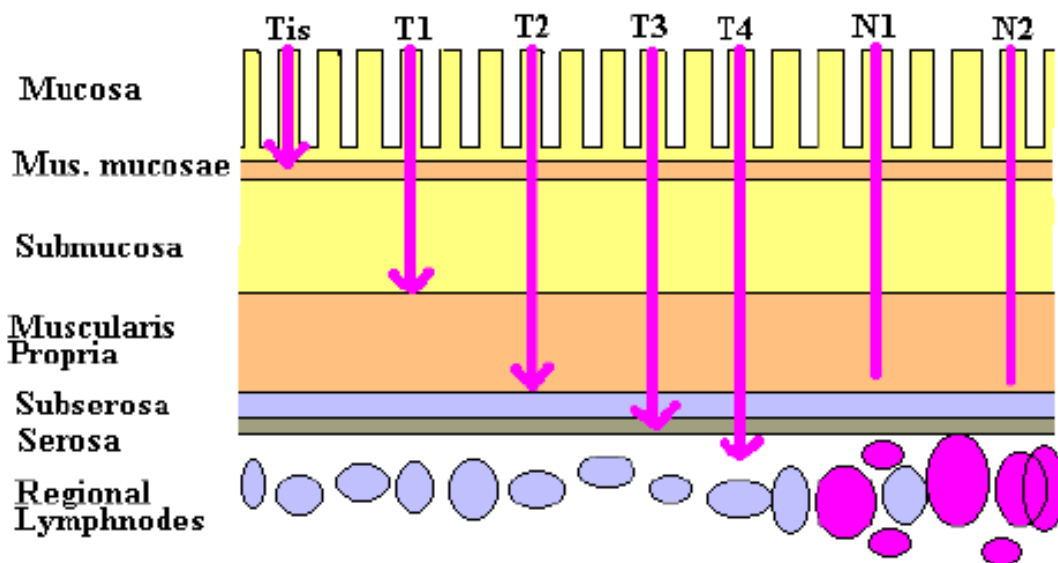


Figura I.15. Estadificación TNM del CCR.

T: tumor primario

Tx- El tumor primario no puede ser valorado

T0- Sin evidencia de tumor primario

Tis- Carcinoma in situ: intraepitelial o intramucoso

T1- El tumor invade la submucosa

T2- El tumor invade la muscular propia

T3- El tumor invade mas allá de la muscular propia; alcanzando subserosa o tejidos perirrectales o pericólicos

T4- El tumor invade directamente otros órganos o estructuras, o perfora el peritoneo visceral

N: Ganglios linfáticos regionales

Nx- Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser valorados

N0- Sin metástasis regionales

N1- Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales

N2- Metástasis en > 4 ganglios linfáticos regionales

M: Metástasis a distancia

Mx- Las metástasis a distancia no pueden ser valoradas

M0- Sin metástasis a distancia

M1- Metástasis a distancia

Estadios TNM:

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Estadio II	T3	N0	M0
	T4	N0	M0
Estadio III	Cualquier T	N1	M0
	Cualquier T	N2	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

Figura I.16. Definiciones y grupos TNM⁸².

En el sistema TNM para el CCR, a diferencia de lo que ocurre en otras localizaciones, la categoría pTis incluye tanto al carcinoma intraepitelial, como al carcinoma intramucoso. En el resto de órganos la categoría Tis se refiere exclusivamente a lesiones intraepiteliales que no han sobrepasado la membrana basal; pero dado que el colon es el único sitio en el que la invasión de la lámina propia no se asocia a riesgo de metástasis, está justificado la inclusión del carcinoma intramucoso en la categoría pTis. Los tumores T1 son aquellos que invaden la submucosa. Los tumores catalogados como T2 son aquellos que no infiltran más allá de la capa muscular. La categoría T3 hace referencia a todos aquellos tumores que han sobrepasado la capa muscular pero no afectan a la superficie serosa ni otros órganos. El criterio mínimo para asignar la categoría T3 es la ausencia de capa muscular entre el borde tumoral y los tejidos blandos pericólicos. Aunque no es obligatorio, la medición de la infiltración extramural tiene significación pronóstica, como se ha demostrado en diversos estudios en los que la afectación extramural > 5 mm se ha mostrado como el punto de corte crítico a partir del cual los pacientes presentan peor pronóstico⁸⁴. Este peor pronóstico es independiente de la afectación ganglionar. La presencia de extensión extramural en vasos venosos o linfáticos no se considera T3, sí se considera T3 presencia de nódulos tumorales de localización extramural con bordes irregulares. La categoría T4 hace referencia a aquellos tumores que perforan el peritoneo parietal o afectan a otros órganos y estructuras adyacentes. Debido a su importancia pronóstica es importante realizar un meticuloso estudio de la afectación peritoneal que requiere un amplio y seriado muestreo por parte del patólogo. Se ha visto que el examen citológico por raspado de la superficie serosa pone de manifiesto células malignas en el 26% de los tumores categorizados como T3⁸⁵ ⁸⁶. La afectación peritoneal se puede presentar con distintos hallazgos, se han descrito tres tipos: 1-reacción mesotelial hiperplásica e inflamatoria, con células tumorales muy próximas pero no en la superficie serosa; 2- tumor presente en la superficie serosa con reacción inflamatoria, hiperplasia mesotelial, y/o erosión/ulceración; 3- células tumorales sueltas en la superficie serosa con ulceración subyacente del peritoneo visceral. Los tres tipos de afectación se asocian a una disminución de la supervivencia, especialmente los dos últimos. La afectación de la superficie serosa puede ocurrir en presencia o ausencia de afectación de órganos adyacentes, y a la inversa, la afectación de

órganos adyacentes puede ocurrir en presencia o ausencia de afectación de superficie serosa, dependiendo de la localización anatómica y la estructura afectada. La invasión directa de estructuras adyacentes o de otros segmentos de colon-recto desde la serosa o el mesocolon (ej. invasión de colon sigmoideo por un carcinoma de ciego) debe ser catalogada como T4. Por el contrario, la extensión intramural del tumor desde un segmento de intestino a otro adyacente (ej. afectación de ileon en un carcinoma cecal; afectación de canal anal en un carcinoma rectal) no modifica la categoría T (fig. I.17).

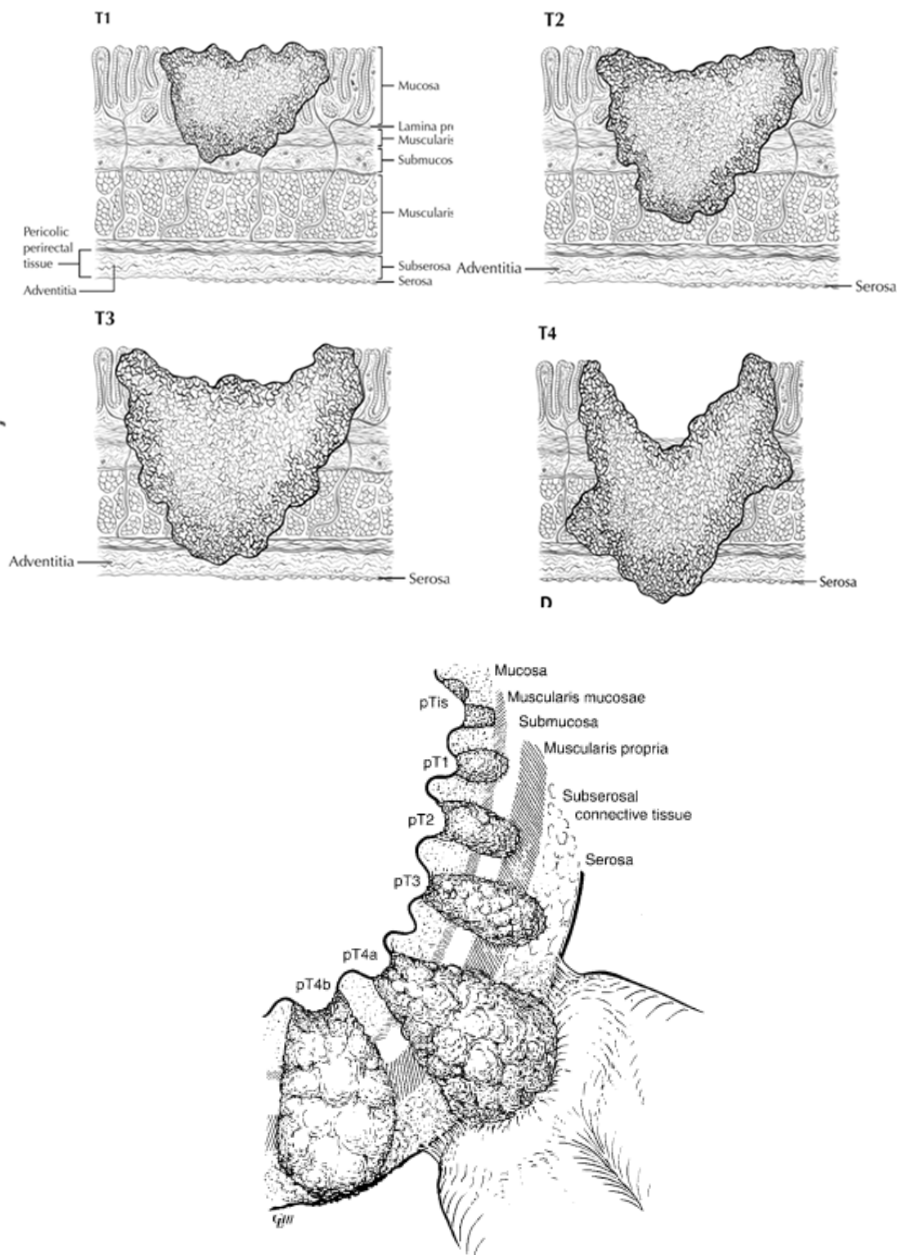


Figura I.17. Esquemas de distintas categorías T de la estadificación TNM. AJCC Cancer Staging Atlas (2006) edited by Greene et al and published by Springer Science and Business Media, LLC, www.springerlink.com.

Categoría N: Un gran número de metástasis de CCR se dan en ganglios inferiores a 5 mm de diámetro, lo que hace de la búsqueda exhaustiva de ganglios en las piezas de resección algo esencial^{87 88}. En la práctica habitual todos los ganglios encontrados son estudiados, en parte o en su totalidad, para examen microscópico. El número de ganglios presentes en una muestra puede depender de la localización anatómica, de la técnica quirúrgica o de ambas cosas (*fig. I.18*). Se considera que se deben analizar al menos un mínimo de 12-15 ganglios para realizar una correcta valoración, si no se localizan al menos 12 ganglios se pueden utilizar técnicas adicionales. Los ganglios macroscópicamente negativos o dudosos deben ser incluidos enteros, y los macroscópicamente positivos se confirmaran por inclusión total o parcial de los mismos. Los ganglios linfáticos regionales deben ser separados de los ganglios linfáticos de otras localizaciones anatómicas, ya que la afectación de los primeros se clasifican en la categoría N, y la de los segundos se consideran M1. Hasta ahora el diagnóstico de las metástasis ganglionares se ha basado en técnicas convencionales de estudio macroscópico e histológico, pero en los últimos años están surgiendo nuevos sistemas de detección molecular⁸⁹.

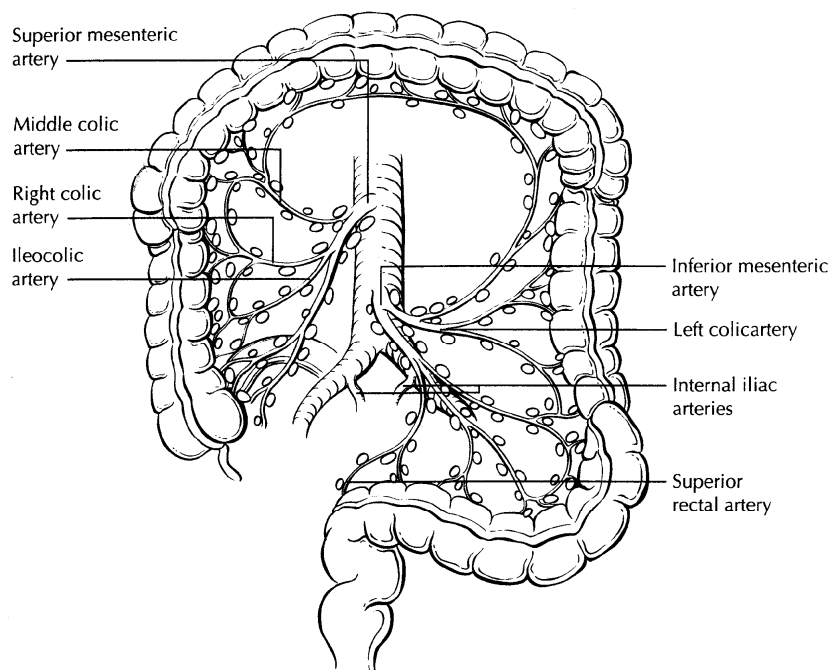


Figura I.18. Ganglios linfáticos regionales de colon y recto. AJCC Cancer Staging Atlas (2006) edited by Greene et al² and published by Springer Science and Business Media, LLC, www.springerlink.com.

El significado biológico de la presencia de micrometástasis ganglionares (< 2mm), es aun controvertido. Los datos disponibles actualmente son insuficientes para recomendar el estudio sistemático con cortes seriados y técnicas especiales. La presencia de micrometástasis se ha mostrado como factor pronóstico en algunos estudios⁹⁰, pero no en otros⁹¹. A la espera de estudios definitivos, se recomienda que cualquier foco tumoral de > 0.02 mm y < 2 mm, se considere micrometástasis y se le asigne la categoría N1 (pN1mi). Sin embargo, la presencia de células tumorales aisladas o foco tumoral < 0.02 mm se considera N0 (fig. 1.19).

	Annotation	Definition
Isolated tumor cells	pNO(i-)	No ITC* detected morphologically
	pNO(i+)	Positive morphological (H&E† or immunohistochemical) findings for ITC
	pNO(mol-)	No regional lymph node metastasis histologically, negative nonmorphological (molecular) findings for ITC
	pNO(mol+)	No regional lymph node metastasis histologically, positive nonmorphological (molecular) findings for ITC
Micrometastasis	pN1 (mi)	Metastatic tumor in regional node, no larger than 2.0 mm but >0.2 mm in dimension
	pM1(mi)	Metastatic tumor in distant site, no larger than 2.0 mm but >0.2 mm in dimension

Figura 1.19. Definiciones y anotaciones para el diagnóstico de células tumorales aisladas y micrometástasis. ITC- Células tumorales aisladas.

Categoría M: Las metástasis en un ganglio no locorregional o en cualquier otro órgano se consideran M1. La afectación por células tumorales aisladas en la médula ósea se clasifica como micrometástasis a distancia, pero como en el caso de las micrometástasis ganglionares su significado aun está por descubrir. La presencia de múltiples focos en la mucosa o submucosa adyacente al tumor (lesiones satélites), no se consideran metástasis a distancia⁹².

El estadio TNM tiene un importante valor pronóstico, se observan diferencias significativas en la supervivencia a 5 años en los pacientes con distintos estadios TNM. Los pacientes con estadio TNM 0, I y II muestran supervivencias a los 5

años superiores al 70%, mientras que los pacientes en estadio IV presentan una supervivencia a los 5 años inferior al 3% (fig. 1.20).

TNM Stage	5-Year Survival (%)
Stage 0, I (Tis, T1; N0; M0)	>90*
Stage I (T2; N0; M0)	80-85
Stage II (T3, T4; N0; M0)	70-75
Stage III (T2; N1-3; M0)	70-75
Stage III (T3; N1-3; M0)	50-65
Stage III (T4; N1-3; M0)	25-45
Stage IV (M1)	<3

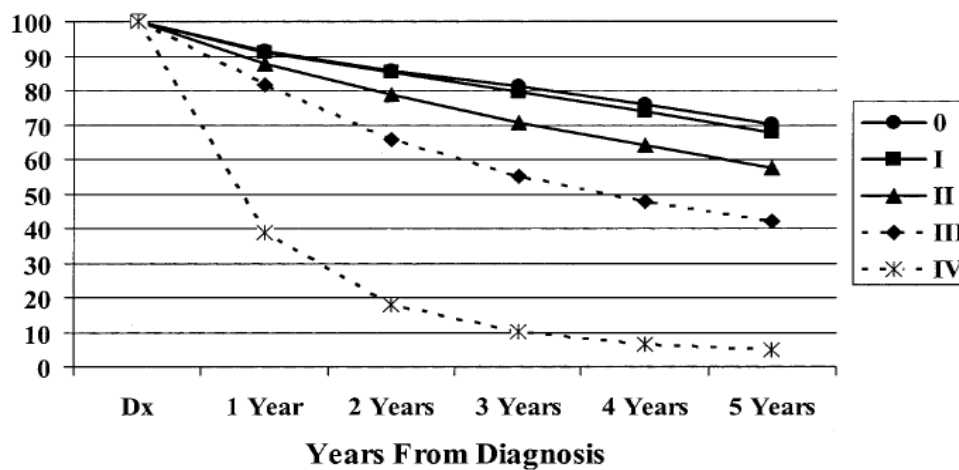


Figura 1.20. Supervivencia a los 5 años de los distintos estadios TNM para el CCR⁹³.

3.5 Carcinogénesis del CCR

La mayoría de los carcinomas colorrectales ocurren de forma esporádica, en ausencia de síndromes familiares bien definidos. El modelo propuesto por Fearon y Vogelstein es ampliamente aceptado como la secuencia prototípica adenoma-carcinoma para el desarrollo de CCR^{94 95}, esta secuencia se basa en diversas observaciones como las siguientes: las poblaciones que tienen una prevalencia alta de adenomas experimentan una prevalencia elevada de CCR; la incidencia

máxima de pólipos adenomatosos es anterior en algunos años a la incidencia máxima de CCR; cuando el CCR se identifica en una etapa precoz, existe con frecuencia tejido adenomatoso adyacente; el riesgo de cáncer guarda relación directa con el número de adenomas, y por tanto la presencia de cáncer es casi cierta en los pacientes con síndromes de poliposis familiar; y que los programas de seguimiento periódico de los pacientes para detectar el desarrollo de adenomas y eliminar todos los sospechosos reduce la incidencia del CCR. La existencia de CCR sin indicios de precursores adenomatosos sugiere que algunas lesiones displásicas pueden degenerar en malignidad sin pasar por la fase polipoide. Y también se debe resaltar que no todos los adenomas progresan a CCR. Se estima que adenomas mayores de 1 cm tienen un riesgo del 15% en el periodo de 10 años.

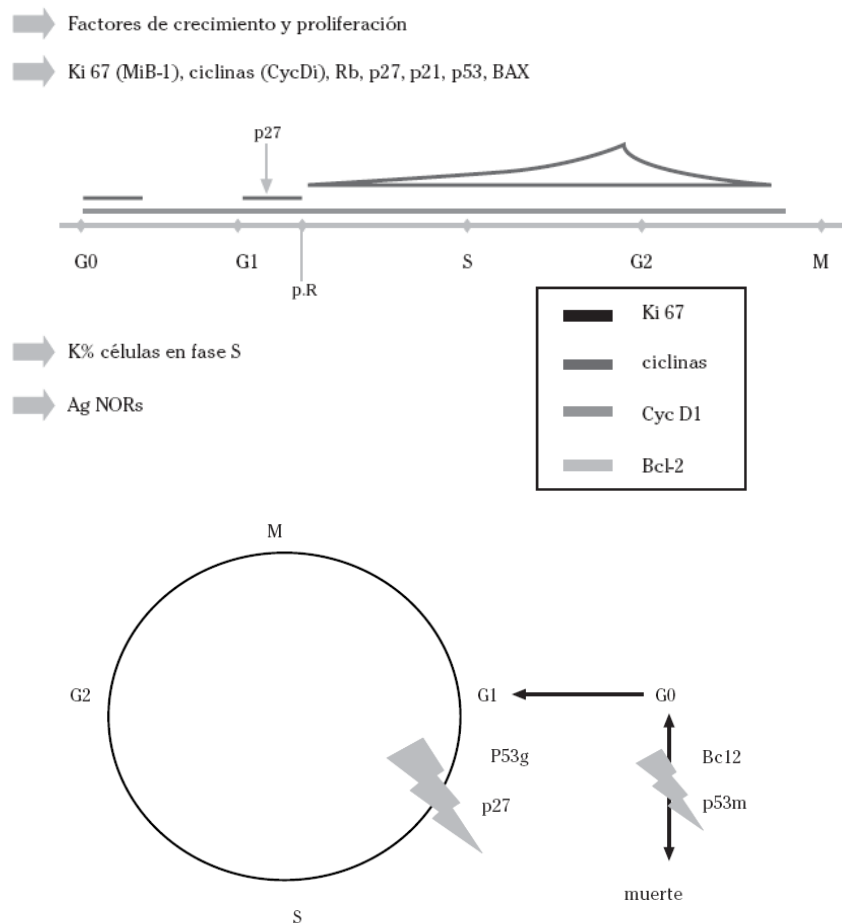


Figura I.21. Ciclo celular y moléculas implicadas en la carcinogénesis.

Desde el punto de vista de las alteraciones genéticas, el 90% de los CCR presentan activación de determinados oncogenes (k-ras) e inhibición de genes supresores (DCC, APC, P53)⁹⁶ (*fig. I.21*). La utilización de la inmunoexpresión de determinados marcadores tisulares relacionados con la capacidad de proliferación y apoptosis (ki-67, p53, bcl-2 y caspasa-3) ha ayudado a discernir las vías de carcinogénesis, así como a distinguir distintos grupos de pacientes, y esto se ha usado para conocer quienes se podrían beneficiar de terminados tratamientos⁹⁷.

Se considera que existen dos vía patogénicas en el desarrollo del CCR⁹⁸, y en ambas se produce una acumulación progresiva de múltiples mutaciones (*fig. I.22*):

1. La vía APC/B-catenina/vía supresora se caracteriza por inestabilidad cromosómica y acumulación progresiva de mutaciones en oncogenes y genes supresores. La inestabilidad cromosómica se manifiesta en el desarrollo de tumores con aneuploidía y pérdidas frecuentes de heterocigosidad en múltiples locus. Pertenecen a este grupo el 80-85% de los CCRs esporádicos polipoideos y los hereditarios de la Poliposis Adenomatosa Familiar, que tienden a afectar más al colon distal. Las alteraciones genéticas de esta vía son las siguientes:

-Pérdida del gen de la poliposis adenomatosa del colon (APC). Gen localizado en 5q21, cuya mutación genética es la base del Síndrome de la poliposis adenomatosa familiar⁹⁹, y que se trata de un gen supresor tumoral y gen regulador de los niveles de B-catenina. Más del 80% de los CCR tienen inactivada la proteína APC. La ausencia de función del gen APC conduce a una disminución de la adherencia celular y aumento de la proliferación de las células.

-Mutación K-ras. Oncogen mutado en el 50% de los CCR. Esta alteración puede ser detectada inmunohistoquímicamente en preparaciones histológicas¹⁰⁰. Las proteínas RAS son miembros de una gran superfamilia de proteínas GTP que cumple un rol complejo en la transacción de las señales originadas en receptores de membrana (ej. EGFR). La estimulación de este receptor causa la activación de moléculas (RAS) que unen el GRP, lo cual activa de forma simultánea varias cascadas intracelulares que median la proliferación y progresión del ciclo celular. La indemnidad de esta vía es un blanco para lograr tratamientos eficaces.

-Mutación de p53. Proteína implicada en la regulación del ciclo celular. Se encuentra alterada en el 70-80% de los CCR¹⁰¹, y se cree que se trata de un

evento tardío en la carcinogénesis del colon. Se relaciona con una sobreexpresión de la proteína codificada por el gen anormal, que puede ser detectada por inmunohistoquímica. Aproximadamente la mitad de los CCR muestran positividad, y no se han observado diferencias en relación a la localización o diferenciación. La mucosa transicional presente en el borde del tumor es negativa para p53¹⁰².

2. La vía de **inestabilidad de microsatélites** se caracteriza por la alteración del sistema de reparación de errores durante la replicación del ADN, controlado por los genes MMR (*mismatch repair*), principalmente MLH1, MSH2, MSH6^{103 104}. Los genes MSH2 y MLH1 son los que están implicados con mayor frecuencia. Los tumores desarrollados por esta vía presentan cientos de mutaciones en secuencias altamente repetitivas llamadas microsatélites, cuya expresión también pueden ser demostrada con métodos de inmunohistoquímica con anticuerpos específicos, Esta vía esta implicada en el 15% de los CCR esporádicos, y en el Cáncer de colon hereditario sin poliposis^{105 106}.

Los CCR originados por esta vía suelen ser mucinosos, pobremente diferenciados, con respuesta inflamatoria asociada, patrón de crecimiento circunscrito y localización en colon derecho. En general se considera que tienen mejor pronóstico¹⁰⁷.

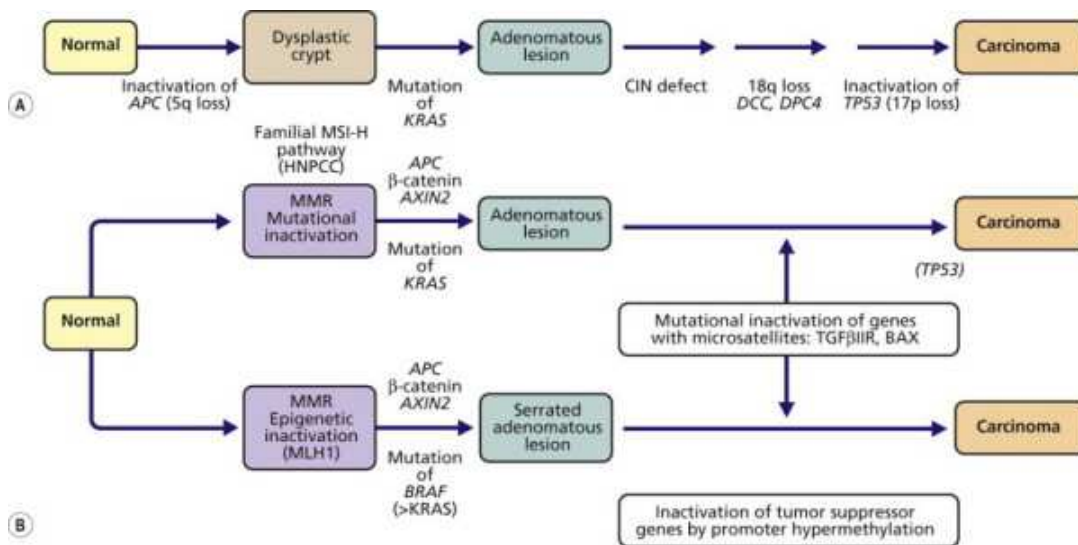


Figura I.22. Modelo genético del CCR. Vías de carcinogénesis: A-inestabilidad cromosómica, B-inestabilidad de microsatélites¹⁰⁸.

4. Factores pronósticos del CCR

El estudio de los factores pronósticos es de capital importancia en el campo de la oncología, para el conocimiento de la historia natural, la toma de decisiones, la valoración de la eficiencia asistencial y la planificación terapéutica.

4.1 Clasificación de los factores pronósticos

Los factores pronósticos y predictivos se pueden dividir en tres grupos diferentes (fig. I.23):

1. Relacionados con el tumor: son los más importantes y corresponden a las características patobiológicas (factores cronoinSENSIBLES), y a la extensión de la neoplasia (factores cronosensibles).
2. Relacionados con el paciente: a este grupo pertenecen los factores relacionados con las características demográficas.
3. Relacionados con el entorno: factores relacionados con área geográfica, tratamientos, etc¹⁰⁹.

Relacionados con el tumor		
CronoinSENSIBLES		
Patológicos	Biológicos	
-Grado histológico	-p53	-K-ras
-Tipo histológico	-MSI	-Timidilato Sintetasa
-Localización tumoral	-ki-67	-Bcl-2
Cronosensibles		
-TNM	-Número de ganglios	
-T4	-Invasión venosa/linfática/perineural	
-Obstrucción/perforación intestinal		
Relacionados con el paciente		
-Edad >61 años		
-CEA preoperatorio		
Relacionados con el entorno		
- Calidad quirúrgica		

Figura I.23. Factores pronósticos del CCR.

Los factores pronósticos relacionados con el tumor son los más importantes y su valoración corresponde esencialmente al patólogo, no sólo en la determinación o constatación de los factores dependientes del tiempo (tamaño del tumor, profundidad/espesor de la infiltración, afectación neoplásica de los ganglios linfáticos regionales, infiltración de órganos/estructuras adyacentes, estado de los bordes/márgenes de resección y metástasis a distancia), sino de manera prácticamente exclusiva en los aspectos independientes del tiempo de evolución de la neoplasia (tipo histológico, grado de diferenciación, actividad proliferativa/apoptosis-necrosis, cambios moleculares y alteraciones genéticas, ploidía ADN, expresión oncogenes y genes supresores, marcadores cito-histológicos, neoangiogénesis-respuesta estromal, tipo de borde infiltrante, invasión vascular, etc. que han sido objeto de múltiples estudios¹¹⁰.

La valoración y clasificación de los múltiples factores pronósticos y predictivos debe basarse en la relevancia clínica y significación estadística, para ello el Grupo de trabajo del AJC¹¹¹ ha establecido diferentes categorías de factores pronósticos:

Categoría I- Son factores esenciales cuya utilidad está bien documentada y establecida, y que, por tanto, son empleados habitualmente en la práctica clínica, en el tratamiento y seguimiento de los pacientes. Tienen suficiente importancia para modificar los grupos de estadio de TNM.

Categoría II- Son factores adicionales, están extensamente estudiados clínica y/o biológicamente, con valor para la opción terapéutica (predictivos), por lo que deben ser referidos en el informe anatomopatológico (IIA). En la categoría (IIB) se incluyen factores bien estudiados, pero que no alcanzan las categorías anteriores.

Categoría III- Factores nuevos y prometedores pero sin criterios establecidos para las categorías I o II.

Categoría IV- Grupo de factores estudiados y citados, pero sin significación pronóstica demostrada.

Se sabe que la supervivencia media de los pacientes con CCR a los 5 años de la cirugía oscila entre el 40 y el 60% en la mayoría de las series¹¹². La recurrencia local y/o la afectación de ganglios regionales son los responsables de más del 90% de los fracasos.

El pronóstico del CCR se ha relacionado con muchos parámetros clínicos y patológicos, que se enumeran a continuación; divididos en grupos e indicando a que categoría pertenecen.

4.2 Factores cronoinSENSIBLES relacionados con el tumor:

Grado histológico- Existe relación entre el grado tumoral y el pronóstico, especialmente si los tumores se estratifican en dos grados (alto y bajo) (Categoría IIA AJC)^{113 114}. Se sugiere que el grado asignado al tumor debe ser determinado por el de peor pronóstico y no por el más predominante¹¹⁵.

Tipo histológico- En general se acepta que los carcinomas mucinosos, carcinomas de células en anillo de sello y anaplásicos tienen peor pronóstico que el carcinoma convencional; y el carcinoma medular tiene mejor pronóstico. (Categoría IIB AJC).

Localización tumoral- La localización tumoral es un factor pronóstico de valor controvertido. Algunos estudios indican que las lesiones localizadas en el colon izquierdo tienen un pronóstico más favorable que aquellas localizadas en sigma o recto, pero en otras series, la significación encontrada en relación a la localización tumoral ha sido mínima.

Expresión de oncogenes- La mutación de k-ras se ha detectado con más frecuencia en pacientes con enfermedad recurrente (Categoría IIB AJC). La sobreexpresión de p53 ha sido demostrada en varios estudios como factor predictor independiente (Categoría IIB AJC)¹¹⁶, como expondremos más adelante.

Pérdida alélica del 18q- Esta alteración cariotípica tiene una fuerte significación pronóstica negativa en el CCR (Categoría IIB AJC). La ausencia de esta alteración en tumores sin inestabilidad de microsatélites se asocia a una favorable respuesta a la quimioterapia en CCR estadio III.

Presencia de inestabilidad de microsatélites- Se considera un factor predictor positivo de supervivencia. Los tumores que muestran alteraciones en >30% de los

microsatélites estudiados son catalogados como MSI-H (alta inestabilidad de microsatélites) y estos casos presentan mayor supervivencia con independencia del estadio^{117 118}. En estadios II-III de CCR se ha visto que aquellos pacientes que muestran estabilidad o baja inestabilidad de microsatélites se benefician del tratamiento quimioterápico con Fluoracilo, mientras que los que presentan alta inestabilidad de microsatélites no lo hacen.

Proliferación celular- El incremento de proliferación celular medido con ki-67, independientemente del grado histológico, se ha relacionado con la supervivencia en algunos estudios, pero no en otros¹¹⁹. Este factor pronóstico también se estudiará ampliamente más adelante.

Presencia de células neuroendocrinas: Existen estudios discrepantes (Categoría III AJC)¹²⁰. En uno de los más recientes se ha demostrado en un análisis multivariante de 350 casos, que el grado de extensión de la diferenciación neuroendocrina es un factor de mal pronóstico¹²¹.

Expresión de Bcl-2: La proteína Bcl-2 es una oncoproteína mitocondrial que confiere longevidad a las células en fase G0, bloqueando la muerte por apoptosis. La expresión IHQ de Bcl-2 se ha relacionado con un mejor pronóstico (Categoría IIB AJC)¹²².

Ploidía DNA: Determina la cantidad de ADN de las células tumorales con relación a las células sanas, y pueden ser euploides, aneuploides o poliploides. Varios estudios muestran correlación entre aneuploidia y riesgo de recurrencia, sin embargo el valor pronóstico con independencia del estadio no está claro.

Borde tumoral y respuesta inflamatoria- Los CCR con márgenes expansivos y respuesta inflamatoria entre el tumor y el tejido circundante tienen mejor pronóstico (Categoría IIA AJC). En el CCR el borde de infiltración tumoral ha demostrado tener significación pronóstica independiente del estadio y ser predictor de metástasis hepáticas. El patrón de infiltración irregular o digitiforme, a diferencia del patrón expansivo, ha mostrado ser un factor pronóstico adverso en muchos análisis multivariantes. Y la variabilidad interobservador a la hora de

valorar el tipo de frente de invasión mejora considerablemente cuando se utilizan criterios diagnósticos específicos como el tipo de disección de la capa muscular o tejido adiposo, o la presencia de invasión perineural.

La infiltración linfocitaria peritumoral indica una respuesta inmunológica a la invasión, y se ha mostrado como factor pronóstico favorable en varios estudios, y no se ha podido confirmar en otros. Las discrepancias son difíciles de comparar porque los criterios histológicos usados en los distintos estudios son diferentes. La tendencia actual es considerar que la infiltración linfocitaria se asocia a inestabilidad de microsatélites y por dicha razón presentan un pronóstico favorable^{123 107}.

Timidilato sintetasa- La Timidilato sintetasa (TS) convierte la deoxiuridina monofosfato (dUMP) en desoxitimidina monofosfato (dTMP), un paso esencial en la síntesis del ADN. La TS también es una diana celular para el fármaco fluoropirimidina, ampliamente usado en el tratamiento del CCR. El fármaco debe ser convertido a nucleótido para ser efectivo. Esta conversión a 5-fluoro-2'-desoxi-5' monofosfato (FdUMP) permite la inhibición de la TS y por tanto la síntesis de ADN. Casos de resistencia a la terapia con (5-FU) se han relacionado con alteraciones en su metabolismo y en la TS. Varios grupos han establecido la importancia pronóstica de los niveles de expresión de TS en CCR como predictor de la respuesta a terapia con 5-FU. La expresión de TS puede valorarse con técnicas de IHQ o PCR. La sobreexpresión de TS se relaciona con peor pronóstico y resistencia a la quimioterapia¹²⁴. En un estudio realizado, el 49% de los pacientes con bajo nivel de TS estaban libres de enfermedad a los 5 años, frente al 27% de los que presentaban niveles altos de TS, además el 60% de los pacientes con niveles bajos de TS estaban vivos a los 5 años, frente al 40% de los pacientes con niveles altos de TS. Los niveles de TS mostraron tener valor pronóstico en relación con la supervivencia y el periodo libre de enfermedad, independientemente del estadio¹²⁵.

Fibrosis peritumoral/desmoplasia- Un escaso número de estudios han indicado con análisis multivariantes que la inducción por parte del tumor de una respuesta estromal esclerótica es un factor pronóstico adverso¹²⁶, sin embargo otros no han podido confirmarlo.

4.3 Factores cronosensibles relacionados con el tumor:

Estadio- Factor predictor de mayor relevancia (Categoría I AJC). Combina criterios de extensión local, regional y a distancia. Tienen un importante valor pronóstico tanto los esquemas originales propuestos por Dukes, como los nuevos sistemas (TNM).

Afectación de ganglios linfáticos- La presencia de afectación ganglionar se relaciona con menor supervivencia (Categoría I AJC). La localización y extensión de la afectación ganglionar también es relevante. A mayor número y ganglios afectados más distantes, peor es el pronóstico. La presencia de más de 6 ganglios linfáticos con metástasis se asocia a menos del 10% de supervivencia a los 5 años, y si son más de 16 los ganglios metastáticos todos los pacientes fallecen antes de los 5 años. También se ha observado que las micrometástasis detectadas por IHQ o técnicas moleculares se asocian a una disminución de la supervivencia¹²⁷, pero aun no está del todo establecido (Categoría III AJC).

Extensión local- El pronóstico es excelente en aquellos tumores microscópicos descubiertos incidentalmente en un pólipo, y también lo es en general en los limitados a la mucosa y submucosa. Y entre aquellos tumores que presentan afectación ganglionar, el pronóstico es peor si además se extienden más allá de la pared intestinal.

Tamaño tumoral- Aunque la relación entre el tamaño tumoral y el pronóstico existe, hay demasiadas excepciones para considerarlo un factor pronóstico fiable. Se ha demostrado relación entre el tamaño tumoral y la incidencia de metástasis ganglionares (AJC Categoría III).

Obstrucción- Se ha observado que es un indicador de peor pronóstico independientemente del estadio tumoral de Dukes en algunas series, pero no en otras.

Grosor tumoral- El espesor tumoral medido en la zona central del tumor, se ha relacionado con el riesgo de metástasis ganglionares y hepáticas, y con el pronóstico.

Angiogénesis tumoral- Se expresa como un aumento de la densidad vascular en el seno y en los bordes del tumor, que se produce por inducción y por la liberación por parte de las células tumorales de múltiples moléculas angiogénicas. La angiogénesis tumoral es un predictor de recurrencia y se relaciona con una disminución de la supervivencia (Categoría III AJC).

Invasión vascular- La presencia de invasión vascular empeora marcadamente el pronóstico (Categoría IIA AJC). Cuando se detecta invasión venosa la supervivencia a los 5 años disminuye considerablemente. En diversos estudios realizados, la invasión venosa se ha mostrado como factor adverso independiente, tanto en análisis uni como multivariantes¹²⁸, mientras que otros no han podido confirmarlo; y lo mismo ocurre con la invasión linfática. Varios estudios han demostrado que la invasión vascular en general (linfática o venosa) tiene significación pronóstica, así como la localización de dicha invasión (ej. invasión en venas extramurales). Se cree que la disparidad de resultados en estos estudios sobre la invasión vascular está directamente relacionada con la dificultad para valorar este hallazgo. El diagnóstico de invasión vascular requiere la identificación de tumor en un canal con recubrimiento endotelial, pero en la práctica habitual la invasión vascular puede ser difícil de valorar debido a la fibrosis inducida por el tumor y el artefacto por fijación. Existe importante variabilidad interobservador en la interpretación de invasión de vasos de pequeño calibre como linfáticos o venas postcapilares, y la invasión de grandes vasos como venas musculares con infiltración tumoral de la pared y destrucción de la arquitectura vascular, también puede ser difícil de reconocer. Técnicas especiales como la tinción inmunohistoquímica de endotelios vasculares, o tinción histoquímica de fibras elásticas pueden ayudar en casos complicados, aunque no se suelen realizar de forma rutinaria. Otra limitación relacionada con la detección de invasión vascular es el número de bloques, se ha visto que la reproducibilidad en la detección de invasión venosa extramural aumenta proporcionalmente desde un 59%, con el examen de 2 bloques de la periferia del tumor, a un 96% si son 5

los bloques analizados¹²⁹. El Colegio Americano de Patólogos recomienda que al menos 3 bloques (y si son 5 mejor), del tumor y zona profunda de extensión, sean examinados.

Perforación- La perforación resultante de la extensión tumoral a través de la pared se ha relacionado con un peor pronóstico.

Invasión perineural- Es un signo de enfermedad avanzada y se suele acompañar de otros hallazgos desfavorables (Categoría IIA AJC). En algunos estudios se considera la invasión perineural como criterio histológico diagnóstico de tipo de borde tumoral infiltrante, de peor pronóstico.

4.4 Factores relacionados con el entorno:

Margen quirúrgico- La afectación del margen quirúrgico radial es el factor predictor de recurrencia más importante en el CCR (Categoría IIA AJC). La cirugía es el tratamiento principal en la mayoría de los CCRs y se realiza una escisión completa de todo el tumor detectable. Los márgenes de las piezas de resección de un CCR son el proximal, distal, mesentérico, y en algunos casos, el margen radial (*fig. I.24*). Cuando la distancia del tumor al margen transversal más cercano (proximal o distal) es superior a 5 cm, las recurrencias en la anastomosis son muy raras, y se puede obviar el examen microscópico de los bordes de la pieza, así como de los rodets de resección, como se recoge en la guía del Royal College de patólogos. En las piezas de resección anterior baja por carcinomas rectales, dada las particulares limitaciones anatómicas, se acepta como adecuado un margen transversal de 2 cm, que puede ser de 1 cm en tumores T1 y T2. En el carcinoma rectal, el margen radial ha demostrado ser el factor de riesgo más importante para las recurrencias locales, lo que a su vez se relaciona directamente con la supervivencia¹³⁰. Estudios más recientes sugieren que existe una relación similar entre el margen radial en colon y las recurrencias locales¹³¹. Por esto se recomienda que se mida e informe el margen radial en todos los CCRs. Las últimas recomendaciones indican que un margen radial de 2 mm o inferior debe ser considerado positivo. El riesgo de recurrencias locales baja cuando este margen es superior a 2 mm.

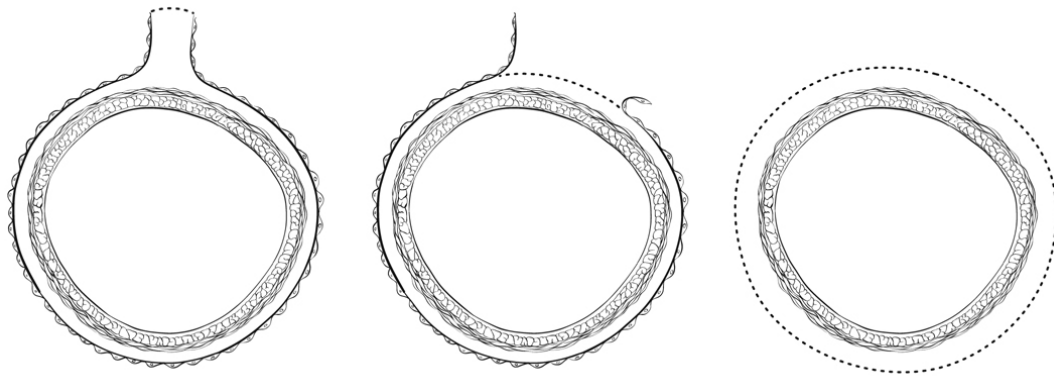


Figura I.24: Margen (línea de puntos) mesentérico, circunferencial y radial en distintas porciones de colon.

4.5 Factores relacionados con el paciente:

Edad y sexo- En cuanto a la edad y sexo de los pacientes, se ha observado peor pronóstico en los CCR en pacientes muy jóvenes y muy mayores¹³². En el grupo de pacientes jóvenes este peor pronóstico se atribuye a la combinación de diversos factores, como el retraso en el diagnóstico que se traduce en estadios más avanzados, mayor proporción de casos sobre CU, y mayor número de tumores de tipos histológicos de peor pronóstico como células en anillo de sello y mucinosos¹³³. Y en relación al sexo, en general las mujeres presentan un pronóstico significativamente mejor que los varones.

CEA- Niveles séricos altos de CEA (> 5.0 ng/ml) suponen un peor pronóstico, independientemente del estadio tumoral¹³⁴ (Categoría I AJC).

5. Grado histológico. Sistemas de clasificación y relevancia

El grado histológico del CCR es un factor con significación pronóstica demostrada, que en los análisis multivariantes se ha mostrado como factor pronóstico independiente del estadio^{109 111}, mostrando un peor pronóstico los adenocarcinomas de alto grado¹³⁵.

Su principal problema es la subjetividad y la dificultad para encontrar un sistema básico y reproducible. Han sido muchos los intentos de sistemas de gradación para el CCR, sin que exista en la actualidad un método estándar aceptado.

En 1925, **Broders** propuso la primera clasificación, dividiendo los CCR en cuatro grados, y aunque en su trabajo no estaban definidos los criterios de cada categoría, según las características de las ilustraciones utilizadas por el autor se ha podido deducir que eran los siguientes:

- G1: Glándulas bien formadas con polaridad nuclear y secreción conservada.
- G2: Glándulas peor conformadas con células menos diferenciadas.
- G3: Glándulas irregulares.
- G4: Carcinoma mucinoso.

En 1929 **Stewart & Spies**¹³⁶ fueron los primeros en examinar la posibilidad de aplicar el grado propuesto por Broders a pequeñas biopsias, y añadir nuevos detalles a la clasificación:

- G1: Distribución papilar. Invasión insignificante. Núcleos alargados y apilados, uniformes en tamaño. Polaridad celular conservada.
- G2: Glándulas irregulares de paredes engrosadas, con núcleos agrandados e hiper Cromáticos. Mitosis más frecuentes.
- G3: Glándulas peor conformadas con áreas sólidas y pérdida de polaridad. Células grandes. Más estroma que en grados 1 y 2.
- G4: Grupo heterogéneo que incluye carcinomas mucinosos e indiferenciados.

En 1931 **MacCarthy**¹³⁷ añadió la respuesta inflamatoria del tejido que incluía fibrosis, hialinización e infiltrado linfocitario; observando un mejor pronóstico en los casos que estaba presente.

En 1932 **Dukes**¹³⁸ comentó y aplicó el sistema de Broders en su conocido trabajo de clasificación del cáncer de recto. Sus resultados indicaron una clara relación entre el grado y el estadio y pronóstico. Pero Dukes no recomendó gradar las biopsias endoscópicas, ya que hasta en el 80% de las piezas resecadas, el tumor era más pobremente diferenciado que en la biopsia original. Dukes reconoce el grado meramente como una medida del ritmo de crecimiento.

Wood & Wilkie¹³⁹ en 1933, y **Raiford**¹⁴⁰ en 1935 continuaron con los 4 grados del sistema de Broders, aunque con modificaciones, empleando sólo tres grados, el cuarto era un grupo heterogéneo que incluía carcinomas mucinosos e indiferenciados.

En 1937 **Dukes**⁷⁷ describió un nuevo sistema de cuatro grados, y excluyó a los mucinosos. Este sistema basado en la disposición celular agrupaba en el G1 a los carcinomas de apariencia similar a los adenomas, en el G2 a los carcinomas con disposición acinar pero con células menos diferenciados, en el G3 a los carcinomas con menor diferenciación glandular, y células en disposición irregular o agregados; y en G4 a los carcinomas sin diferenciación glandular, con células sueltas o en pequeños e irregulares agregados.

En 1939 **Grinnel**¹⁴¹ aportó un nuevo sistema de gradación del CCR, aplicándolo a 126 casos. Inicialmente usó 8 criterios: relacionados con el patrón de crecimiento (papilar, glandular, invasivo, polaridad nuclear y mucina extracelular) y morfología celular (tamaño nuclear, variación nuclear y número de mitosis). Cada variable se relacionó con la supervivencia a los 5 años. El tamaño y la variabilidad nuclear fueron descartados por problemas técnicos, y el volumen de mucina no mostró relación con el pronóstico. El patrón papilar mostró mejor pronóstico, pero no fue considerado suficientemente fiable. La gradación se basó en los criterios restantes. La disposición glandular fue dividida en tres grados: glándulas simples, glándulas irregulares y grupos sólidos. La invasión en expansiva, intermedia e infiltrante, mostrando el mayor valor predictivo. La pérdida de polaridad nuclear se clasificó en leve, moderada y marcada. El número de mitosis fue el menos útil de los cuatro criterios usados.

El grado final fue obtenido por asignación de puntos y por impresión subjetiva, sin que los resultados se diferenciaron significativamente. El autor consideraba el sistema de puntos innecesariamente complicado, y consideraba incorrecto aplicar el mismo valor a cada criterio, ya que esto debería estar relacionado con el valor predictivo de cada característica.

Dukes & Bussey¹⁴² en 1958 clasificaron 2447 casos de CCR en tres grados histológicos; sin mencionar como pasaron del sistema de Dukes (1937) de cuatro grados a tres, aunque probablemente agruparon en una categoría los grados iniciales III y IV; en su estudio obtuvieron una proporción de 19% bien diferenciados, 60% moderadamente diferenciados y 20% pobremente diferenciados, con una supervivencia a 5 años de 77%, 61% y 29% respectivamente.

Posteriormente **Blenkinsopp et al.**¹⁴³ estudiaron 2046 pacientes con 26% bien diferenciados, 58% moderadamente diferenciados y 16% pobremente diferenciados. En este estudio se observaron diferencias entre la variabilidad interobservador en los distintos grados, con una variabilidad interobservador de 3-93%, 8-82%, y 5-30% para los bien, moderada y pobremente diferenciados.

En 1982, **Chung CK et al.**¹⁴⁴ revisaron 246 pacientes con CCR y los dividieron en tres grados según los siguientes criterios:

- G1- Glándulas de gran tamaño y morfología tubular, con células altas de núcleos ovals con pequeño nucleolo (similar al adenoma tubular).
- G2- Aun se mantiene la morfología glandular o tubular pero también presentan áreas sólidas o cribiformes. Las células son cuboidales, de núcleos con mayor pleomorfismo y ocasionalmente presentan nucleolos evidentes.
- G3- Tumores con un prominente patrón sólido, trabecular o células sueltas. Pérdida de polaridad celular. Núcleos pleomorfos con nucleolos prominentes.

Los carcinomas de células en anillo de sello fueron todos clasificados en la categoría G3. De los 246 pacientes, 46 eran G1, 157 G2, y 43 G3. Y a la vista de los resultados obtenidos concluyen que los carcinomas G3 presentaron significativamente peor pronóstico, mayor grado de invasión local y metástasis a distancia, comparados con los grados 1 y 2.

En 1986 **Jass y et al.**⁸⁰ estudiaron 446 casos de carcinomas rectales, intervenidos entre 1960 y 1965, con un seguimiento posterior de 15 años. Hicieron primero un estudio piloto con 100 casos para valorar que hallazgos eran más útiles, observando que era mejor usar la polaridad nuclear que la estratificación, o que las características de maduración citoplasmáticas no ayudaban mucho. El número de mitosis por 10 CGA tampoco mostró utilidad en el estudio piloto inicial. Tras los resultados obtenidos en el estudio preliminar los parámetros que se usaron en el estudio definitivo fueron los siguientes:

- Tipo de tumor: Según la WHO. Los casos fueron clasificados en papilares, tubulares, mucinosos y células en anillo de sello.
- Grado de diferenciación: Según la guía de Dukes & Bussey de 1958, que divide los casos en tres grados:
 - Bien diferenciados: Formación glandular simple o compleja, con polaridad nuclear conservada y núcleos de tamaño uniforme.
 - Moderadamente diferenciados: formación tubular compleja o irregular con menor polaridad nuclear.
 - Pobremente diferenciados: glándulas muy irregulares o ausencia de diferenciación glandular y polaridad nuclear.
- Polaridad nuclear: los casos fueron clasificados en tres categorías según mantuvieran una polaridad nuclear fácilmente reconocible, poco reconocible o ausencia de polaridad.
- Configuración tubular: Los casos se clasificaron en glándulas simples, complejas, irregulares, o ausencia de glándulas (*fig. I.25*). La configuración

compleja mostró marcado crecimiento intraluminal con patrón pseudocribiforme.

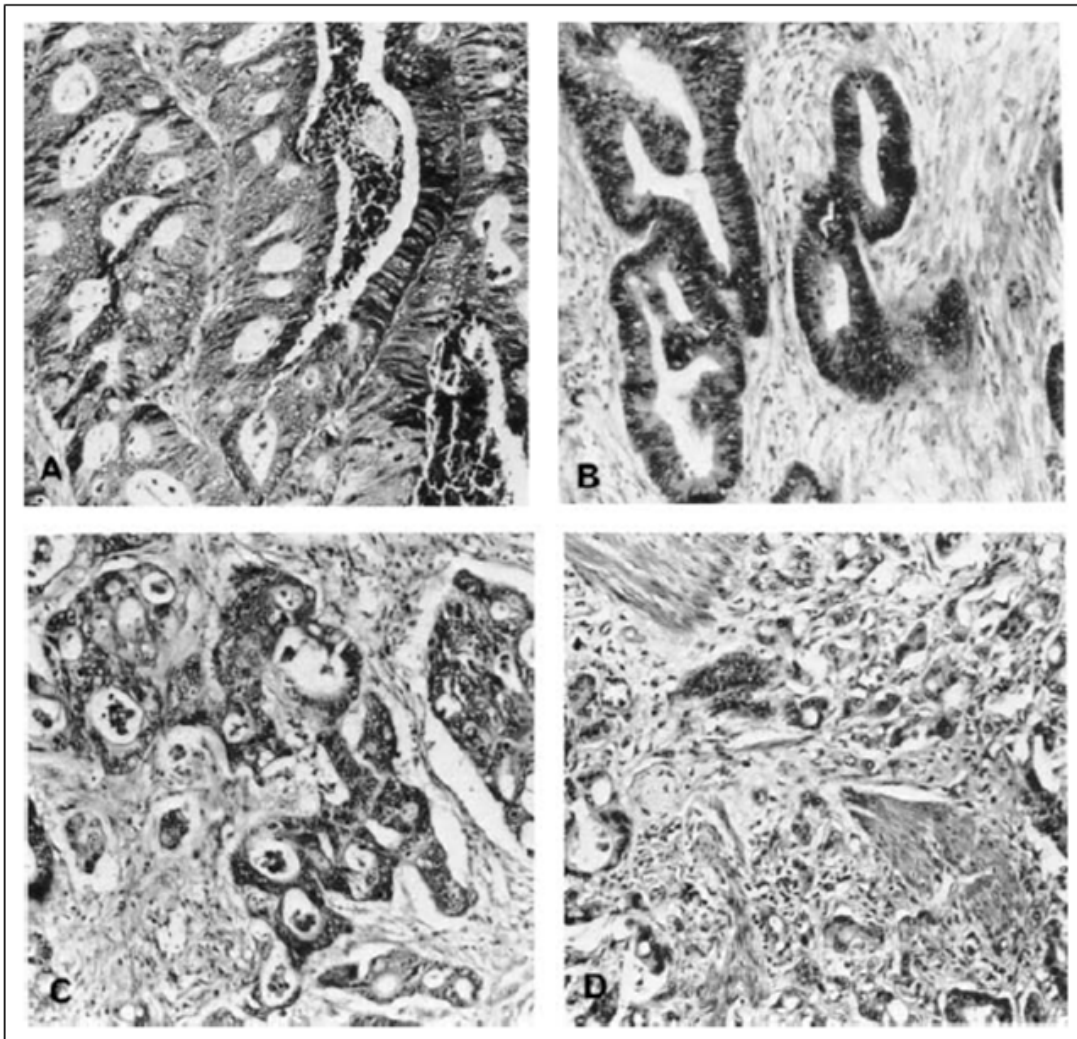


Figura I.25: Configuración tubular. A: túbulos complejos. B: túbulos simples. C: Túbulos irregulares. D. Ausencia de túbulos. Imagen tomada de ref.⁸⁰

- Patrón de crecimiento: los tumores fueron divididos en cuanto al patrón de crecimiento en dos categorías, expansivos o infiltrantes (*fig. I.26*), siguiendo la clasificación histopatológica propuesta por Ming para los carcinomas gástricos¹⁴⁵.

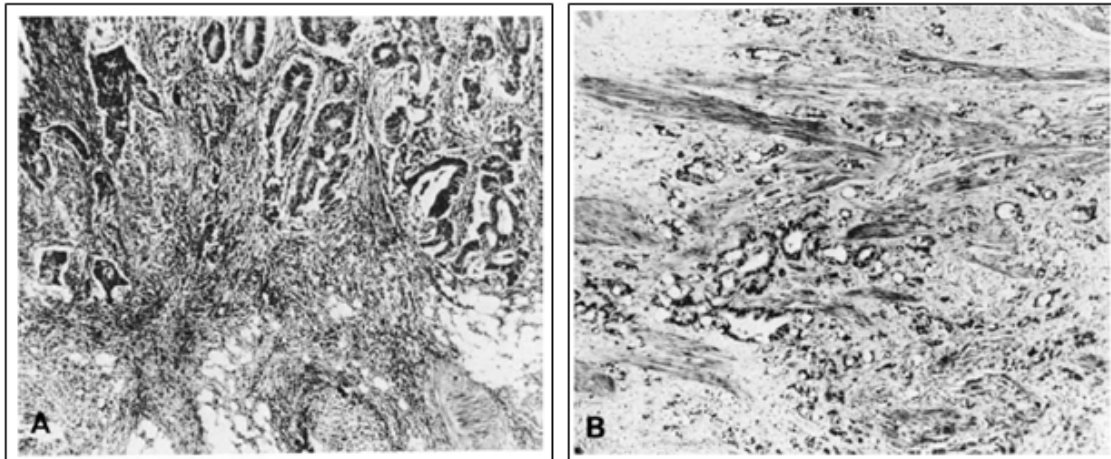


Figura I.26. Patrón de crecimiento. A-expansivo. B-infiltrante. Imagen tomada de ref⁸⁰.

- Infiltración linfocítica: La presencia de infiltrado linfocitario se valoró exclusivamente en el borde de infiltración del tumor, y se clasificó en tres categorías: leve, moderada o marcada. (fig. I.27).

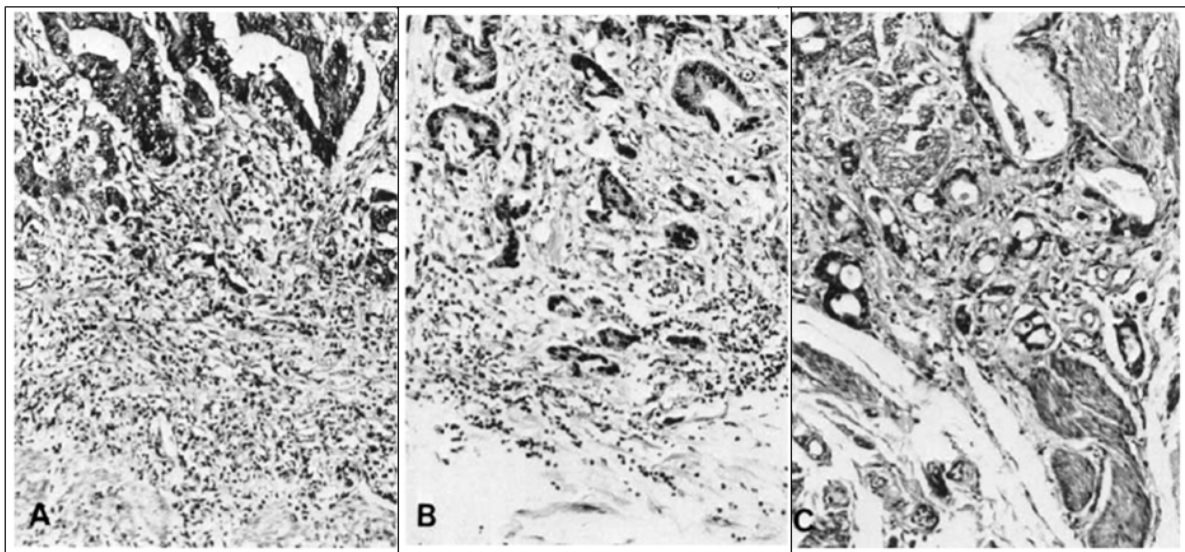


Figura I.27: respuesta linfocítica. A-marcada. B-moderada. C-leve. Tomada de ref⁸⁰.

- Fibrosis: La presencia o ausencia de fibrosis se valoró de forma subjetiva, en el borde del tumor, y se clasificó como leve, moderada o extensa. La fibrosis extensa implicaba que al menos la mitad del tejido en el borde infiltrativo del tumor era fibrosis. En el estudio piloto inicial tanto la fibrosis leve como la fibrosis marcada se asoció a una reducción de la supervivencia a los 5 años.

La afectación ganglionar o venosa, así como la extensión tumoral se obtuvo de los informes, y el estadio se basó en la clasificación de Dukes.

Las curvas de supervivencia que obtuvieron según los parámetros analizados se muestran en la siguiente figura (*fig. I.28 y fig. I.29*).

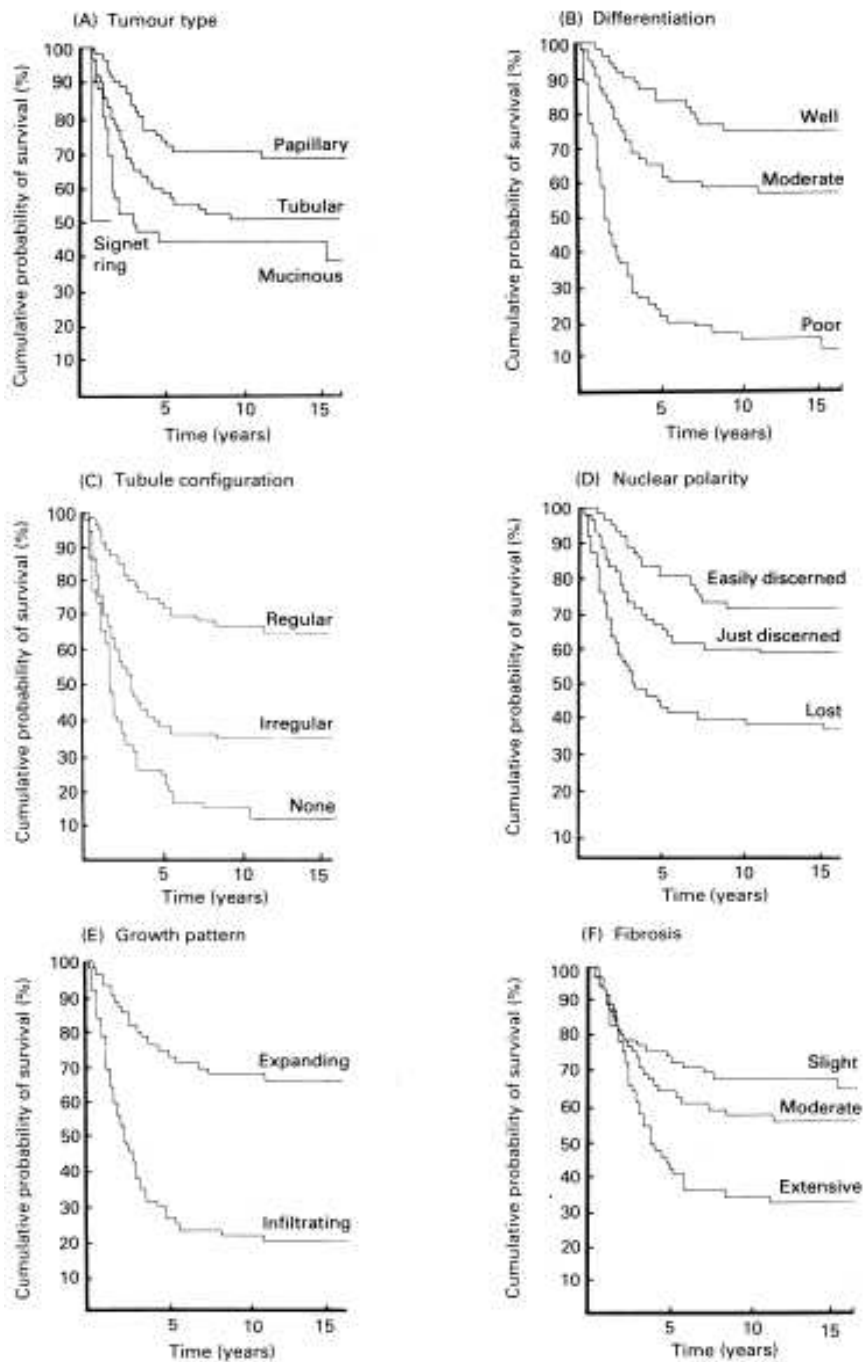


Figura I.28. Curvas de supervivencia en relación con distintos parámetros. A-tipo tumoral. B-diferenciación glandular. C-configuración tubular. D-polaridad nuclear. E-patrón de crecimiento. F-fibrosis.

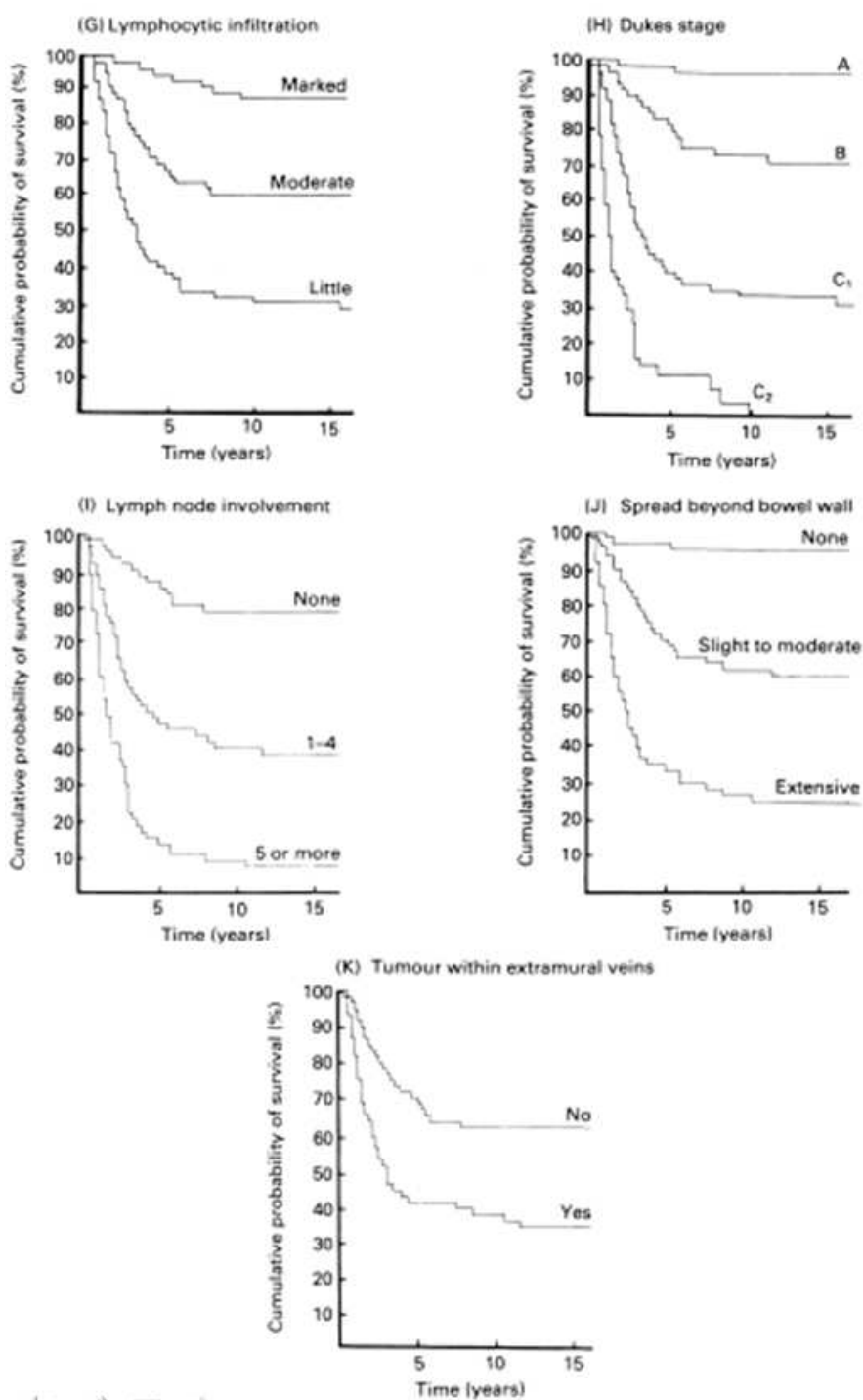


Figura I.29. Curvas de supervivencia en relación con distintos parámetros. G- Infiltración linfocítica. H-estadio de Dukes. I-afectación de ganglios linfáticos. J- extensión en la pared intestinal. K-afectación vascular extramural.

El estudio seleccionó tres parámetros principales para el establecer el grado del CCR: la respuesta linfocítica, el patrón de crecimiento y la configuración tubular. Los dos primeros parámetros seleccionados no pueden ser valorados en biopsias endoscópicas. El sistema de puntuación usado para los distintos parámetros y la relación con la supervivencia a 10 años que obtuvieron se muestra en la siguiente figura (*fig. I.30*).

Parameter	Score
Tubule configuration	
Regular	0
Irregular	2
None	4
Pattern of tumour growth	
Expanding	0
Infiltrating	2
Lymphocytic infiltration	
Marked	0
Moderate	3
Little or none	6

Range of possible total scores 0–12.
Grade 1 score=0, II=1–4, III=5–8, IV=9–12.

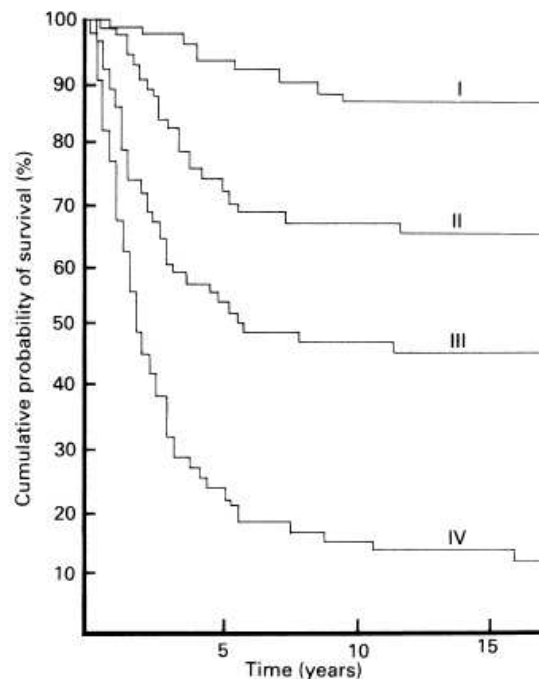


Figura I.30. Sistema de puntuación, estadios y supervivencia a 10 años⁸⁰.

Además de este modelo inicial, realizaron otro de 5 grados para el que utilizaron la infiltración linfocitaria, la afectación ganglionar y la extensión a través de la pared (fig. I.31). Según los autores éste último modelo mostró mejor valor predictivo, con un grupo de pronóstico excelente compuesto por los pacientes de estadios I y II; y un grupo de pacientes de mal pronóstico en los estadios IV y V.

Parameter	Score
Lymphocytic infiltration	
Marked	0
Moderate	3
Little or none	6
Node involvement	
0	0
1-4	4
5 or more	8
Spread through the bowel wall	
None	0
Slight-moderate	3
Extensive	6

Range of possible total scores 0-20.
 Category I=0, II=1-6, III=7-11, IV=12-16, V=17-20.

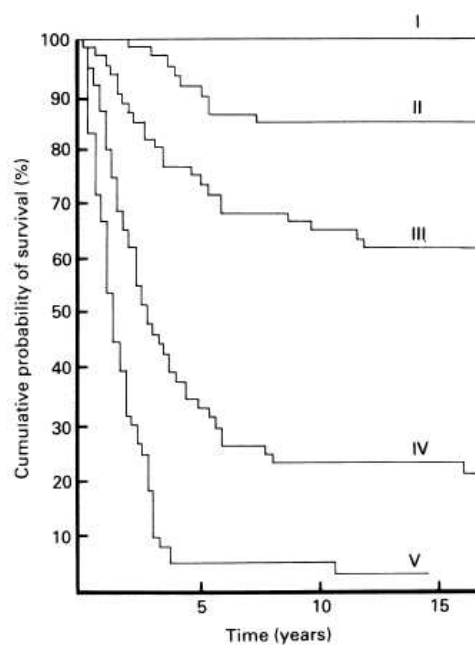


Figura I.31. Sistema de puntuación, estadios y supervivencia a 10 años⁸⁰.

En un estudio más reciente (2010), **Nabi U et al.**¹⁴⁶ estudian la relación entre el grado, el tipo histológico y el estadio en 100 CCR. En esta ocasión los tumores fueron divididos según el grado histológico en tres categorías: bien diferenciados o G1, moderadamente diferenciados o G2, y pobremente diferenciados o G3. A la vista de los resultados obtenidos los autores concluyen que los pacientes del grupo G3 mostraron más infiltración de la pared y metástasis ganglionares que los de los grupos G1 y G2 (fig. I.32).

Grade	Dukes' A n (%)	Dukes' B n (%)	Dukes' C n (%)
Grade I	4 (4%)	11 (11%)	0 (0%)
Grade II	0 (0%)	54 (54%)	8 (8%)
Grade III	0 (0%)	4 (4%)	19 (19%)
Total	4 (4%)	69 (69%)	27 (27%)

Fisher' Exact Test= 54.844.
p-value< 0.000.

Figura I.32. Relación entre el grado histológico y el estadio tumoral¹⁴⁶.

En 2012, **Ueno H et al.**¹⁴⁷ publican un estudio en el que revisan 500 pacientes intervenidos de CCR con estadios II y III, desde el año 2000 hasta el año 2005. Establecen el grado histológico en base al número de clusters, acúmulos o agregados de células pobremente diferenciados en el tumor:

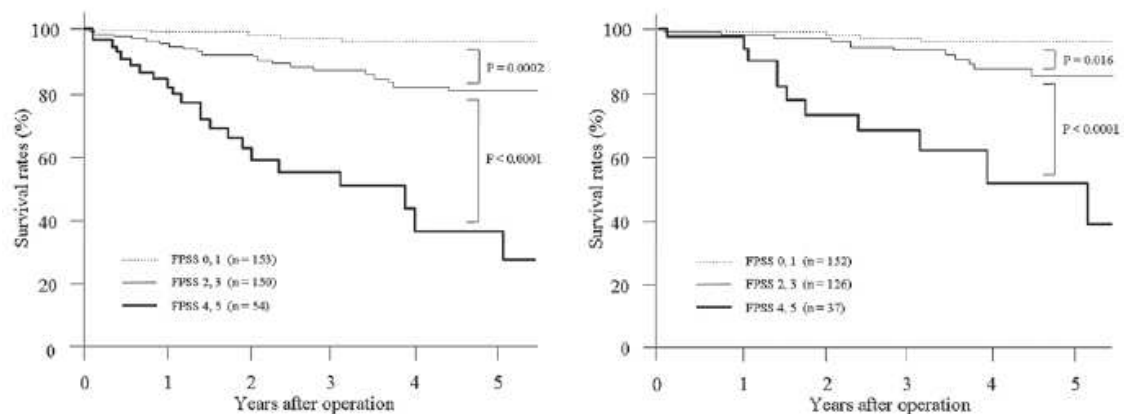
- G1: < 5
- G2. 5-9
- G3: >10

La media de supervivencia a los 5 años para los distintos grupos fue de 96%, 85% y 59% (p<0.0001). Concluyendo que la presencia de clusters pobremente diferenciados en el tumor afecta a la supervivencia independientemente del estadio, y además este sistema de clasificación mostró una mejor correlación interobservador que los convencionales.

En 2013, **Nozoe T et al.**¹⁴⁸ publican un estudio de 357 pacientes con CCR a los que aplican un sistema de puntos basado en 5 parámetros histopatológicos, y su implicación pronóstica. Los parámetros utilizados son: invasión de la pared, afectación ganglionar, invasión vascular, invasión linfática y grado histológico. En este estudio el grado histológico se dividió en dos categorías (tumores diferenciados y tumores indiferenciados). A cada paciente se le asignó un punto por cada uno de los parámetros desfavorables presentes. El rango del sistema de puntos fue de 0-5; y en el estudio de supervivencia a 5 años se observaron diferencias significativas entre los pacientes de los grupos 0 y 1 con los de los grupos 2 y 3; y 4 y 5, tanto en el total de pacientes como en el grupo tratado con cirugía curativa. (*fig. I.33*).

Characteristic	No. of patients	5-year SR (%)	P-value
Depth of tumor			
T1 and T2	106	98.7	<0.0001
T3 and T4	251	74.5	
Nodal metastasis			
No	205	91.4	<0.0001
Yes	152	68.3	
Lymphatic invasion			
No	214	91.4	<0.0001
Yes	143	67.1	
Venous invasion			
No	259	88.5	<0.0001
Yes	98	63.2	
Histologic type			
Differentiated	325	86.3	<0.0001
Undifferentiated	32	37.5	

SR, survival rate.



*Figura I.33. Parámetros histopatológicos y curvas de supervivencia. A-total; B-pacientes con cirugía curativa*¹⁴⁸.

En resumen, la mayoría de los sistemas de gradación de CCR lo dividen en 3 o 4 grados en base a las características arquitecturales y citológicas del tumor (*fig. I.34*). Según la última actualización del Colegio Americano de Patólogos (CAP)¹⁴⁹ los criterios usados para asignar cada una de las categorías son los siguientes:

- Adenocarcinoma bien diferenciado o Grado 1 :
 - Túbulos simples o complejos
 - Polaridad celular
 - Núcleos basales con tamaño uniforme
- Adenocarcinoma moderadamente diferenciado o Grado 2:
 - Presencia de diferenciación tubular
 - Escasa polaridad celular
- Adenocarcinoma pobremente diferenciado o Grado 3:
 - Ausencia de formación glandular
 - Pérdida total de polaridad nuclear
- Adenocarcinoma indiferenciado o Grado 4:
 - Ausencia total de diferenciación

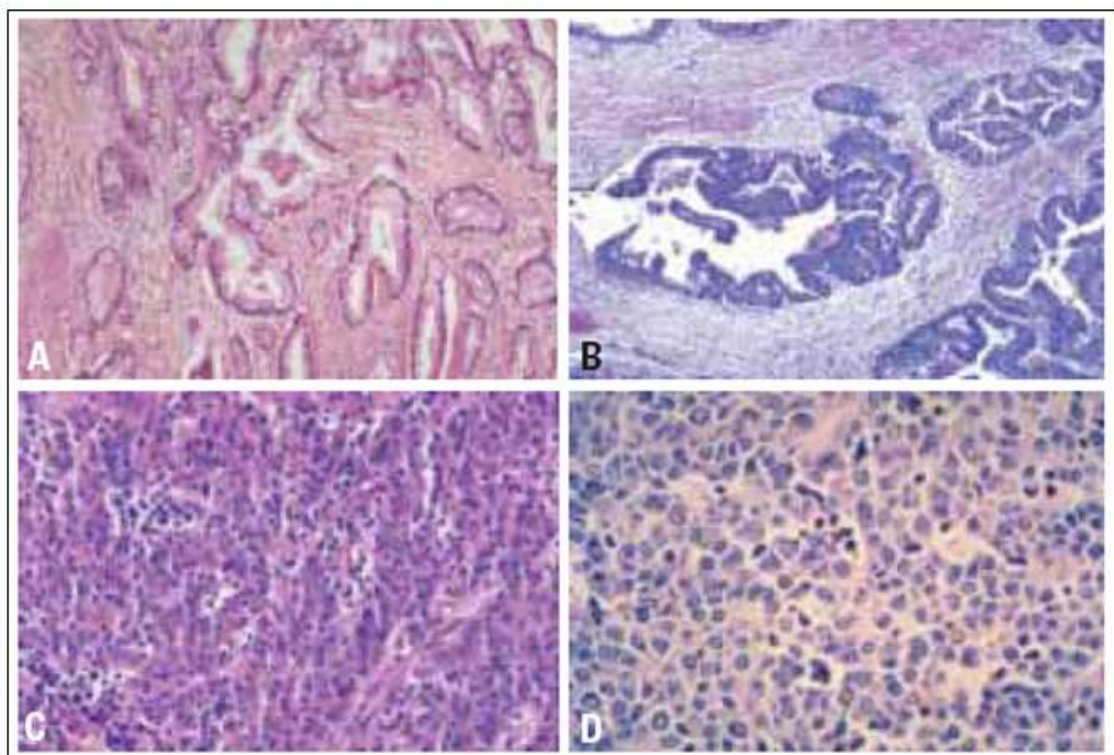


Figura I.34. A-Grado 1. B-Grado 2. C-Grado 3. D-Grado 4. Tomada de ref. ¹.

Pero esta gradación es poco objetiva y poco reproducible, con grandes variaciones interobservador. Además estos tumores son muy heterogéneos en cuanto al grado, presentando casi el 80% de los casos diferentes áreas con distintos grados histológicos.

Significativamente en la mayoría de estudios que señalan el grado tumoral como factor pronóstico, el número de grados fue reducido a 2¹⁰⁹:

- Adenocarcinoma de bajo grado
Equivalente a los grados 1 y 2
- Adenocarcinoma de alto grado
Equivalente a grado 3 y 4

Esta división mantiene el valor pronóstico y tiene mayor reproductibilidad interobservador. El criterio a seguir para la estratificación en 2 grados se limita a la formación de glándulas, sin valorar características nucleares (*fig. I.35*). Por su valor pronóstico, relativa simplicidad y reproducibilidad, este sistema es el recomendado por el Colegio Americano de Patólogos¹⁴⁹:

- Bajo grado → > 50% formación de glándulas
- Alto grado → < 50% formación de glándulas

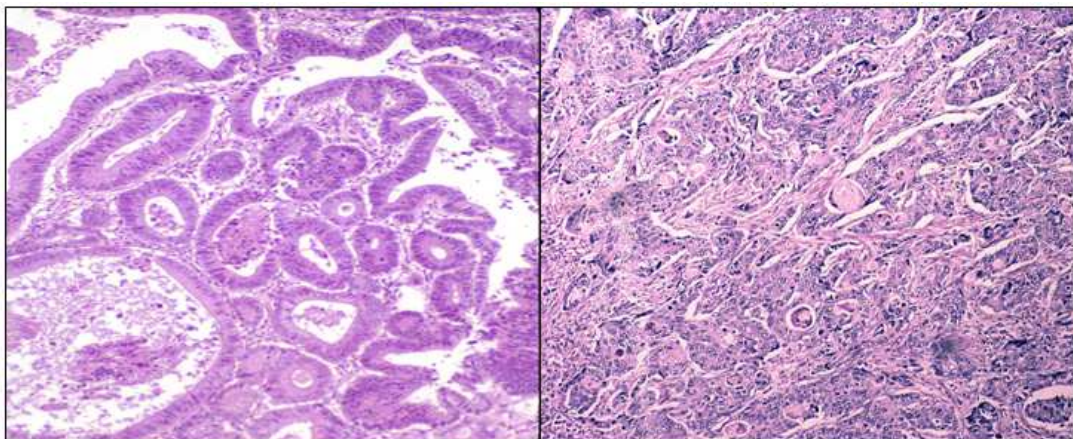


Figura I.35. CCR de bajo grado y de alto grado.

En cuanto al grado nuclear, actualmente los datos sobre su significación pronóstica son limitados, existen estudios en los que ha demostrado tener valor pronóstico en relación a la supervivencia libre de enfermedad, datos morfométricos como la desviación estándar de la distancia núcleo-membrana basal¹⁵⁰; y otros estudios han mostrado que el alto grado nuclear es un factor pronóstico adverso por análisis multivariantes, pero los criterios usados no son uniformes¹⁵¹.

Todos los trabajos coinciden en que la gradación histológica es útil para estimar el pronóstico de sobrevida; sin embargo Dukes, sostuvo que la distribución y diferenciación de las células de un tumor no es uniforme y en general son menos diferenciadas en el plano invasor que en el superficial. En las recomendaciones actuales a la hora de establecer el grado de un CCR, es importante destacar que en los casos muy heterogéneos, el grado debe establecerse según el componente menos diferenciado, y no el más abundante; intentando evitar valorarlo en el frente de invasión. Pequeños focos de carcinoma pobremente diferenciado pueden estar presentes en el borde de invasión tumoral, siendo este hallazgo insuficiente para clasificar la neoplasia como pobremente diferenciada. El concepto tumor “budding” definido como la presencia de esos pequeños agregados de células tumorales indiferenciadas en el borde infiltrante del tumor, es otro hallazgo específico que a veces es ignorado y otras considerado como borde de infiltración o parte del grado histológico. Estos agregados indiferenciados pueden ser vistos en tumores bien y moderadamente diferenciados, y en algunos estudios han mostrado tener mayor valor pronóstico que el grado histológico¹⁵². También se han relacionado con metástasis regionales en piezas con tumor T1 o T2 en cáncer rectal, sugiriendo que puede ser un indicador útil de pacientes con riesgo de recurrencias. En ausencia de datos más definitivos sobre el significado biológico de este hallazgo las últimas publicaciones indican que sería prudente informarlo de forma separada y como potencial factor pronóstico independiente del estadio y grado histológico.

En la actualidad la valoración del grado histológico del CCR sigue siendo un tema controvertido. Muchos son los sistemas propuestos pero a día de hoy ninguno está ampliamente aceptado.

6. Estudio IHQ de marcadores de proliferación y control del ciclo celular

La valoración y cuantificación del porcentaje de células proliferativas dentro de una neoplasia, y el estudio de moléculas implicadas en el control del ciclo celular, ha sido, y sigue siendo actualmente, objeto de un considerable número de investigaciones.

p53 es un gen supresor con una doble acción: por un lado detecta las alteraciones del ADN y detiene el ciclo celular en la fase G1 facilitando así su reparación; y cuando estas alteraciones no son reparables p53 induce a la célula a la apoptosis. La mutación de p53 es la alteración genética más frecuente en las neoplasias humanas, la proteína mutada está presente en aproximadamente el 50% de los tumores. Tiene tanto valor como expresión de mal pronóstico en el valor predictivo, que como expresión de resistencia al tratamiento. Diversos estudios apuntan que los pacientes con tumores positivos para p53 muestran estadios más avanzados, con una mayor incidencia de metástasis ganglionares y hepáticas. La sobreexpresión nuclear de p53 puede representar un factor predictor independiente de la supervivencia en pacientes con CCR con metástasis ganglionares^{153 154}. Estudios sugieren que los pacientes con estdio III que no expresan p53 se benefician de la terapia con 5-FU mas Levamisole, mientras que no se benefician aquellos que expresan p53¹⁵⁵.

ki-67 es una proteína nuclear útil para detectar células proliferativas. Aunque los métodos de citometría de flujo muestran que está presente en todas las fases del ciclo celular (G1, G2 y S), pero no en las células en fase Go (quiescentes); su detección por métodos de IHQ se limita a fase tardía G1 con máxima expresión en profases y metafases, y sus niveles son aparentemente indetectables durante la interfase. Por esta razón, ki-67 se reconoce como un indicador de actividad mitótica y proliferativa. El uso del anticuerpo monoclonal MIB-1 que reacciona con este antígeno permite valorar y cuantificar la capacidad proliferativa de los distintos tejidos incluidos en parafina. Existen muchos anticuerpos que pueden ser usados, como MM1, NCL-ki67, Rah Ki-67, etc. pero los estudios apuntan que MIB-1 es el más sensible y el que ofrece mejor tinción.

Se han realizado muchos estudios en los que se compara la expresión de ambos marcadores (ki-67 y p53) en CCR. Los marcadores de proliferación y control del ciclo celular también se han aplicado al estudio de displasia, incluida la asociada a EII. La aplicación de ki-67 en mucosa con varios grados de displasia en pacientes con EII mostró que ayudaba a distinguir la displasia de alto grado; pero no se consiguió una discriminación entre las alteraciones indefinidas para displasia o la displasia de bajo grado¹⁵⁶. En otro estudio la tinción con ki-67 ha ayudado a delimitar la displasia de la mucosa regenerativa en una paciente con CU¹⁵⁷.

En 2001, **Fdez Aceñero et al.**¹⁵⁸ estudiaron la influencia pronóstica de p53 en el CCR, para ello revisaron todos los pacientes intervenidos de CCR con intención curativa desde 1987 hasta 1992 en el Hospital de la Fuenfría de Madrid, seleccionando 126 pacientes. Obtuvieron que un 67 % de los pacientes presentó positividad nuclear para p53; el 10.3% positividad en < 20%, el 22% positividad 20-50%, y el 34.2% positividad en > 50%; y todos estos pacientes mostraron un pronóstico significativamente peor en intervalo libre de enfermedad (p 0.037), sin observar diferencias en términos de supervivencia global (p 0.07), pero dicha influencia se pierde en el estudio multivariado (Cox), en el que sólo tiene influencia pronóstica independiente del estadio, la invasión vascular y la invasión neural, por lo que los autores afirman que su estudio no permite concluir que la positividad de p53 indique un grupo de mal pronóstico en carcinoma colorrectal, aunque serían necesarios más estudios con seguimientos prospectivos para confirmar su posible utilidad.

En 2003, **Hideki Ishida et al.**¹⁵⁹ estudiaron el índice de proliferación (ki-67) en lesiones de 311 pacientes, 22 de ellos eran adenomas o carcinomas in situ, 207 eran CCR sin metástasis, y 82 eran CCR con metástasis. En sus resultados el índice de proliferación en los CCR pobremente diferenciados y en los mucinosos fue menor que en los bien y moderadamente diferenciados, sugiriendo que la actividad proliferativa es mas baja en los CCR con peor diferenciación. Y también observaron que el índice de proliferación era menor en los tumores con estadios mas avanzados (afectaban a subserosa), que aquellos que infiltraban submucosa o muscular propia. El nivel proliferativo de lesiones primarias con metástasis sincrónicas en hígado y pulmón fue significativamente menor que en los casos

con metástasis metacrónicas, indicando que las metástasis metacrónicas ocurren en CCR con baja proliferación.

En 2007, **Goergescu CV et al.**¹⁶⁰ estudiaron en 41 pacientes la relación entre marcadores de proliferación como PCNA y Ki-67, además de p53, con los hallazgos histológicos. Y obtuvieron que la actividad proliferativa medida con PCNA y ki-67 aumentaba con el grado histológico, y también fue superior en los carcinomas con células en anillo de sello frente a los mucinosos. Encontraron sobreexpresión de p53 en 24 casos, y la positividad a este marcador fue mayor en tumores menos diferenciados. Y se encontró un bajo porcentaje de expresión de p53 en los carcinomas mucinosos frente a los convencionales. También observaron que la sobreexpresión de p53 tiende a ser más frecuente en CCR con alta actividad proliferativa (*fig. I.36*).

Histological type	Mean PCNA LI (%)	Mean Ki-67 LI (%)
Adenocarcinoma		
grade 1	27	20
grade 2	53	34
grade 3	72	57
Mucinous adeno- carcinoma	50	32
Signet ring carcinoma	70	45

*p<0.05, ** p not significant

Histological type	No.	No. of p53 positive cases (positive rate %)
Adenocarcinoma		
grade 1	5	3 (60)
grade 2	21	13 (61.90)
grade 3	9	7 (77.77)
Mucinous adenocarcinoma	4	0
Signet ring carcinoma	2	1(50)

**p not significant

Figura I.36. Relación entre los valores de PCNA, Ki-67 y p53 con el grado histológico¹⁶⁰.

En 2007, **Padilla D et al.**¹⁶¹ estudiaron el perfil molecular del CCR sin afectación ganglionar de mal pronóstico, en 64 pacientes. Para ello realizaron estudio inmunohistoquímico de p53, ki67, VEGF y Metaloproteinasa 9. Encontraron correlación entre p53 y ki67; entre VEGF y MP9; y entre p53 y VEGF. Pero no obtuvieron relación significativa entre los valores estudiados y la existencia de recidiva y/o mortalidad, concluyendo que no podrían ser considerados como marcadores pronósticos en relación a recidiva y/o mortalidad en pacientes con CCR sin afectación ganglionar, asumiendo que la heterogenicidad del tejido neoplásico puede producir una gran variabilidad en la determinación IHQ de los marcadores.

En 2008, **Petrisor et al.** publican dos trabajos, en el primero de ellos estudian la relación entre la expresión de ki-67 y p53 y el grado de diferenciación en el CCR¹⁶², usando para ello 15 casos repartidos por igual en bien, moderado y pobremente diferenciados. Todos los casos fueron positivos para ki-67, mostrando valores entre 5%-95%. Solo 10 de los 15 casos mostraron positividad para p53 con valores entre 22%-95%. No se observó diferencias significativas entre los valores de ki67 y el grado histológico (p0.6), pero sí se obtuvieron con p53 (p0.007).

En el segundo trabajo del mismo grupo estudiaron la expresión de ki-67, p53 y bcl-2 en carcinomas de colon vs carcinomas rectales¹⁶³. Todos los casos fueron positivos para ki-67, observando que en los adenocarcinomas colónicos el índice de proliferación fue más alto, en todos los grados histológicos, en oposición a lo observado en localización rectal, donde únicamente los pobremente diferenciados mostraron valores de ki-67 por encima del 90%. Con relación a p53 observaron que los subtipos pobremente diferenciados con localización colónica presentaron valores altos de p53, frente a los de localización rectal donde solo los bien diferenciados mostraron niveles altos de p53. También encontraron diferencias significativas entre los valores de p53 y el grado histológico, tanto a nivel colónico como rectal, siendo mayores en los bien diferenciados. Algunos estudios¹⁶⁴ han establecido que el incremento de expresión de ki67 en carcinomas rectales y recto-sigmoides se asocia a mejor supervivencia, con mejor respuesta a radioterapia, mientras que los casos con bajo índice de proliferación se asocian a un incremento de la radioresistencia.

En 2008, **Uzma Nabi et al.**¹⁶⁵ estudiaron en 50 pacientes, la relación entre el índice de proliferación celular, medido con ki-67, y el grado, tipo y estadio del CCR (*fig. I.37*). Sus resultados fueron los siguientes: el índice de proliferación celular fue más alto en los CCR bien y moderadamente diferenciados, frente a los pobremente diferenciados; el índice de proliferación fue mayor en los CCR no mucinosos, frente a los mucinosos; y por último, ki-67 fue mayor en los CCR estadio B de Dukes, que en los estadios C (*fig. I.38*).

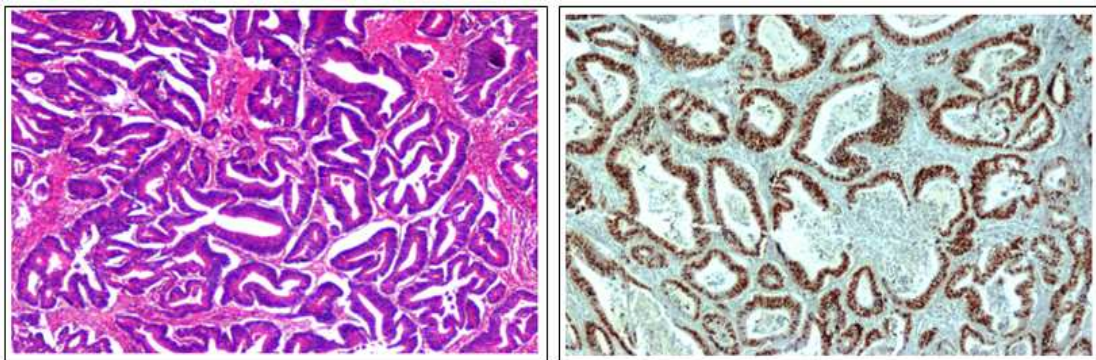


Figura I.37. H/E y Ki67 de CCR bien diferenciado estadio B de Dukes¹⁶⁵.

Histological Grade, Type & Stage	No	Mean Ki-67 PI±S,D
Histological grade*		
well	10	392.50±56.58
Moderate	29	342.24±96.84
Poor	11	250.00±113.46
Histological Type**		
Non Mucinous	33	393.93±55.91
Mucinous	10	220.00±49.72
Signet ring cell	7	200.00±79.05
Pathological stage***		
Dukes' A	1	375.00±0.00
Dukes' B	37	360.13±90.03
Dukes' C	12	241.66±101.31

* $p=0.004$, ** $p=0.000$, *** $p=0.001$

Figura I.38. Valores de ki-67 en relación con el grado y tipo histológico y el estadio tumoral¹⁶⁵.

Uno de los estudios más recientes, publicado en 2011 por **Wang J et al.**¹⁶⁶ estudia la expresión de ki-67, p53 y c-Myc en matrices de tejido de la zona tumoral, mucosa adyacente, y margen quirúrgico (> 5cm del tumor). Y en él obtuvieron una expresión decreciente de los marcadores a medida que se alejaban del tumor, de forma que la mucosa adyacente mostró una mayor expresión de ki-67, p53 y C-Myc, que la mucosa sana del margen quirúrgico, concluyendo que la valoración de la expresión de estos marcadores puede ayudar a valorar el estado del margen de resección.

En 2012, **Murad JC et al.**¹⁶⁷ realizan un estudio con 54 pacientes con CCR metástasico, con metástasis hepáticas. En él estudian la expresión de p53 y ki67 en el tumor primario y en las metástasis hepáticas (*fig. I.39*). Con respecto a la expresión de p53 obtuvieron que la positividad, tanto en el tumor primario como en la metástasis hepática, se relacionaba con un menor intervalo libre de enfermedad ($p < 0.04$). En cuanto al ki-67 observaron una baja expresión de ki-67 asociada a una mejor supervivencia y periodo libre de enfermedad, tanto en el tumor primario como en la metástasis hepática.

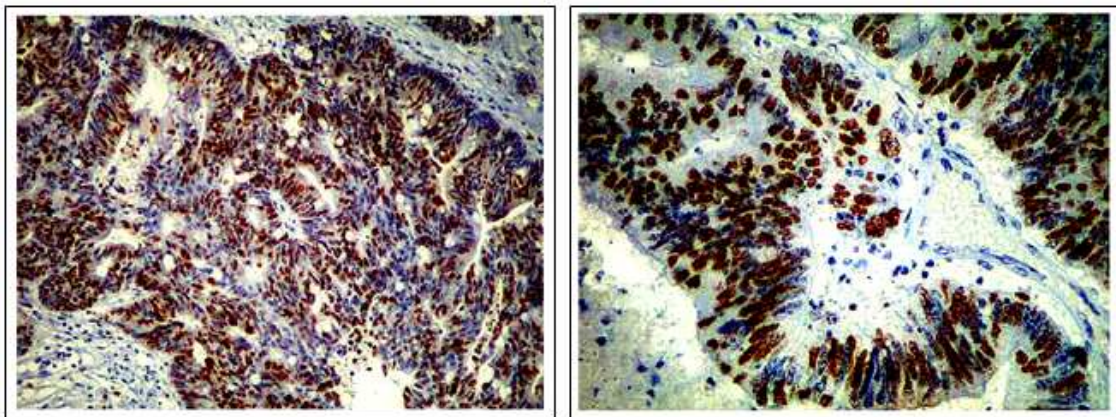


Figura I.39. Expresión de p53 y ki-67 en metástasis hepática de CCR¹⁶⁷.

Dada la conocida heterogeneidad del CCR, no sólo se han realizado estudios que comparan la inmunoexpresión de marcadores de proliferación y control del ciclo celular, con otros parámetros o con la expresión metástasica; sino que también se han realizado estudios comparativos entre distintos compartimentos de un mismo

tumor, como el realizado por Palmqvist et al¹⁶⁸, en el que se estudian 56 casos de CCR en estadio B de Dukes, y se valora la cuantificación de ki-67 en el borde luminal y en el margen invasivo. Sus resultados muestran una mayor actividad proliferativa en el borde luminal (p 0.001). Además también observan que los tumores con baja proliferación en el margen invasivo tienen peor pronóstico (p0.014); por lo que concluyen que los CCR en estadio B de Dukes muestran heterogeneidad espacial con respecto a la proliferación celular, y que un bajo índice de proliferación en el compartimento profundo es un factor de mal pronóstico.

Estas diferencias en cuanto a la proliferación celular en un mismo tumor ha sido objeto de diversos estudios con carcinomas de distintas localizaciones^{169 170}, como los realizados en vejiga¹⁷¹, en los que un minucioso estudio sobre el perfil cinético también pone de manifiesto un mayor índice proliferativo en el borde luminal de la lesión, con respecto a la zona infiltrante.

II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Planteamiento del tema

En la práctica clínica habitual, el plan terapéutico y el pronóstico del CCR se suelen establecer en virtud de un sólo parámetro: el estadio de extensión de la enfermedad; sin tener en consideración los factores independientes del tiempo de evolución, que definen las características patobiológicas del tumor y que se corresponden con la agresividad intrínseca de la neoplasia.

Muchos son los estudios que se han realizado sobre el valor pronóstico del grado histológico en el CCR, y muy variados han sido los resultados. Las principales diferencias entre los resultados obtenidos se deben en parte a los distintos sistemas utilizados para la valoración del grado histológico. Y aunque se acepta que el grado histológico tiene significación pronóstica, principalmente cuando se usa la clasificación en dos categorías, alto y bajo grado¹⁴⁹; la verdad es que en la actualidad no existe un método estandarizado para la valoración del mismo.

En cuanto al estudio inmunohistoquímico con marcadores de proliferación y de control del ciclo celular, también se han realizado estudios con resultados significativos^{163 164}; pero sin duda hasta ahora insuficientes para incluir la valoración de estos marcadores en el CCR en la práctica clínica, como sí se está haciendo en cánceres de otras localizaciones como estómago o mama.

En un intento de conocer el valor pronóstico de estos factores independientes del tiempo de evolución, nos planteamos realizar la valoración del grado histológico del CCR con un novedoso sistema sumatorio de los compartimentos superficial y profundo de la neoplasia, así como el estudio inmunohistoquímico con marcadores de proliferación y control del ciclo celular (ki-67 y p53), en *arrays*/matrices de tejidos de zonas tumorales fenotípicamente diferentes del tumor (superficiales y profundas), así como de la zona de transición con la mucosa normal; y relacionarlos con la supervivencia a largo plazo (15 años).

2. Hipótesis

El grado histológico sumatorio, de los compartimentos superficial y profundo del tumor, y la valoración de marcadores de proliferación y control del ciclo celular, tienen valor pronóstico en relación con la supervivencia a largo plazo de los pacientes con CCR.

3. Objetivos

- Conocer las posibles diferencias de grado histológico en los dos compartimentos, superficial y profundo, del mismo tumor, y su relación con otros parámetros histopatológicos y su valor pronóstico.
- Establecer un grado histológico sumatorio y conocer su relación con distintos parámetros histopatológicos, y con la supervivencia.
- Determinar la relación de la expresión de marcadores de proliferación y control del ciclo celular (ki-67 y p53), en el compartimento superficial y profundo de un mismo tumor, y su relación con el grado histológico y la supervivencia.
- Precisar qué factores patobiológicos cronoinmensibles del CCR tienen valor pronóstico y pueden ser incluidos en el protocolo anatómico-clínico rutinario.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Tipo de estudio

Hemos realizado un estudio observacional retrospectivo de los pacientes diagnosticados de CCR en el Servicio de Anatomía Patológica del HCU Virgen de la Victoria de Málaga durante un periodo de cinco años, con un seguimiento posterior mínimo de 15 años.

2. Población

Nuestro estudio reúne un total de 169 pacientes intervenidos de CCR en el periodo desde el 1 de Enero de 1994 hasta el 31 de Diciembre de 1998; de los cuales se dispone de muestras representativas de compartimentos superficial y profundo del tumor, así como de mucosa normal, y seguimiento del paciente.

3. Recogida de datos

La recogida de datos de los pacientes se ha realizado a través del RHT, encargado de la recopilación de unos datos mínimos del paciente y de actualizar el seguimiento anualmente. En los casos que no disponíamos de información en el RHT se ha procedido a la revisión de las historias clínicas correspondientes siguiendo los criterios y la metodología de trabajo establecida por la red nacional de registros hospitalarios de tumores (RN-RHTs) de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) que está descrita en el Manual de Procedimientos recientemente publicado^{172 173}. El seguimiento de todos los casos incluidos en el estudio ha sido actualizado a 31 de diciembre de 2012.

Una vez seleccionados los casos, las variables del estudio han sido tabuladas en una base de datos *on line* RetePath, cuyo servidor está ubicado en las dependencias de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y que cumple con todos los requisitos de confidencialidad y privacidad.

4. Construcción de matrices de tejido (TMAs)

La valoración del grado histológico se realizó sobre los cortes completos de H/E original, pero para la valoración los biomarcadores moleculares, hemos utilizado matrices de tejidos (tissue microarrays o TMAs).

Una de las actividades más rentables en la investigación oncológica actual consiste en reunir el máximo número de pacientes de una misma patología neoplásica y poder establecer comparaciones con parámetros clinicopatológicos diversos, cuyas conclusiones -con significación estadística- nos permitirán extrapolar los resultados al resto de la población, y asentar esos datos como de relevancia pronóstica, en una patología tan heterogénea, en su forma de presentación, comportamiento biológico y evolución como es el cáncer¹⁷⁴. De esta necesidad surgen las matrices de tejido. La instauración de esta técnica de estudio simultáneo, de pequeñas muestras de tejido de distintos pacientes en un sólo bloque, ha supuesto un salto cualitativo en el estudio eficiente de un elevado número de tumores, permitiendo obtener valiosos datos de manera rápida y poco costosa^{175 176} (fig. III.1). La principal ventaja de la utilización de esta técnica es la reducción significativa de tiempo y coste para su realización. Y así, es posible efectuar un estudio de grandes series de pacientes en un tiempo escaso.

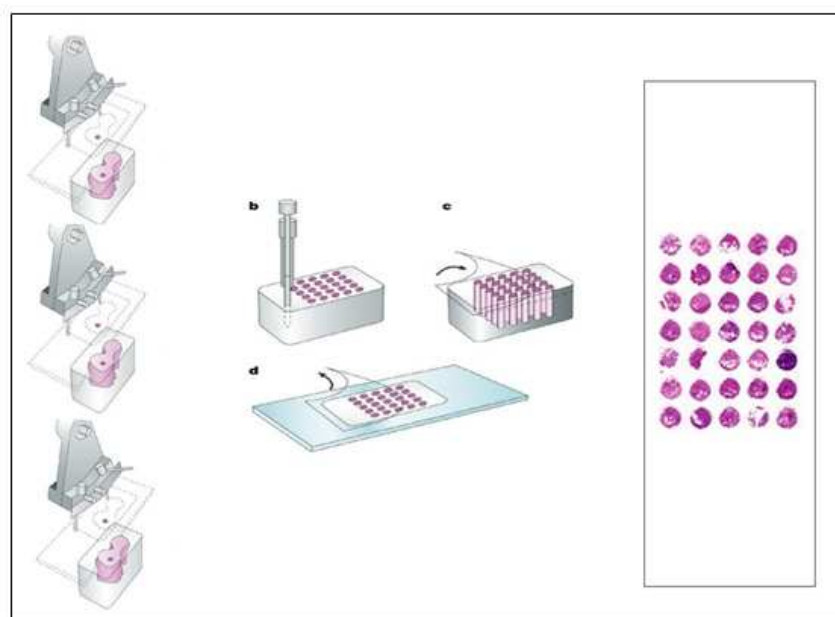


Figura III.1. Esquema de construcción de TMAs.

Para seleccionar el bloque adecuado de cada caso para nuestro estudio, se realizó previamente una valoración de todas preparaciones histológicas teñidas con H/E de cada paciente. En dichas preparaciones se marcaron tres zonas distintas para cada caso, usando colores distintos:

- Color rojo- zona tumoral superficial (evitando zonas de ulceración).
- Color azul- zona tumoral infiltrante profunda.
- Color negro- zona de mucosa normal adyacente.

En los casos que fue posible se intentó obtener representación de estas tres zonas en una misma preparación histológica, en el resto se seleccionaron más de una sección hasta obtener representación de los tres compartimentos.

Después de seleccionar y marcar las preparaciones histológicas se procedió a la búsqueda de los bloques, y al marcaje de los mismos con el mismo código de colores: Rojo-tumor superficial, Azul-tumor profundo, Negro-mucosa normal (*fig. III.2*).

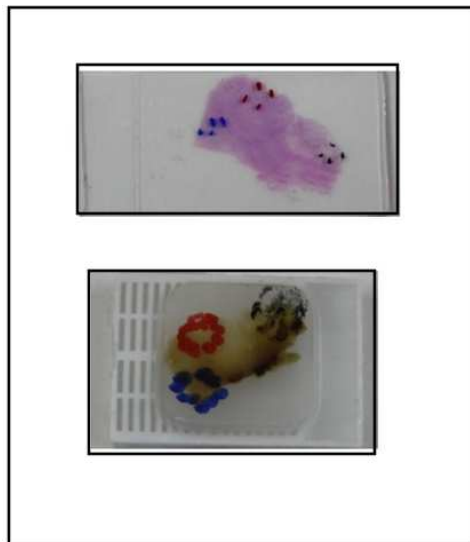


Figura III.2 Preparación histológica H/E y bloque de parafina marcados. Rojo-componente superficial. Azul-componente profundo. Negro-mucosa normal.

Con todos los bloques seleccionados y marcados, se procedió a la construcción de las matrices de tejido. Para ello se utilizó un *arrayer* de tejidos (Beecher Instruments) de tipo manual (*fig. III.3*), contruyéndose bloques de parafina con 65 cilindros de tejido tumoral. El diámetro de cada cilindro fue de 1mm, basándonos en la recomendaciones de estudios previos.

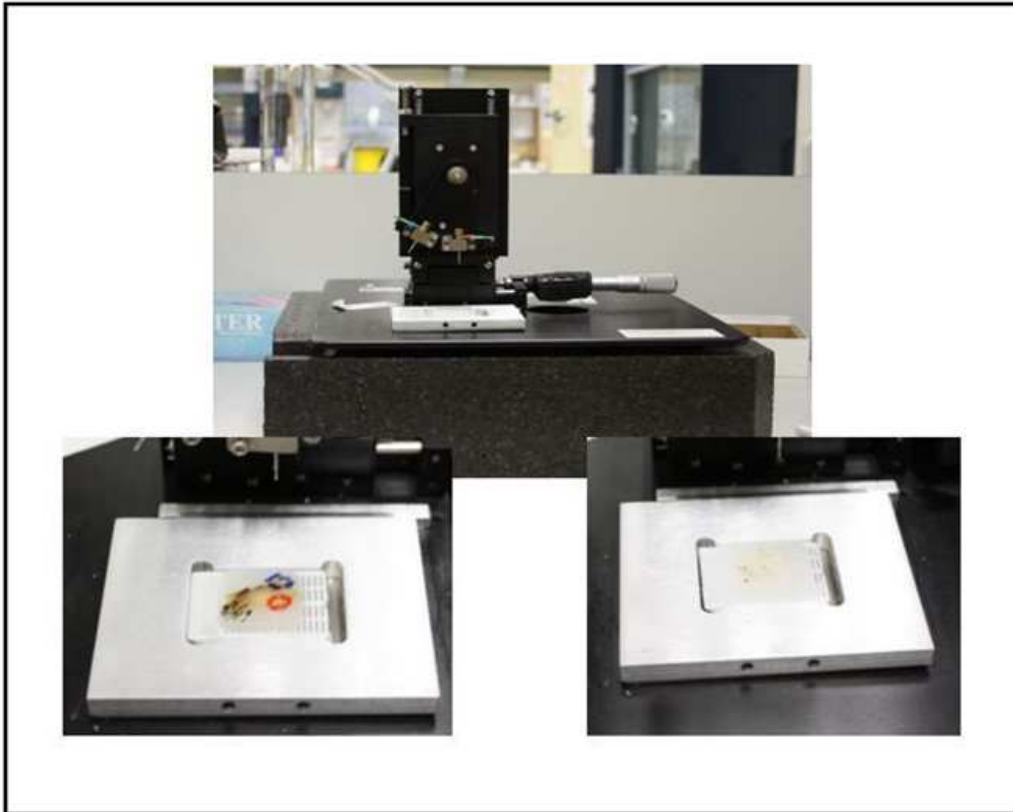


Figura III.3 Arrayer de tejidos (Beecher Instruments) de tipo manual.

Por cada caso se extrajeron 3 cilindros de cada zona: tres de la zona superficial, otros tres de la zona profunda y otros tres de mucosa normal, y se colocaron en TMA's diferentes.

Para la construcción de las TMA's se siguieron los siguientes criterios: año de diagnóstico y zona seleccionada (superficial, profunda o mucosa normal) para facilitar la lectura de las matrices y posterior estudio estadístico (*fig. III.4*).

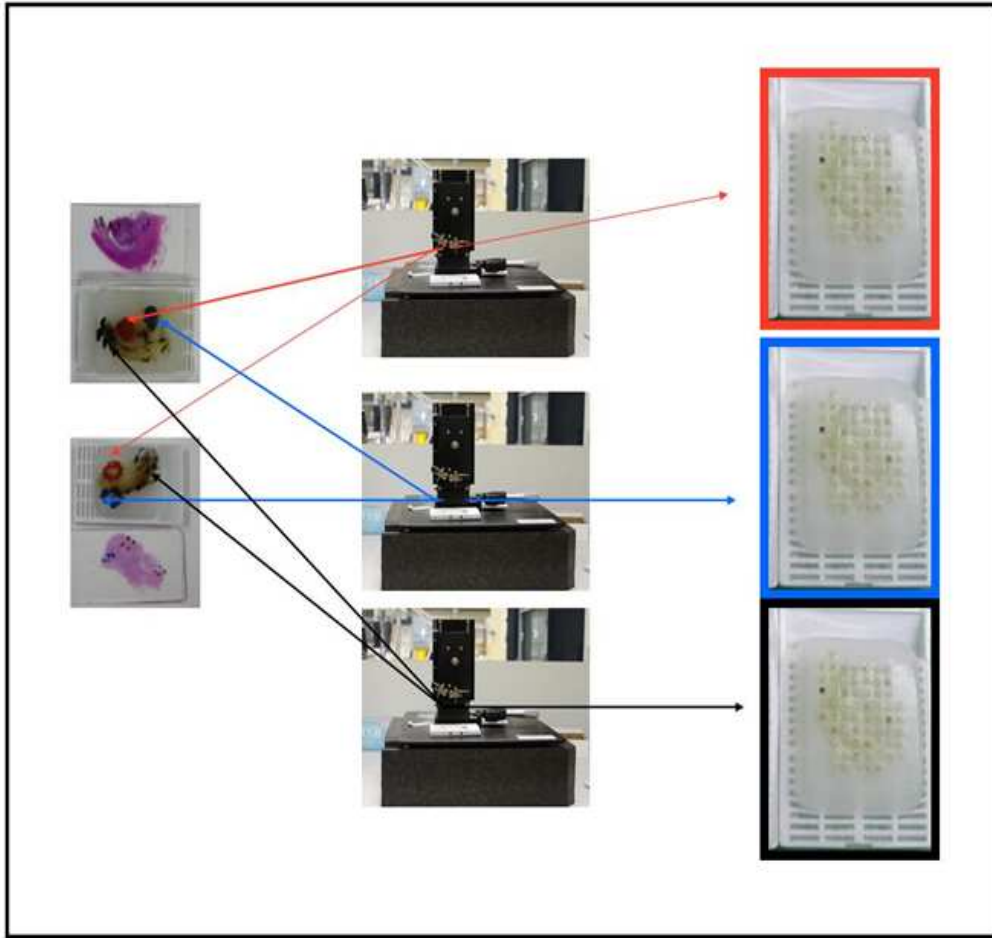


Figura III.4. Construcción de TMAs según localización. Rojo-tumor superficial. Azul-tumor profundo. Negro- mucosa normal.

Una vez finalizada la construcción de matrices de tejidos obtenemos un total de 27 TMAs. 9 TMAs con cilindros de zona tumoral superficial (tres por cada caso, en matrices distintas), 9 TMAs con cilindros de zona tumoral profunda, y 9 TMAs con cilindros de mucosa normal adyacente.

Para la validación del estudio con TMAs se eligieron 25 casos al azar, que se utilizaron para validar la representatividad de las matrices, con un estudio comparativo de la reactividad inmunohistoquímica encontrada en el corte tisular completo y la observada en la muestra seleccionada para TMA.

De cada caso se obtuvieron 3 cortes de 3 micras por cada localización, por la técnica habitual de microtomía. Para facilitar la valoración de los TMAs se utilizaron plantillas de trabajo con una cuadrícula por cada cilindro de tejido, presentando la misma distribución y con el número de identificación de cada paciente (*fig. III.5*).

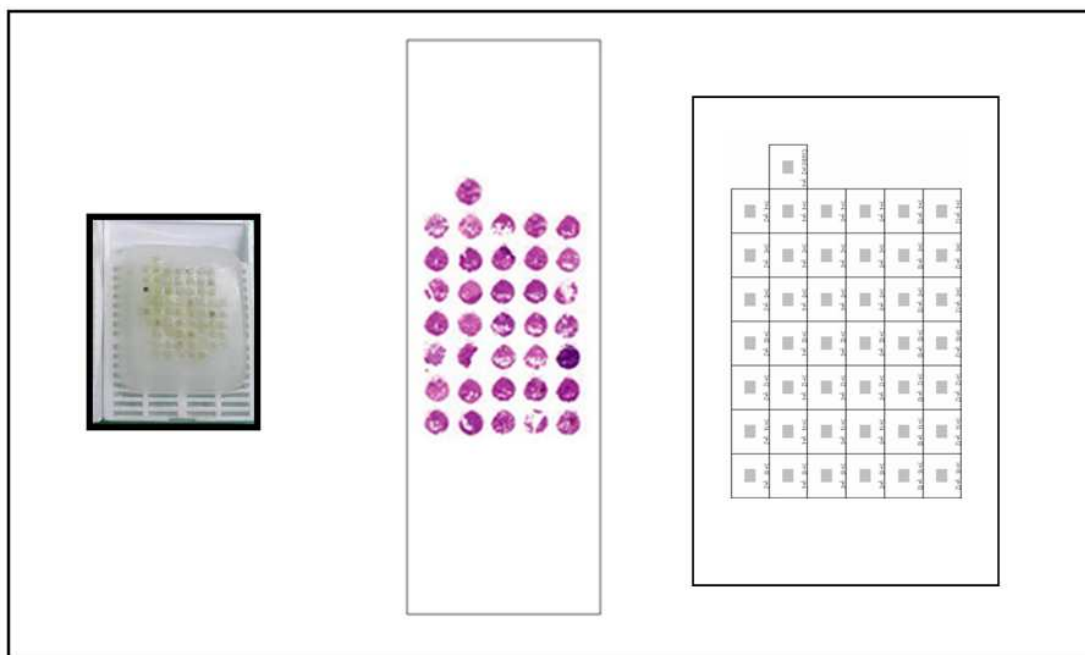


Figura III.5. TMA, sección teñida con H/E y plantilla de trabajo.

5. Valoración del grado histológico sumatorio

Para obtener el valor del grado histológico sumatorio de cada paciente se ha seguido una serie de pasos. Primero se han valorado por separado los compartimentos superficial y profundo, asignándoles en cada caso un patrón arquitectural con valores de 1 a 4 con los criterios expuestos a continuación; y posteriormente se han sumado ambos valores para obtener el grado histológico sumatorio.

Los parámetros en los que nos basamos para asignar el patrón arquitectural a cada compartimento de la neoplasia son arquitecturales, sin tener en cuenta valores citológicos, y son los siguientes:

- Formación glandular
- Tamaño de luz glandular
- Altura de epitelio
- Fusión glandular

En base a estos criterios propusimos cuatro patrones posibles que se detallan a continuación, y realizamos un esquema inicial (*fig. III.6*).

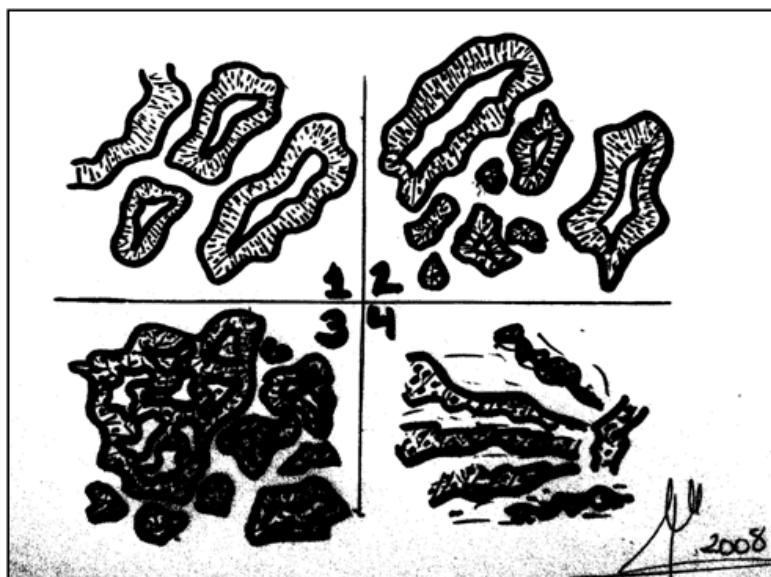


Figura III.6. Esquema original con los 4 patrones arquitecturales.

Patrón 1: Neoplasias constituidas por glándulas de gran tamaño, con morfología angulosa y totalmente independientes unas de otras. Presentan epitelios altos. Las luces glandulares son espaciosas y no existe fusión interglandular (*fig. III.7*).

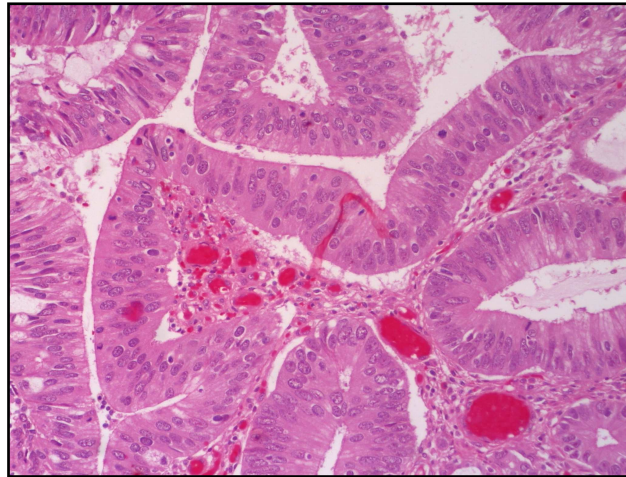


Figura III.7. Ejemplo de patrón arquitectural 1. H/E 20x.

Patrón 2: Neoplasias constituidas por glándulas de distintos tamaños, grandes y pequeñas. Epitelio alto, con amplias luces glandulares y ausencia de fusión interglandular (*fig. III.8*).

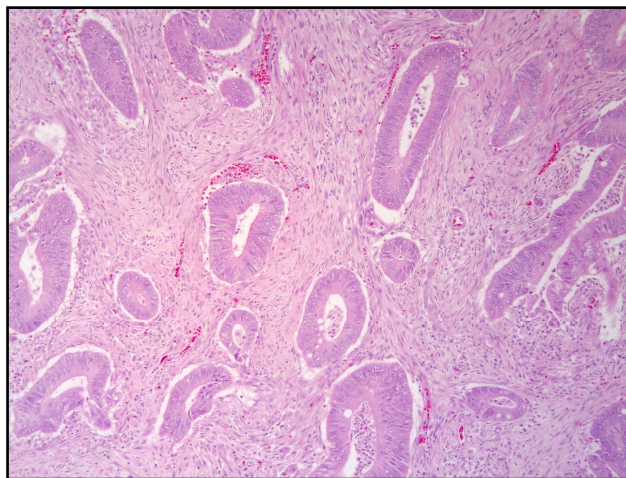


Figura III.8. Ejemplo de patrón arquitectural 2. H/E 10x.

Patrón 3: Neoplasias constituidas por glándulas irregulares en morfología y tamaño, con epitelios de menor altura. Luces glandulares de pequeño tamaño. Presencia de fusión glandular (*fig. III.9*).

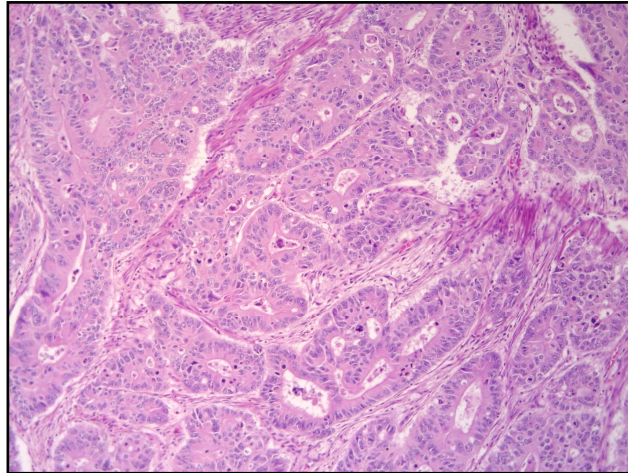


Figura III.9. Ejemplo de patrón arquitectural 3. H/E 10x.

Patrón 4: Neoplasias con ausencia total de formación glandular. Patrón indiferenciado (*fig. III.10*).

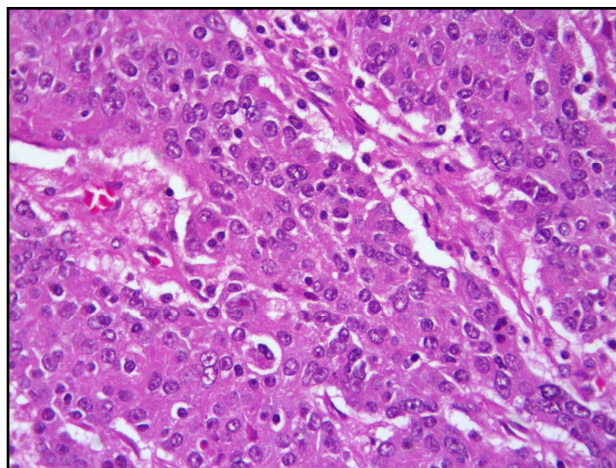


Figura III.10. Ejemplo de patrón arquitectural 4. H/E 20x.

La valoración de los patrones arquitecturales se he llevado a cabo por dos observadores distintos; posteriormente se han comparado los resultados, y los casos discrepantes han sido valorados por un tercero.

Tras obtener lo valores de patrón arquitectural de cada paciente en los compartimentos superficial y profundo, hemos calculado el grado histológico sumatorio (*fig. III.11*).

$$\begin{array}{r} \text{GRADO} \\ \text{SUMATORIO} = \\ \\ \text{(2-8)} \end{array} = \begin{array}{r} \text{PATRÓN} \\ \text{ARQUITECTURAL} \\ \text{SUPERFICIAL (1-4)} \\ \\ + \\ \\ \text{PATRÓN} \\ \text{ARQUITECTURAL} \\ \text{PROFUNDO (1-4)} \end{array}$$

Figura III.11. Fórmula para calcular el grado histológico sumatorio.

Los tumores mejor diferenciados, con valor 1 en ambas porciones obtienen un valor sumatorio mínimo de 2. ej: 2 (1 + 1). Los tumores menos diferenciados pueden obtener un valor máximo de 8. ej: 8 (4 + 4) si no presentan diferenciación glandular en ninguna de las porciones estudiadas.

Una vez obtenidos los valores de grado histológico sumatorio para cada tumor, hemos realizado una división en dos grandes grupos:

- No Alto Grado (NAG): constituido por los tumores con grado sumatorio 2, 3 y 4.
- Alto grado (AG): constituido por los tumores con grado sumatorio 5, 6, 7 y 8.

6. Estudio inmunohistoquímico

De cada bloque de TMA se realizaron cortes consecutivos de 4-5 micras de grosor, en portas tratados (ChemMate, DAKO, Copenhagen, Dinamarca), para la realización del estudio IHQ.

Antes de la inmunotinción los cortes fueron sometidos a un proceso de desenmascaramiento antigénico. Las técnicas de inmunohistoquímica se llevaron a cabo en los equipos de inmunotinción automatizada DAKO TechMate Horizon y Autostainer, usando como método de visualización de la reacción antígeno-anticuerpo el sistema EnVision (DAKO).

De forma resumida, el proceso siguió las siguientes fases: se realizó bloqueo de la peroxidasa endógena (DAKO Peroxidase Block), incubación con anticuerpo primario, incubación con el polímero marcado y luego con el sustrato cromógeno (DAB), y finalmente contratinción y montaje (*fig. III.12*).

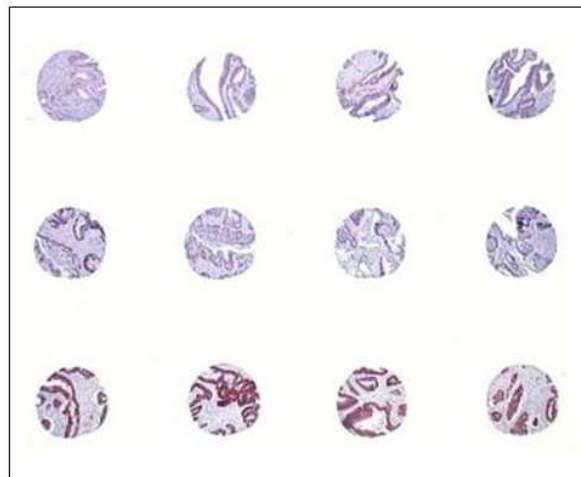


Figura III.12. Sección de TMA con tinción IHQ.

Anticuerpos primarios utilizados:

- ki-67 (clona SP6, Master Diagnóstica, España).
- p53 (clona SP5, Master Diagnóstica, España).

La realización de estudio IHQ en TMAs permite un análisis más simplificado debido al estudio simultáneo de un gran número de muestras, y, por otro lado, supone un gran ahorro en reactivos sobre el uso de cortes titulares completos. El empleo del inmunotendores automáticos facilita la estandarización de condiciones para todos los casos de la serie, evitando la variabilidad metodológica. El uso de EnVision (polímero marcado con enzima) como método de visualización de la reacción inmunohistoquímica evita la tinción inespecífica de biotina endógena que aparece frecuentemente con el sistema avidina-biotina y facilita la visualización del anticuerpo, por ser altamente sensible y con notable amplificación de la señal.

Como control de calidad, cada grupo de inmunotinciones realizadas con un determinado anticuerpo, incluirá su correspondiente control positivo y un control negativo, donde el anticuerpo primario será sustituido por suero no inmune de la misma especie que el anticuerpo primario.

La valoración de la expresión de los distintos marcadores biomoleculares del estudio IHQ se ha llevado a cabo, de forma independiente, por dos observadores. Los resultados se han comparado y puesto en común, y en los casos discrepantes se ha requerido la valoración de un tercer observador.

Los resultados del estudio IHQ de Ki-67 y p53 se han obtenido de la siguiente forma:

ki-67: valor medio de núcleos positivos por cada 100 células epiteliales en 3 CGA distintos.

p53: valor medio de núcleos positivos por cada 100 células epiteliales en 3 CGA distintos.

7. Variables del estudio

Variables clínicas:

Edad del paciente en el momento del diagnóstico- (variable de confusión en años).

Sexo- (variable de confusión numérica): 1 Hombre 2 Mujer.

Localización- variable de confusión numérica (1. Colon (C18), 2. apéndice (C18.1), 3. colon ascendente (C18.2), 4. ángulo hepático colon (C18.3), 5. colon transversal (C18.4), 6. ángulo esplénico colon (C18.5), 7. colon descendente (C18.6), 8. colon sigmoide (C18.7), 9. lesión de sitios contiguos del colon (C18.8), 10. Colon e intestino grueso sin especificar (C18.9). 11. Unión recto-sigma (C19); 12. Recto (C20)) (*fig. III.12*).

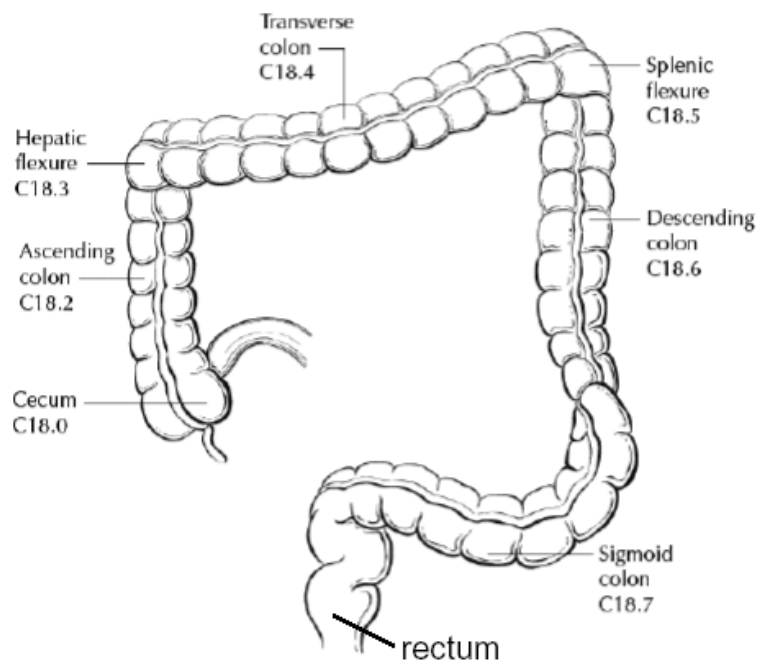


Figura. III.12. Esquema de localización anatómica.

VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS:

Patrón arquitectural superficial- Variable numérica categorizada con valores de (1-4).

Patrón arquitectural profundo- Variable numérica categorizada con valores de (1-4).

Grado histológico sumatorio- Variable numérica categorizada con valores de (2-8).

Otros hallazgos histopatológicos- Además del grado, en los casos estudiados se han analizado una serie de datos histopatológicos complementarios:

-Necrosis- presencia de siluetas celulares tumorales, con presencia de detritus celulares mezclados con celularidad inflamatoria (leucocitos, linfocitos y macrófagos), afectando tanto al componente glandular y, en menor proporción al componente estromal. Debe suponer al menos el 50% de la muestra. Variable de confusión numérica: 1 Ausencia. 2 Presencia.

-Inflamación peritumoral- Presencia de un pronunciado infiltrado predominantemente linfo-plasmocitario (aunque también pueden existir leucocitos, mastocitos e histiocitos) en el margen de crecimiento o frecuentes cúmulos linfocitarios perivasculares. Variable de confusión numérica: 1 Ausencia. 2 Presencia.

-Desmoplasia- formación de tejido fibroso “nuevo”, compuesto por haces de colágeno y fibroblastos, que rodea las estructuras glandulares neoplásicas, presente sobre todo en el frente de infiltración. Variable de confusión numérica: 1 Ausencia. 2 Presencia.

-Mucina- Presencia de mucina en más del 50%. Variable de confusión numérica: 1 Ausencia. 2 Presencia.

-Patrón cribiforme- Glándulas grandes compuestas a su vez por glándulas pequeñas dispuestas “back to back”. Sin evidencia de fusión glandular. Variable de confusión numérica en: 1 Ausencia. 2 Presencia.

-Frente de infiltración- Variable de confusión numérica: 1. Expansivo: Margen infiltrante bien definido o expansivo (rechazando en su crecimiento a las estructuras vecinas). 2. Digitiforme: Margen infiltrante que disecciona y separa elementos contiguos de los tejidos que invade.

Estadio de extensión.-Variable de confusión numérica categorizada como:

1. **Ca. colorrectal con extensión local (N0M0)**
2. **Ca. colorrectal con extensión regional (N1N2M0).**
3. **Ca. colorrectal con metástasis a distancia (M1).**

Recidiva tumoral. Variable numérica categorizada: 1 ausencia, 2 recidiva regional, 3 recidiva en órganos.

Tamaño tumoral. Variable numérica continua (en cm).

Afectación ganglionar. Variable numérica categorizada: 1 Ganglios negativos, 2 ganglios positivos.

Expresión tisular de marcadores biomoleculares: variables de tipo numérico:

Ki-67 variable numérica continua. Número de núcleos positivos/100 células en 3 CGA.

p53 variable numérica continua. Número de núcleos positivos/100 células en 3 CGA.

Seguimiento y supervivencia:

Fecha de diagnóstico (día-mes-año).

Fecha de última revisión (día-mes-año).

Estado del paciente en la última revisión Variable numérica categorizada (1. vivo sin enfermedad; 2. vivo con enfermedad; 3. muerto por la enfermedad; 4. muerto por otras causas; 5. perdido para seguimiento). En los pacientes fallecidos se recogió la variable fecha de fallecimiento (día-mes-año).

La **supervivencia global** se calculó en meses; en los pacientes vivos es la diferencia entre la fecha de última de revisión y la fecha de diagnóstico. En el caso de los pacientes fallecidos es la a diferencia entre la fecha diagnóstico y la fecha de fallecimiento. La variable supervivencia es numérica de tipo continuo y es la variable dependiente del estudio.

8. Análisis estadístico

Una vez completada la base de datos y con el seguimiento actualizado, procedimos a la descripción de todos los parámetros clínico-patológicos convencionales (variables de confusión), supervivencia (variable dependiente) y de los marcadores biomoleculares testados en cada componente (superficial y profundo, así como en la mucosa normal) de todos los CCR incluidos en el estudio. El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico SPSS (versión 13.0). Hemos realizado estadística descriptiva básica inicial seguida de los análisis univariantes utilizando el test de chi-cuadrado, t-test, ANOVA o correlaciones divariados de Pearson (dependiendo de que las variables tengan carácter numérico categorizado o variables numéricas continuas). Y hemos usado métodos no-paramétricos (*U* de Mann–Whitney y test de Kruskal–Wallis) para datos sin distribución normal. Las curvas de supervivencia se han analizado mediante el método de Kaplan–Meier. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Finalmente hemos realizado un análisis multivariante del tipo de regresión de Cox .

9. Limitaciones del estudio

La principal dificultad del estudio es seleccionar casos con al menos diez años de seguimiento cuya historia clínica recoja todos los datos precisos, y disponer de material histológico suficiente de los componentes superficial y profundo de la neoplasia, así como de mucosa normal. Estos criterios han reducido considerablemente el número de casos estudiados.

Otro de los posibles problemas de nuestro estudio deriva de trabajar con muestras en matrices de tejido, y de la posible representatividad de alguno de los anticuerpos seleccionados para el estudio IHQ.

10. Aspecto éticos de la investigación

Los aspectos éticos del presente proyecto se encuentran recogidos en la Ley 41/2002, de autonomía del paciente y derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (basada en la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos de Carácter Personal) así como en la Ley 14/2007, de Investigación biomédica. El estudio propuesto, de tipo observacional retrospectivo, utiliza casos identificados por un número de orden dissociado de los datos personales del paciente. La utilización de muestras biológicas, para el estudio de inmunoexpresión de proteínas, obtenidas con anterioridad a la ley contempla su uso siempre que sean anonimizadas, como es nuestro caso.

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO DESCRIPTIVO

1.1 Parámetros clínicos

Edad- Los pacientes de nuestro estudio presentaron edades comprendidas entre 35 y 98 años, con una edad media de 68 años. La distribución por edades dividida en tres grandes grupos fue la siguiente: 17 (11%) tenían menos de 50 años, 75 (44%) tenían edades comprendidas entre los 50 y 70 años, y 78 (45%) tenían más de 70 años en el momento del diagnóstico (*fig. IV.1.1*).

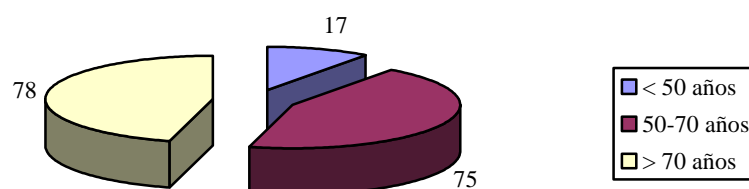


Figura IV.1.1 Distribución según grupos de edad en el momento del diagnóstico.

Sexo- En la distribución por sexos observamos en nuestro estudio un ligero predominio de varones sobre mujeres, con un 55.4% (92 varones), frente a un 44.6% (74 mujeres) (*fig. IV.1.2*).

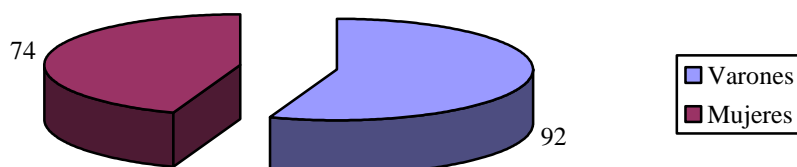


Figura IV.1.2. Distribución por sexo.

Localización anatómica- Con respecto a la localización anatómica, la mayoría de los casos, 69 (42.6 %), se localizaron en colon izquierdo-sigma; la segunda localización más frecuente fue colon derecho, con 46 casos (28.4%), en colon transverso se recogió el menor número de casos, 12 (7.4%); y el (21.6%) con 35 casos estaban localizados en recto. (fig. IV.1.3).

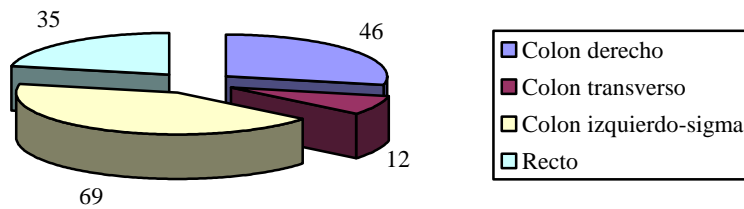


Figura IV.1.3. Distribución según localización anatómica

1.2 Parámetros histopatológicos

Grado histológico histórico- Según la clasificación en tres categorías usada en el momento del diagnóstico, el 61.5% (99) de los CCR fueron catalogados como moderadamente diferenciados, el 15.5% (25) se clasificaron como bien diferenciados, y el 23% (37) como pobremente diferenciados (fig. IV.1.4).

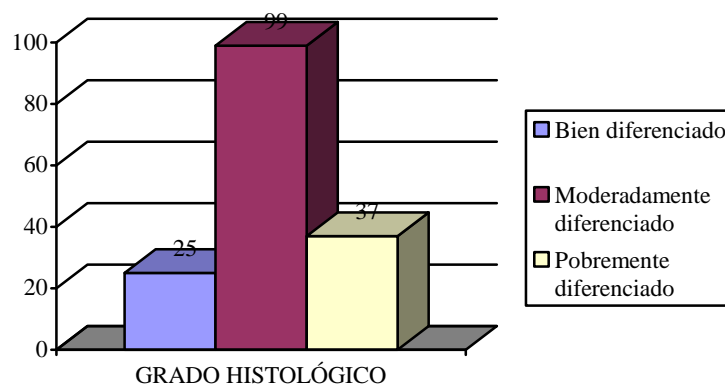


Figura IV.1.4 Grado histológico histórico asignado en el momento del diagnóstico.

Tipo histológico- En cuanto al tipo histológico asignado en el momento del diagnóstico, más del 80% (136) de los casos de nuestro estudio se catalogaron como CCR de tipo intestinal; 25 casos (14.7 %), como CCR de tipo mucinoso; y una minoría (2) eran CCR de células en anillo de sello. (*fig. IV.1.5*).

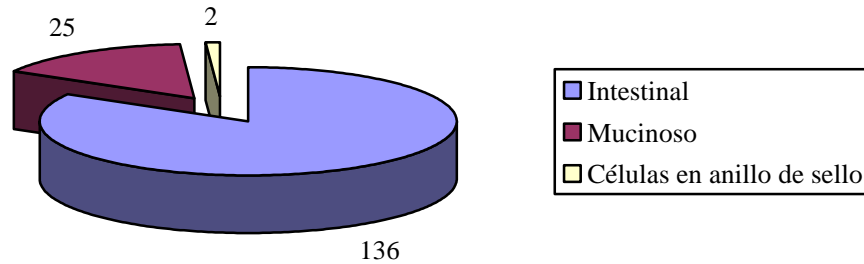


Figura IV.1.5. Distribución según tipo histológico.

Tamaño tumoral- Para la valoración del tamaño tumoral se utilizaron los datos obtenidos del estudio macroscópico de la pieza, y se realizaron dos grandes grupos, el 68% de los casos (115) presentaron un tamaño superior a 5 centímetros; mientras que en el 30% restante (54), el tamaño fue inferior (*fig. IV.1.6*).

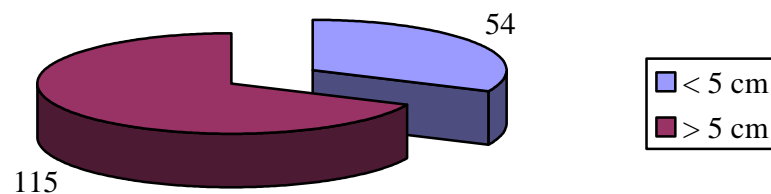


Figura IV.1.6. Tamaño tumoral

Estadio tumoral- La valoración del estadio tumoral de los casos de nuestro estudio se ha realizado según las clasificaciones de TNM, Astler/Collier y Dukes. (fig. IV.1.7). En las tres clasificaciones, el mayor número de casos con 74, 72 y 47 respectivamente, (43% 49% y 47%) presentaron estadio II.

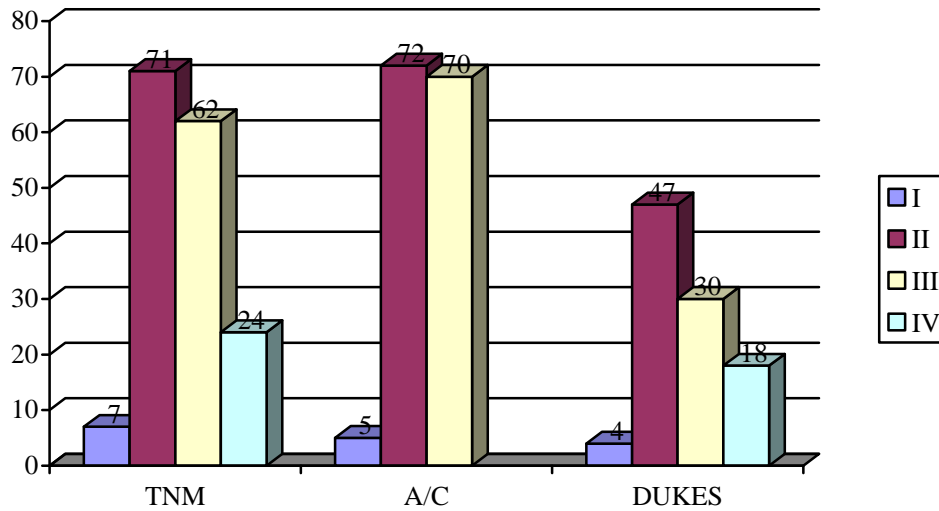


Figura IV.1.7. Estadio TNM, A/C Y DUKES.

Extensión tumoral- En cuanto a la extensión tumoral en el momento del diagnóstico, el 52.5 % (84 casos) presentaron extensión local, el 31.9% (51 casos) presentaron extensión regional, y el 15.6% (25 casos) presentó extensión diseminada al diagnóstico. (fig. IV.1.8).

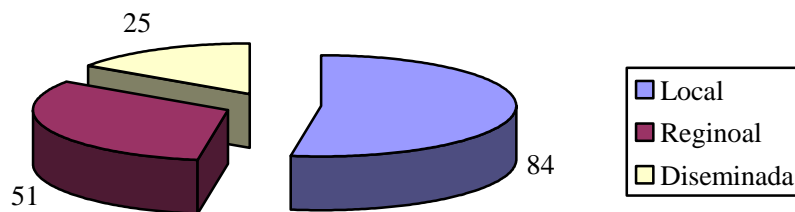


Figura IV.1.8. Extensión tumoral en el momento del diagnóstico.

Afectación ganglionar- El 47.6% de los pacientes no presentó afectación ganglionar en el momento del diagnóstico. El 52.4 % (89) mostraban afectación ganglionar. (*fig. IV.1.9*).



Figura IV.1.9. Afectación ganglionar.

Recidiva tumoral- En nuestro estudio 106 pacientes (63%) no presentaron recidiva de ningún tipo; 63 casos presentaron recidiva tumoral (37%); 44 (26%) de ellas en órganos (no ganglios linfáticos). (*fig. IV.1.10*).

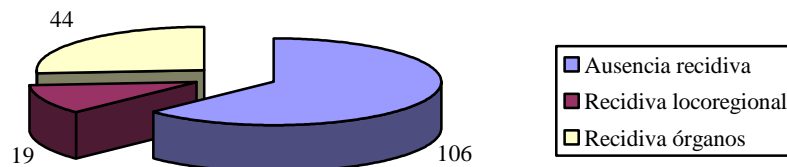


Figura IV.1.10. Recidiva tumoral.

Frente de infiltración- En cuanto al tipo de frente de infiltración, el 65% de los casos (109) mostraron un patrón digitiforme, mientras que el 35% (59) presentaron un frente de infiltración expansivo (*fig. IV.1.11*).

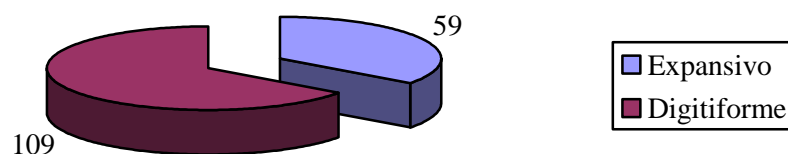


Figura IV.1.11. Frente de infiltración.

Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo- La valoración del grado histológico en cuatro patrones, en el componente superficial y profundo, mostró los siguientes resultados: en el compartimento superficial la mayoría de los casos 60% (102) presentaron patrón 2, mientras que en el compartimento profundo, la mayor parte de los casos (79 y 76), que suponen el 46 y 47% respectivamente, presentan patrones 2 y 3. El patrón 1 fue el menos frecuente en el compartimento profundo, con sólo un 2% (4), frente al 12% (22) de casos de patrón 1 en el compartimento superficial (*fig. IV.1.12*).

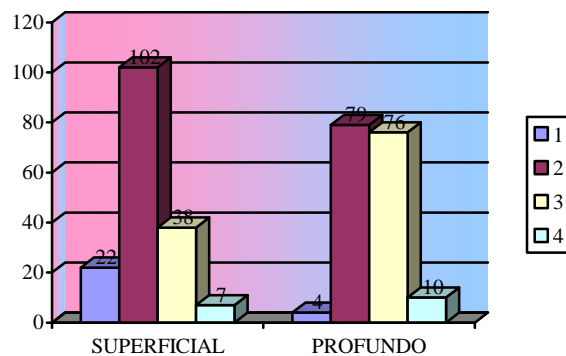


Figura IV.1.12. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo.

Después de obtener los patrones arquitecturales en ambos compartimentos, hemos realizado dos grandes grupos, para facilitar su estudio posterior. Agrupando los patrones 1 y 2 en patrones de bajo grado (pBG), y los patrones 3 y 4 en patrones de alto grado (pAG). En el compartimento superficial el 72% de los casos muestra patrones de bajo grado, mientras que a nivel profundo, los patrones de alto y bajo grado se presentan en igual proporción, con el 50% de los casos. (*fig. IV.1.13*).

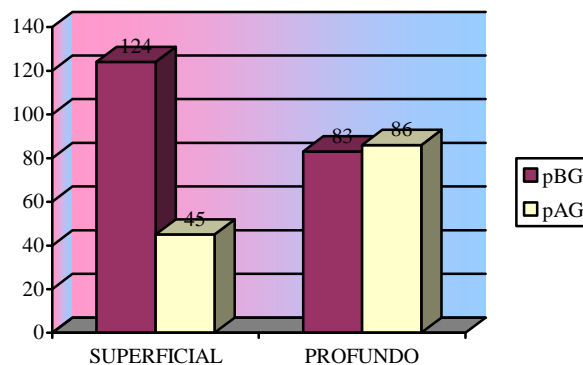


Figura IV.1.13. Patrones arquitecturales de alto y bajo grado en compartimentos superficial y profundo.

Grado sumatorio- Al aplicar la fórmula para obtener el grado sumatorio, $GS = (PS + PP)$, observamos que la mayoría de los casos se agrupan en los valores 4 (59), 5 (48) y 6 (33) (Tabla IV.1.1) (fig. IV.14). El 34.7% de los casos mostró un grado sumatorio valor 4; el segundo más frecuente fue el valor 5 con el 28.2% de los casos; los valores 2, 7 y 8 sólo se evidenciaron en aprox. 2 % de los casos.

GRADO SUMATORIO	N	%
2	4	2,4%
3	16	9,4%
4	59	34,7%
5	48	28,2%
6	33	19,4%
7	4	2,4%
8	5	2,9%
TOTAL	169	100%

Tabla IV.1.1. Grado histológico sumatorio

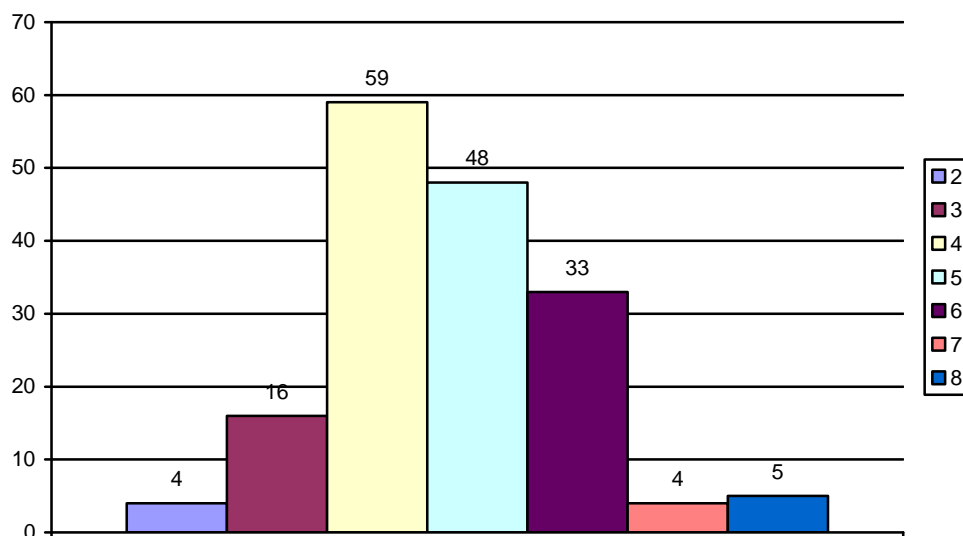


Figura IV.1.14. Grado histológico sumatorio.

Después de obtener el grado sumatorio, y para facilitar su estudio en relación con otros parámetros, hemos realizado una división en dos grandes grupos, denominados: No Alto Grado (NAG), y Alto Grado (AG). El primer grupo reúne a los pacientes con grado sumatorio 2, 3 y 4; el segundo a los pacientes con grado sumatorio 5, 6, 7 y 8. El grupo NAG está compuesto por 79 pacientes (46.7%), y el AG por 90 (53.3). (fig. IV.1.15).

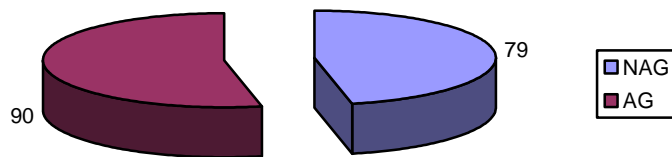


Figura IV.1.15. Distribución de casos en AG y NAG.

Otros aspectos histopatológicos- Además de los datos referidos anteriormente, también hemos recogido otros parámetros histopatológicos, valorados como presencia o ausencia, y son los mostrados en la siguiente tabla (tabla IV.1.2). Se observó desmoplasia en el 24.4% de los casos (41); y necrosis en el 20.2 % (34). La presencia de patrón cribiforme fue evidente en el 14% (23) de los casos, y la inflamación peritumoral y la presencia de mucina sólo se evidenciaron en el 10% de los casos (17).

	SI	NO
DESMOPLASIA	41 (24.4%)	127 (75.6%)
INFLAMACIÓN	17 (10%)	150 (89.8%)
NECROSIS	34 (20.2%)	134 (79.8%)
CRIBIFORME	23 (14%)	145 (86.3%)
MUCINA	17 (10%)	150 (82.2%)

Tabla IV.1.2. Otros hallazgos histopatológicos.

1.3. Parámetros inmunohistoquímicos

p53- La cuantificación de p53 en los compartimentos superficial y profundo mostró valores entre 0 y 98%, y en mucosa normal no se evidenció tinción para p53. El valor medio en el compartimento superficial fue de 33.48 %, mientras que en el compartimento profundo fue de 26.92 %. (*fig. IV.1.16*).

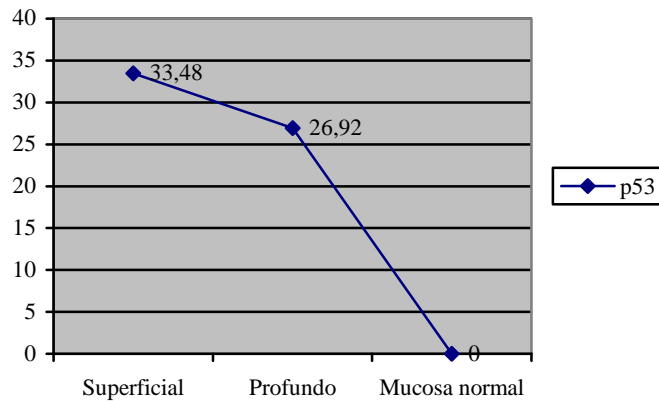


Figura IV.1.16. Valor medio de p53 en distintos compartimentos.

El valor medio de p53 en los distintos grupos de patrones arquitecturales, tanto a nivel superficial como profundo, fueron los siguientes: el grupo de patrón 1 mostró a nivel profundo un valor medio de 1.5, y a nivel superficial 33.4. Los tumores de patrón 2 mostraron un valor medio de 30.09 a nivel profundo y 37.7 a nivel superficial. Los tumores de patrón 3 y 4 mostraron un valor medio de expresión de p53 similar en ambos compartimentos (*fig. IV.1.17*).

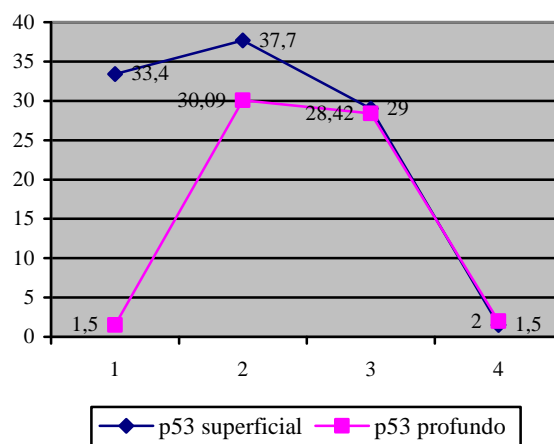


Figura IV.1.17. Valor medio de p53 en los distintos grupos de patrón arquitectural.

La cuantificación de p53 en ambos compartimentos, catalogada como positiva o negativa, mostró los resultados expuestos en la siguiente figura (*fig. IV.1.18*) A nivel superficial, el 64.1% de los casos mostró expresión de p53, mientras que a nivel profundo expresaron p53 el 54.7% de los casos.

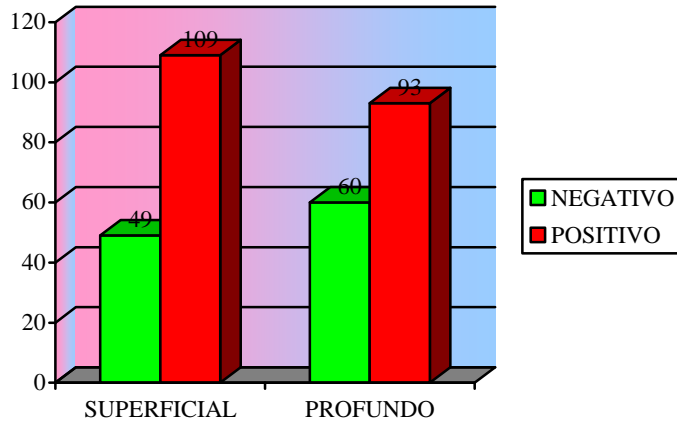


Figura IV.1.18. p53 en compartimentos superficial y profundo.

La cuantificación de p53 en ambos compartimentos, superficial y profundo, catalogada como < 30% o > del 30%, mostró los resultados observados en la (*fig. IV.1.119*). Tanto en el compartimento superficial como profundo, más del 50% (52 y 56%) de los casos mostraron valores < 30%. Y el número de casos con valores > 30% fue superior en el compartimento superficial, con 47%, frente al 43% de casos con valores > 30% en el compartimento profundo.

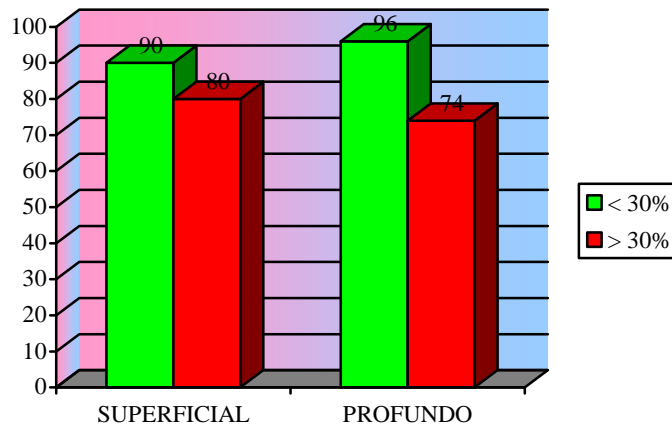


Figura IV.1.19. p53 en compartimentos superficial y profundo.

ki-67- La cuantificación del ki-67 en el compartimento superficial mostró valores entre 0 y 95%, con una media de 24.39%; en el compartimento profundo los valores oscilaron entre 0 y 90% y el valor medio fue ligeramente inferior, 23.9%. En la mucosa normal los valores oscilaron entre 0 y 38%, con un valor medio de 9.6%. (fig. IV.1.20).

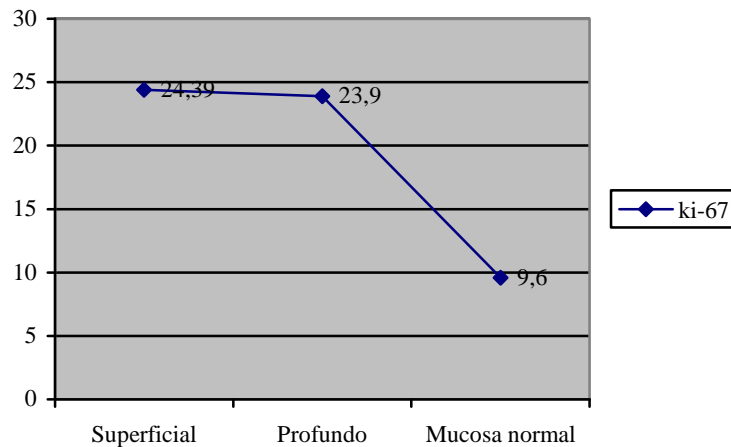


Figura IV.1.20. Valor medio de ki67 en distintos compartimentos.

El valor medio de la cuantificación del ki-67 en los distintos grupos de patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo, son los observados en la siguiente figura. (fig. IV.1.21).

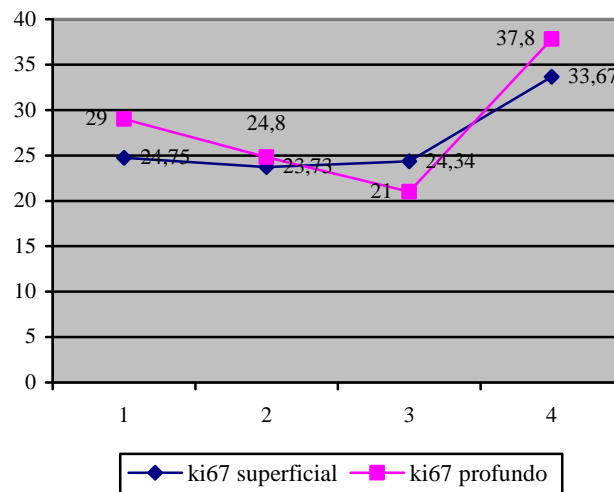


Figura IV.1.21. Valor medio de ki-67 y grupos de patrones arquitecturales.

La cuantificación de ki-57 en ambos componentes, dividida en grupos < 20% y > 20%, mostró los siguientes resultados (fig. IV.1.12). En ambos compartimentos,

más del 50% de los casos presentaron un índice de proliferación > 20%, siendo ligeramente superior esta cifra en el compartimento superficial, con 57% frente a 55%.

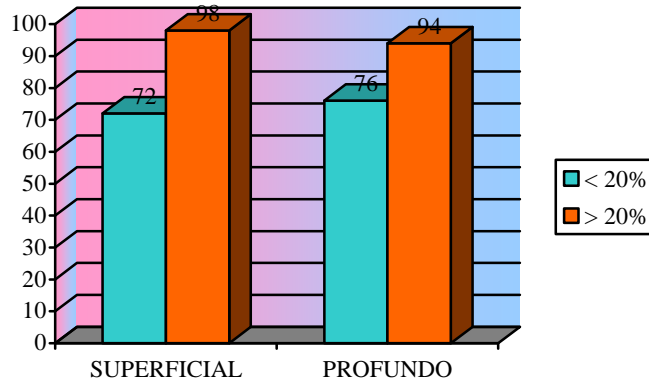


Figura IV.1.22. Ki-67 en compartimentos superficial y profundo.

1.4 Seguimiento

Estado de último control- En el estado de último control (EUC) obtenemos la siguiente distribución de los pacientes: 13 permanecen vivos sin enfermedad (7.8%), 3 (1.8%) vivos con enfermedad, 63 (38%) han fallecido por el tumor, 45 (28%) por otras causas y 42 (25.3%) se han perdido para seguimiento (*fig. IV.1.23*)

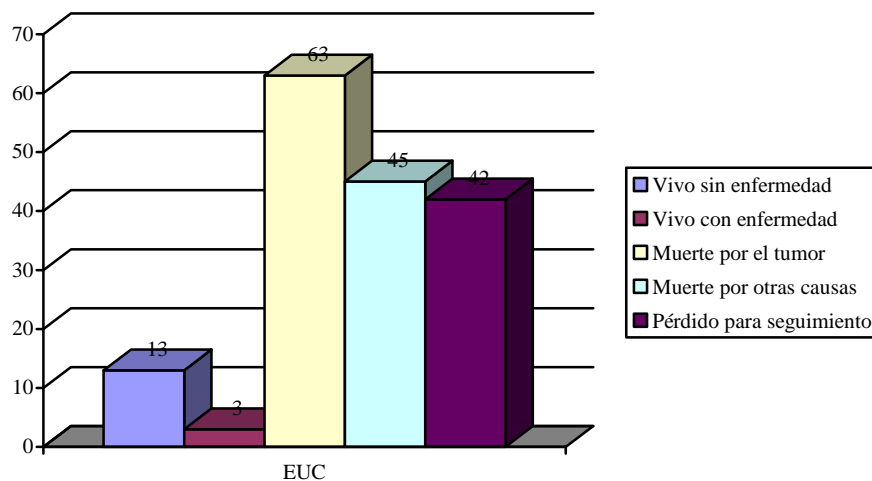


Figura IV.1.23. Estado de último control.

2. ESTUDIO ANALÍTICO

Expresión de patrones arquitecturales por un mismo tumor en distintos compartimentos- Encontramos diferencias significativas en los patrones arquitecturales de un mismo tumor en los distintos compartimentos ($p < 0.000$). Mientras que el 93% de los tumores con patrones de bajo grado a nivel profundo, también presentan patrones de bajo grado a nivel superficial; más de la mitad de los tumores (57.4%) con patrones de alto grado a nivel profundo, muestran patrones de bajo grado a nivel superficial. Es decir, que del total de tumores de bajo grado en compartimento superficial, el 38% muestra patrones de alto grado en el compartimento profundo (*fig. IV.2.1*). En cuanto a la concordancia de patrones en los distintos compartimentos, el 100% de los tumores con patrón 1 a nivel profundo, también expresaron ese patrón a nivel superficial, mientras que el 56% y el 20% de los que expresaron patrones 3 y 4 respectivamente, en nivel profundo, presentaron patrón 2 a nivel superficial (*fig. IV.2.2*).

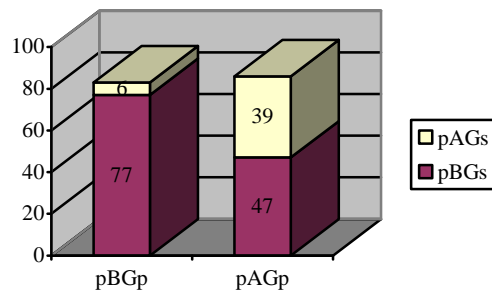


Figura IV.2.1. Patrones arquitecturales de alto y bajo grado en compartimentos S y P.

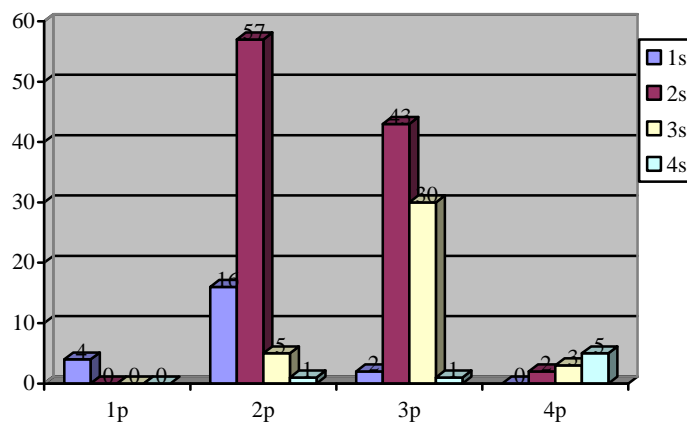


Figura IV.2.2. Concordancia de patrones arquitecturales en compartimentos S y P.

2.1 Patrones arquitecturales y distintas variables

Hemos estudiado la relación entre los distintos patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo, y su relación con distintas variables clínicas e histopatológicas.

Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con los grupos de edad- En los pacientes menores de 50 años, no se observó ningún caso de patrón 4 en ninguno de los compartimentos. Para todos los grupos de edad, el patrón predominante a nivel superficial y profundo fue el 2; excepto en los menores de 50 años en localización profunda, que mostraron en el 59% de los casos patrón 3 (*fig IV.2.3*). En nuestro estudio no encontramos significación estadística para estos parámetros.

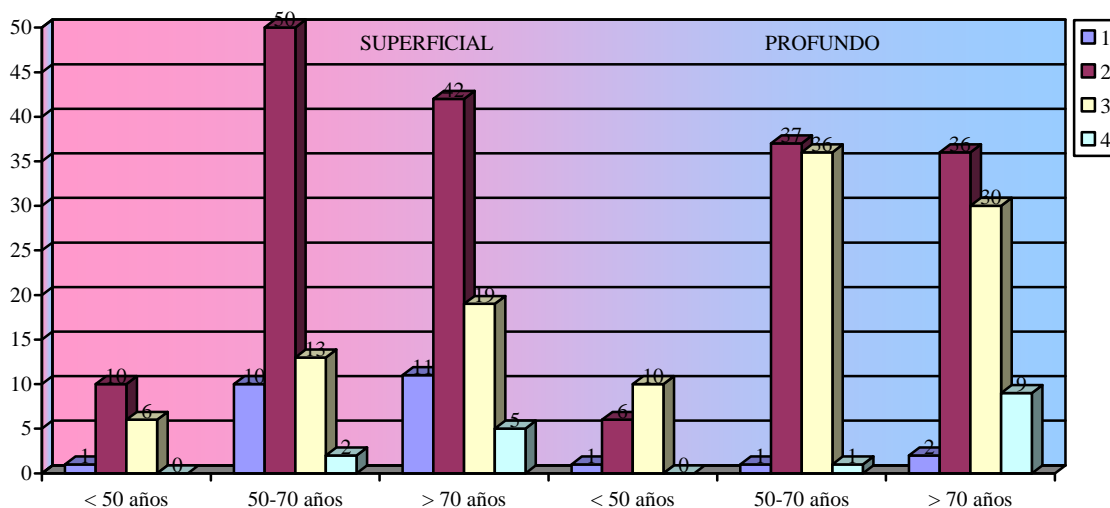


Figura IV.2.3. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con los grupos de edad.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con los grupos de edad- A nivel superficial todos los grupos de edad mostraron predominantemente patrones de bajo grado, pero a nivel profundo los pacientes < 50 años y los mayores de 70 años, mostraron patrones de alto grado en el 59% y 51% de los casos. Los pacientes del grupo de edad intermedio mostraron mayoritariamente patrones de bajo grado en ambos compartimentos (*fig. IV.2.4*).

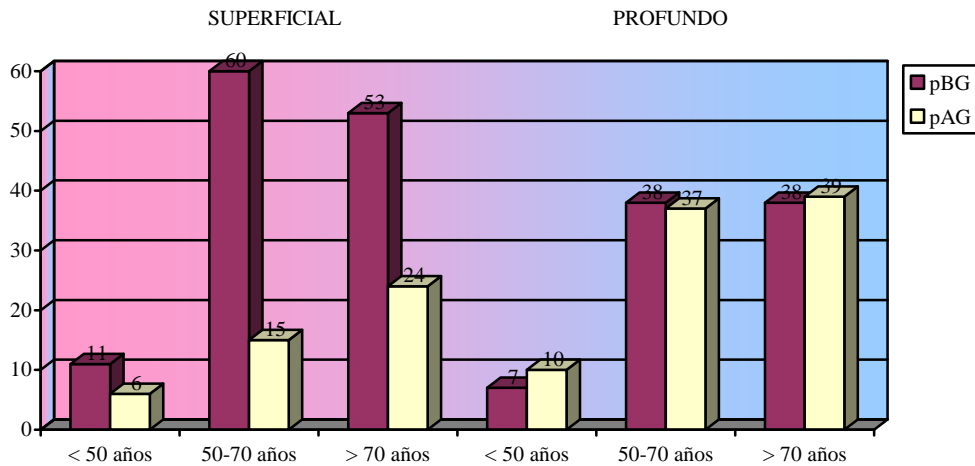


Figura IV.2.4. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con los grupos de edad (n.s.).

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo en relación al sexo- Los pacientes varones muestran tanto a nivel superficial como profundo un predominio claro del patrón 2, suponiendo el 63% y 53% de los casos en localización superficial y profunda. En el grupo de mujeres, el patrón 2 también es el más frecuente en el compartimento superficial, suponiendo el 55% de los casos; pero a nivel profundo el mayor porcentaje de casos (48.3%) muestran valor 3 (fig. IV.2.5). Estos datos no mostraron significación estadística.

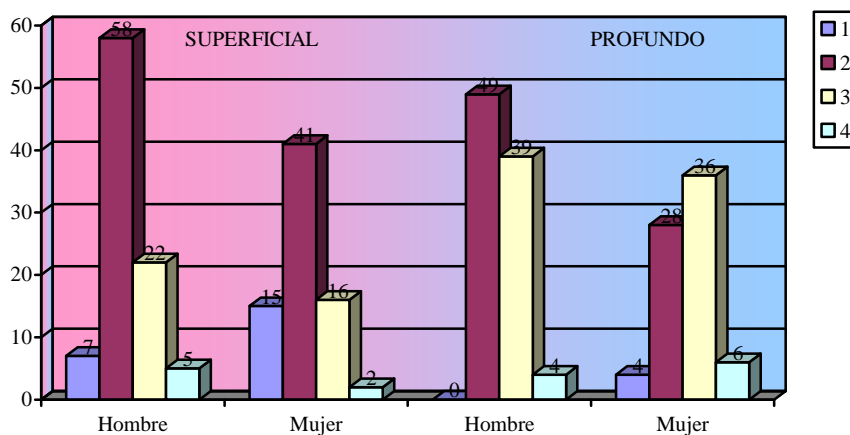


Figura IV.2.5. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo en relación al sexo.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con el sexo- No encontramos diferencias significativas en nuestro estudio entre los patrones de alto o bajo grado, y el sexo de los pacientes. Los pacientes de nuestro estudio, tanto hombres como mujeres, mostraron cifras similares de patrones de alto y bajo grado a nivel superficial, siendo en este compartimento más frecuente los patrones de bajo grado para ambos géneros, en el 70 y 75% de los casos para hombres y mujeres, respectivamente. A nivel profundo observamos un aumento de patrones de alto grado en ambos sexos, siendo más evidente en el grupo de mujeres, donde los patrones de alto grado alcanzan el 57%. (fig. IV.2.6).

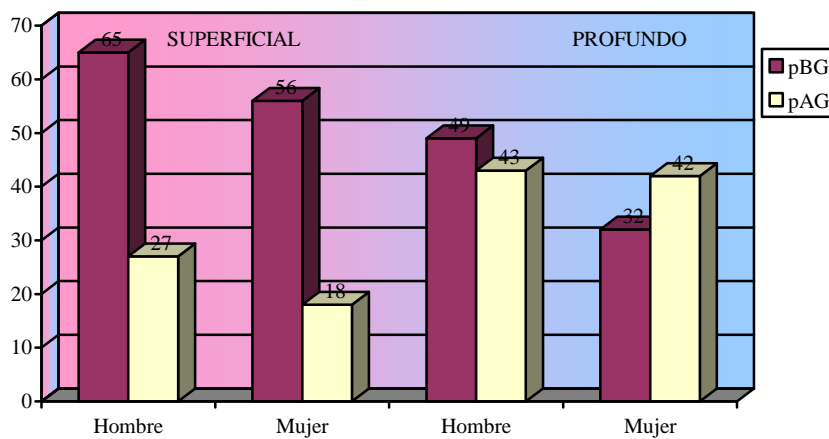


Figura IV.2.6. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con el sexo de los pacientes.

Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la localización anatómica- En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.03$), entre la localización anatómica y los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos. En el compartimento superficial, la mayoría de los casos localizados en colon izquierdo y sigma, mostraron patrón 2, y no se observó en esa localización ningún caso de patrón 4. En ambos compartimentos, superficial y profundo, los tumores localizados en colon transversal presentaron patrones de alto grado, la mayoría de los casos localizados a ese nivel presentaron patrones 3 y 4; mientras que en colon izquierdo-sigma y colon derecho, el patrón 2 fue el más frecuente. En cuanto a las neoplasias localizadas a nivel rectal, observamos que en el compartimento

superficial el patrón predominante, con el 60% de los casos, mostró patrón 2; mientras que en el compartimento profundo, el patrón más frecuente fue el 3, con el 58% de los casos. A nivel superficial el 11% de los tumores localizados en recto mostró patrón 1; en el compartimento profundo este porcentaje fue 0%. (fig. IV.2.7).

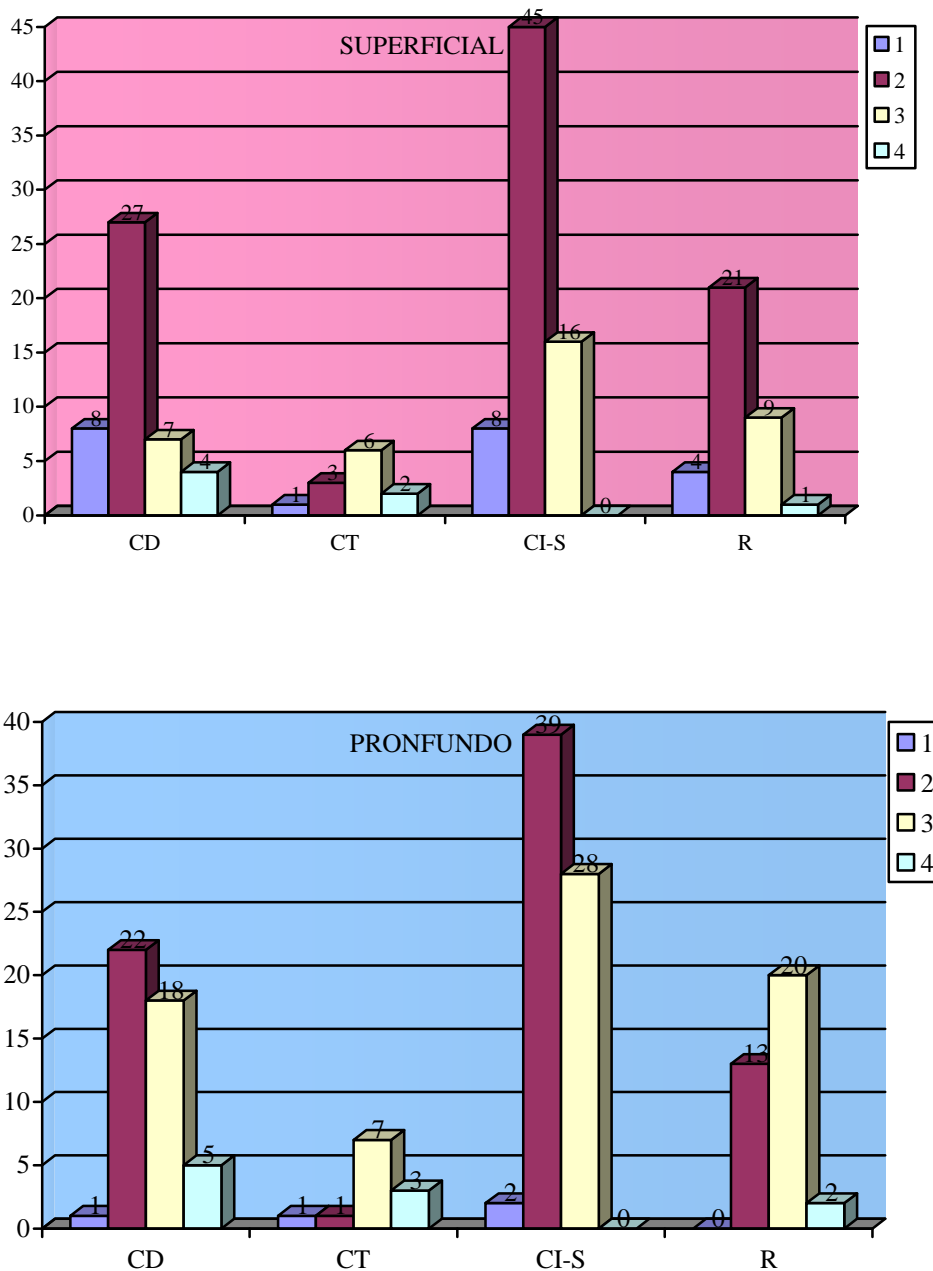


Figura IV.2.7. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la localización anatómica.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la localización anatómica- La significación estadística se mantiene al dividir los patrones en categorías de alto y bajo grado (p0.01). Los tumores de CT presentan mayoritariamente patrones de alto grado tanto a nivel superficial como profundo, en el 63 y 87% de los casos respectivamente. Los tumores localizados en CI-S presentaron patrones de bajo grado, tanto a nivel superficial como profundo, en el 76 y 60% de los casos. Los tumores localizados en recto mostraron patrones de alto grado en el 28% a nivel superficial, y en el 63% a nivel profundo. (fig. IV.2.8).

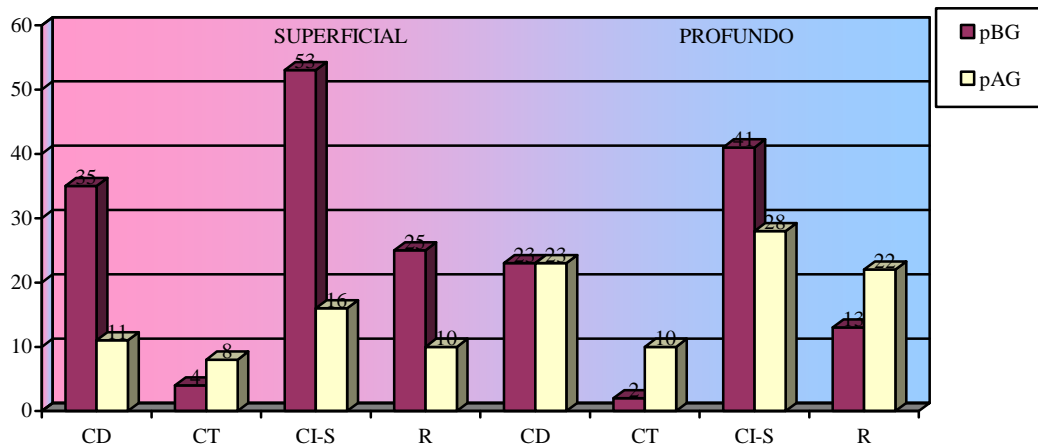


Figura IV.2.8. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con la localización anatómica.

Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el tipo histológico- Dentro del grupo de tumores de tipo intestinal, en el compartimento superficial, más del 50% (85 casos) mostraron patrón 2. En el grupo de los mucinosos el patrón 2 también fue el más frecuente, con 12 casos. En el compartimento profundo, los de tipo intestinal presentan mayor número de casos de patrón 3, a diferencia de lo que ocurría en el compartimento superficial; y en los de tipo mucinoso se observa una distribución de patrones muy similar a la del compartimento superficial, también con aumento de casos con patrón 3. (fig. IV.2.9).

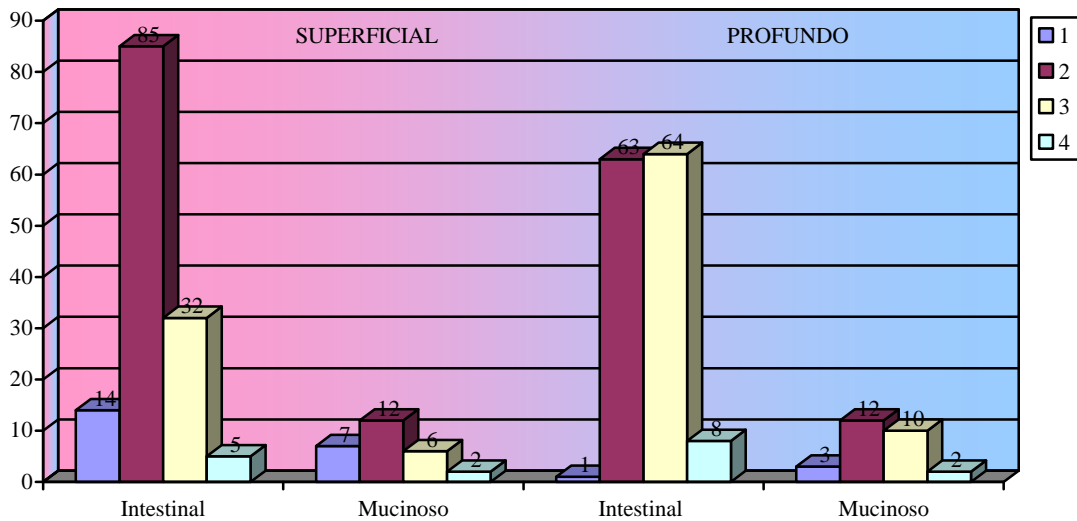


Figura IV.2.9. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el tipo histológico.

Patrones en dos categorías y su relación con el tipo histológico- Los tumores de tipo intestinal presentaron en el compartimento superficial patrones de bajo grado en el 73% de los casos, mientras que a nivel profundo, este mismo tipo de tumor mostró patrones de alto grado en el 52% de los casos. Los tumores de tipo mucinoso mostraron tanto a nivel superficial como profundo, mayoritariamente patrones de bajo grado. (fig. IV.2.10).

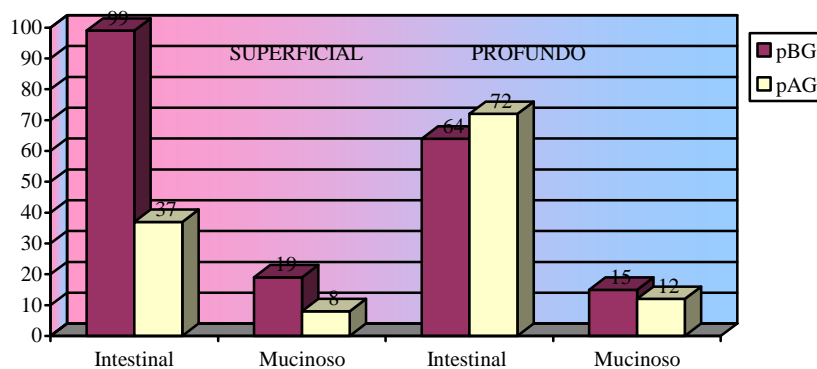


Figura IV.2.10. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con el tipo histológico.

Patrones en compartimento superficial profundo y su relación con el grado histológico histórico- Al comparar nuestros patrones arquitecturales con el grado histológico de tres categorías asignado en el momento del diagnóstico, observamos que el 100% de los casos diagnosticados como pobremente diferenciados mostraron a nivel superficial patrón 4; a nivel profundo este porcentaje fue del 66.7%. El grupo de tumores con grado histológico bien diferenciado mostró patrón 2 en el 70% de los casos a nivel superficial y en el 52% de los casos a nivel profundo. El grupo de pacientes con carcinomas moderadamente diferenciados mostraron a nivel superficial patrón 2 en el 63% de los casos y patrón 3 en el 27%. A nivel profundo, estos mismos pacientes mostraron patrón 3 en el 52% de los casos. (fig. IV.2.11).

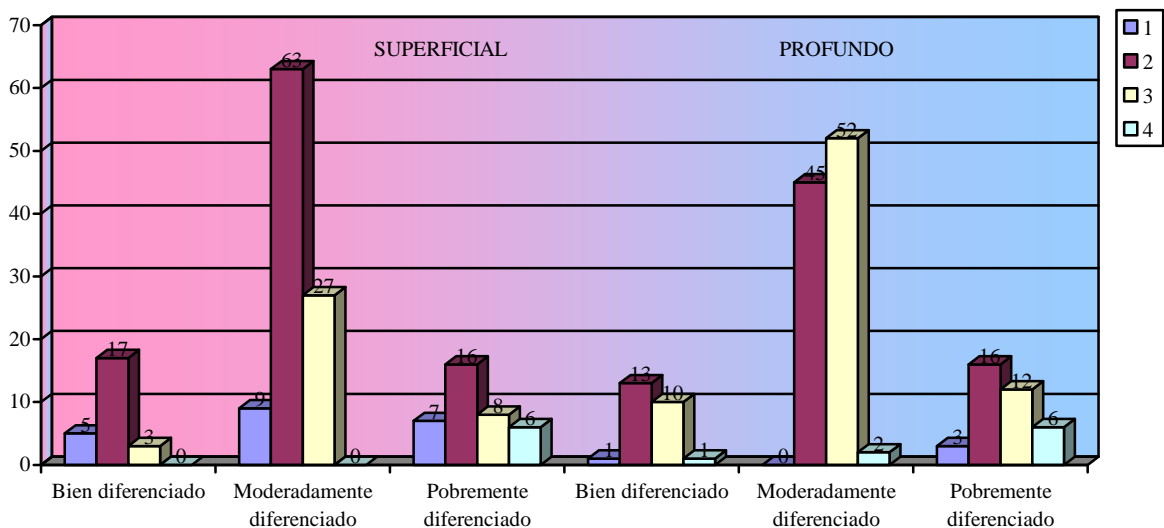


Figura IV.2.11. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el grado histológico.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con el tamaño tumoral- En nuestro estudio encontramos diferencias significativas ($p < 0.02$) entre el tamaño tumoral y los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos. Los tumores > 5 cm mostraron patrones menos diferenciados que los tumores < 5 cm. No se evidenció ningún tumor < 5 cm con patrón 4 en compartimento superficial. En dicho compartimento el patrón predominante fue el patrón 2 para ambos grupos de tamaño tumoral. En el

compartimento profundo, los tumores > 5 cm mostraron patrones menos diferenciados que los tumores < 5 cm. Dentro de los tumores de menor tamaño, el mayor porcentaje de casos (55%) mostró patrón 2; mientras que en el grupo de tumores de > 5 cm, el 47.8 %, presentó patrón 3. (fig. IV.2.12).

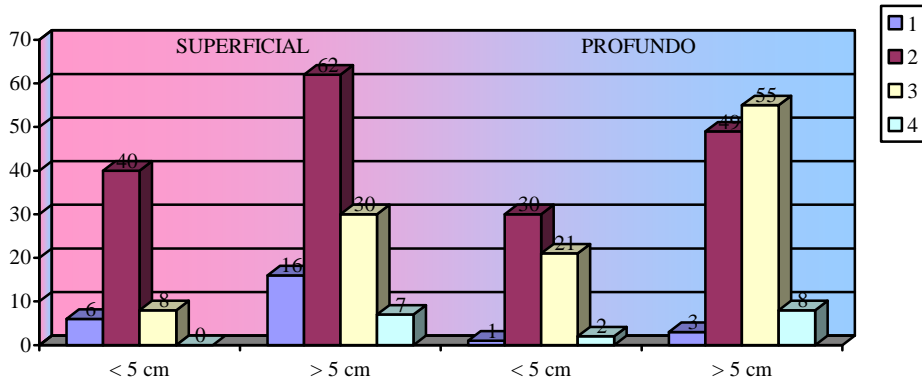


Figura IV.2.12. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el tamaño tumoral.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con el tamaño tumoral- En nuestro estudio encontramos significación estadística ($p < 0.01$) entre los patrones arquitecturales en dos categorías y el tamaño tumoral. Los tumores menores de 5 cm mostraron patrones de bajo grado en el 85% de los casos a nivel superficial, y en el 56% a nivel profundo. Los tumores con patrones de alto grado presentaron en el 80% de los casos un tamaño superior a 5 cm, a nivel superficial, y en el 73% de los casos a nivel profundo. (fig. IV.2.13).

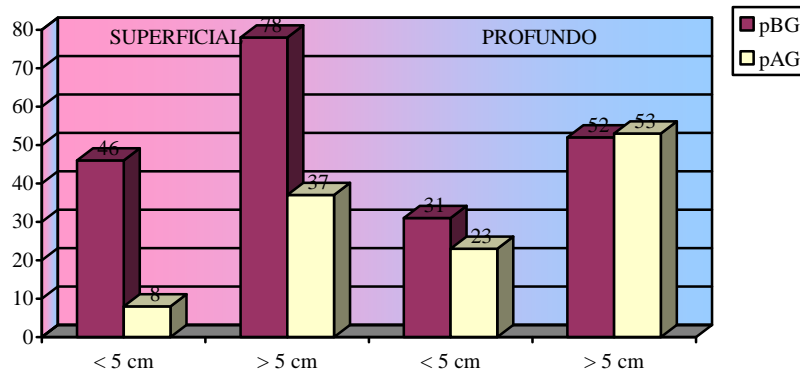


Figura IV.2.13. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con el tamaño tumoral.

Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el estadio tumoral- No encontramos diferencias estadísticamente significativas para estos parámetros. En el compartimento superficial el patrón 2 fue, con diferencia, el predominante en todos los grupos de estadio tumoral. En el compartimento profundo, los distintos estadios muestran cifras similares de patrón 2 y 3; y el patrón predominante en el grupo estadio III fue el patrón 3. (*fig. IV.2.14*).

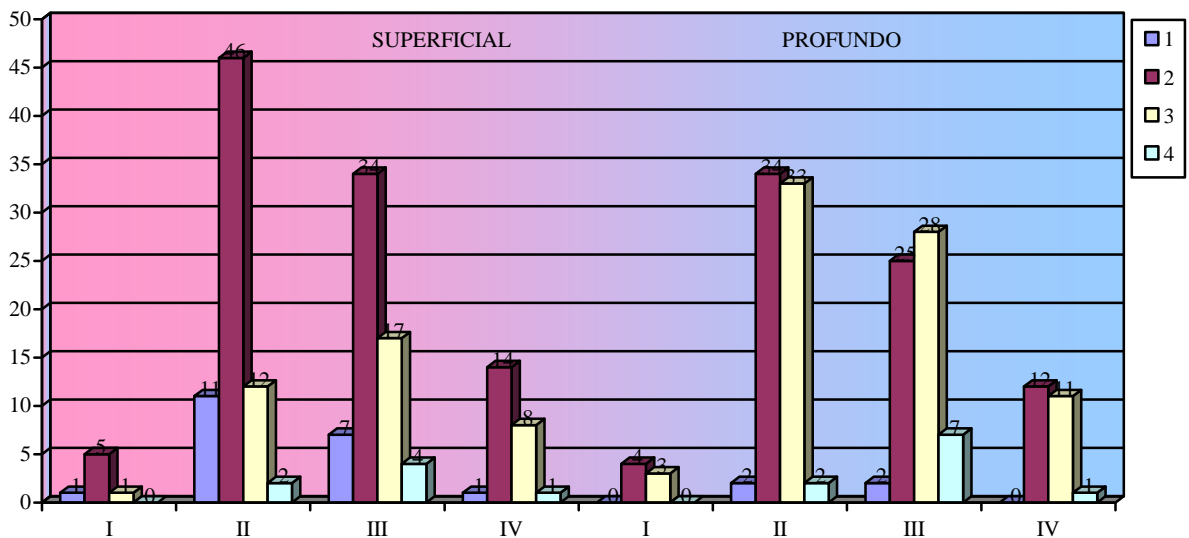


Figura IV.2.14. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el estadio tumoral.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con el estadio tumoral- Los pacientes con estadio I, muestran patrones de bajo grado a nivel superficial en el 86% de los casos, y a nivel profundo en el 57%. El 80% de los tumores en estadio II presentan patrones de bajo grado a nivel superficial, pero a nivel profundo sólo el 50% de los tumores en dicho estadio presentan patrones de bajo grado. Los tumores en estadio III muestran a nivel profundo patrones de alto grado en el 56%. No encontramos significación estadística para estos datos (*fig. IV.2 15*).

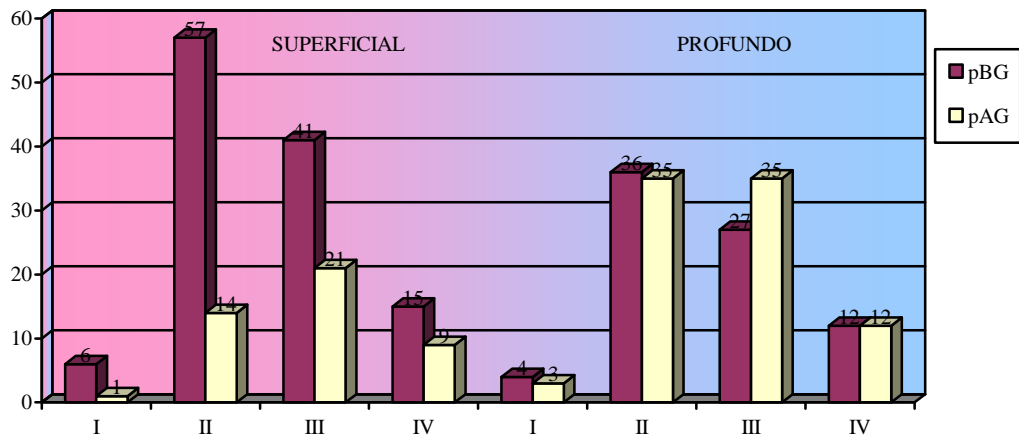


Figura IV.2.15. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con el estadio tumoral.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la extensión tumoral- En el grupo de pacientes con extensión local se observa en el compartimento superficial que el 66% de los casos muestran patrón 2; mientras que a nivel profundo, estos pacientes con extensión local muestran el mismo número de casos patrón 2 y patrón 3. En el grupo de pacientes con enfermedad diseminada, en el compartimento superficial el 48% muestra patrón 2 y el 40% patrón 3; mientras que a nivel profundo los pacientes con enfermedad diseminada muestran en el 52% de los casos patrón 3. (fig. IV.2.16).

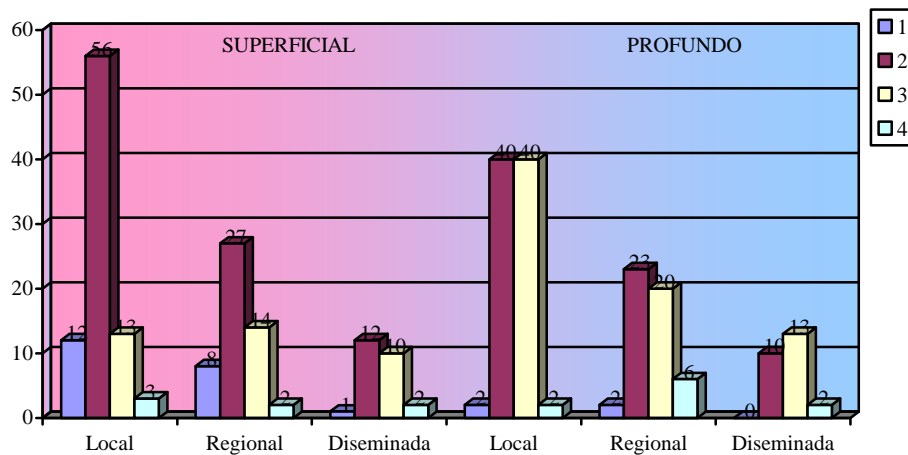


Figura IV.2.16. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la extensión tumoral.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la extensión tumoral- Sí obtuvimos diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los patrones arquitecturales de alto o bajo grado, y su relación con la extensión tumoral. A nivel superficial los pacientes con enfermedad local mostraron patrones de bajo grado en el 81% de los casos, y los pacientes con enfermedad diseminada presentaron patrones de bajo grado en el 52%. En el compartimento profundo los pacientes con enfermedad diseminada presentaron patrones de alto grado en el 60% de los casos. (fig. IV.2.17).

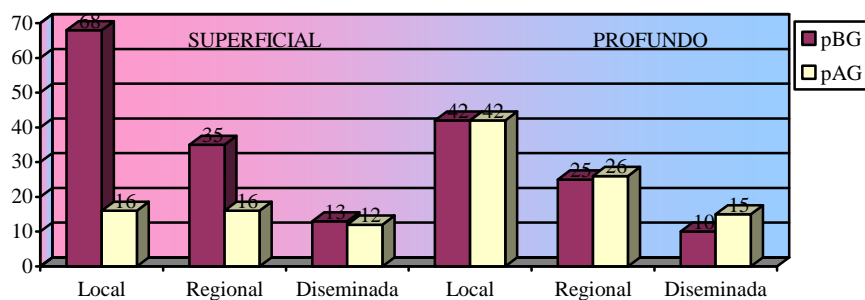


Figura IV.2.17. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con la extensión tumoral.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la afectación ganglionar- La presencia de ganglios positivos fue más frecuente en los tumores con patrones de alto grado, evidenciándose en el 62% de los casos de alto grado a nivel superficial, y en el 54% de los tumores de alto grado a nivel profundo. Estos datos no mostraron significación estadística. (fig. IV.2.18).

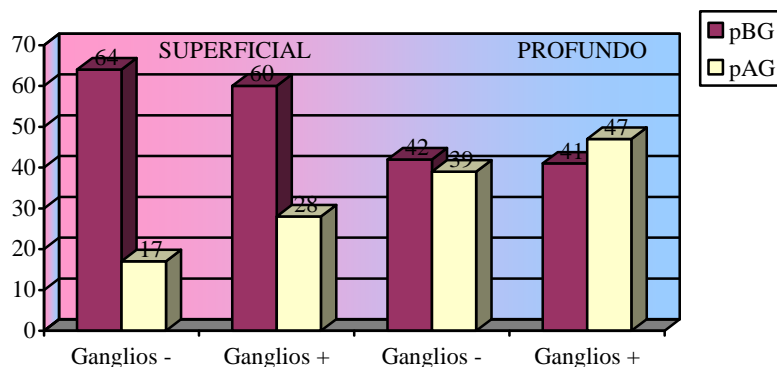


Figura IV.2.18. Patrones arquitecturales en dos categorías y afectación ganglionar.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de recidiva- En el grupo de pacientes que no muestran recidivas se observa que tanto en el compartimento superficial como profundo muestran predominantemente patrón 2. Más de la mitad de los pacientes (58%) con ausencia de recidiva muestran patrón 2 en el superficial. En el grupo de pacientes que recidivan en el compartimento superficial el patrón 2 también es el más frecuente, con el 60% de los casos. En el grupo de pacientes que presentan recidiva se observa que en el compartimento profundo muestran patrón 3 con mayor frecuencia que patrón 2. En el compartimento profundo el grupo de pacientes con ausencia de recidiva muestra predominantemente patrón 2 en el 50% de los casos; en esta misma localización el grupo de pacientes que recidivan muestran predominantemente patrón 3 con un 52.4 % de los casos. (fig. IV.2.19).

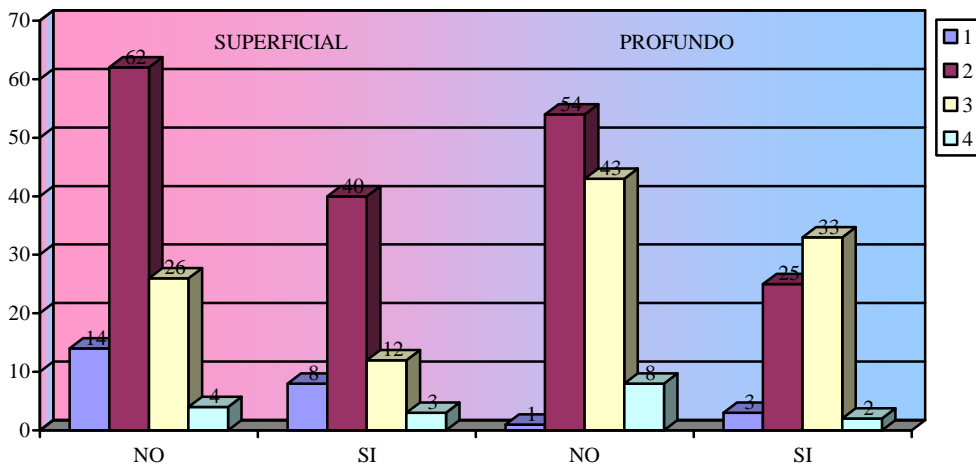


Figura IV.2.19. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con presencia o ausencia de recidiva.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia o ausencia de recidiva- No encontramos diferencias significativas entre patrones de alto o bajo grado y su relación con la presencia de recidivas. A nivel superficial no observamos diferencias de patrones arquitecturales entre los pacientes que recidivan y los que no, en ambos grupos la proporción de patrones de alto grado fue del 23 y 28% respectivamente. A nivel profundo los pacientes que sí recidivan mostraron predominantemente patrones de alto grado, en el 55.6% de los casos. (fig. IV.2.20)

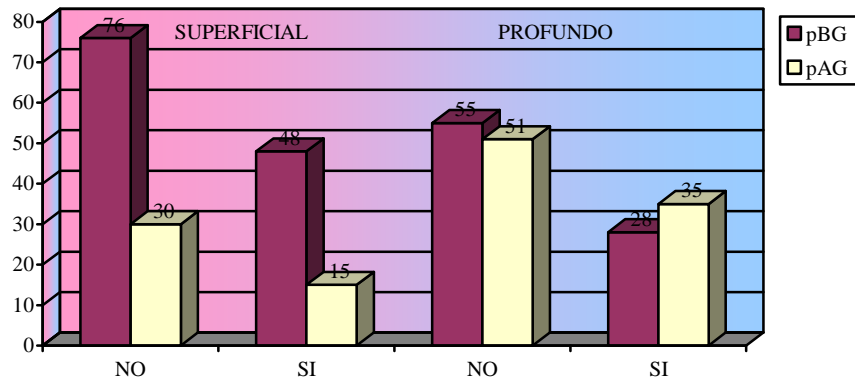


Figura IV.2.20. Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de recidiva.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con recidiva en órganos- El grupo de pacientes que presentan recidiva en órganos muestra en el compartimento superficial mayoritariamente patrón 2 (60%); éstos mismos pacientes muestran en el compartimento profundo mayoritariamente patrón 3 (59%). (fig. IV.2.21). N/S.

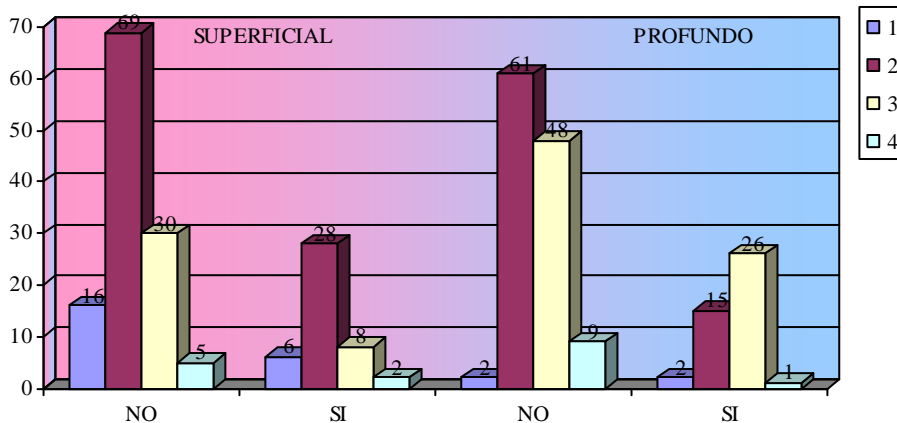


Figura IV.2.21. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de recidiva en órganos.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con recidiva en órganos- El grupo de pacientes que presenta recidiva en órganos, muestra a nivel superficial patrones de alto grado sólo en el 22% de los casos, mientras que a

nivel profundo, la presencia de patrones de alto grado en los pacientes con recidiva es del 61%. (fig. IV.2.22). N/S.

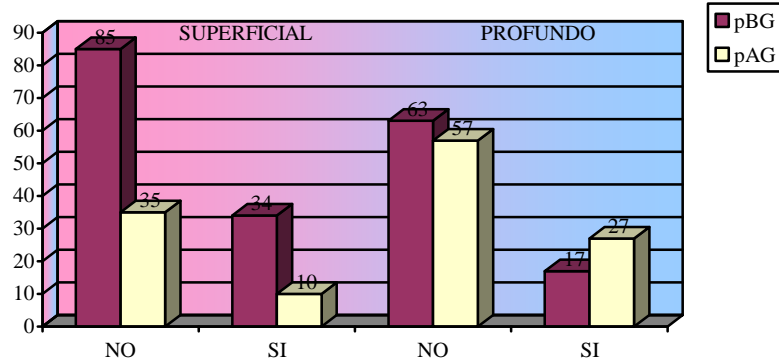


Figura IV.2.22. Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de recidiva.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con el frente de infiltración- Al comparar el patrón en el compartimento superficial con el frente de infiltración, nos encontramos que los tumores con frente de infiltración digitiforme presentan más frecuentemente patrones 2 y 3. En el compartimento profundo la mayoría de los tumores de tipo digitiforme presentaron patrón 3. (fig. IV.2.23). En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre estos parámetros.

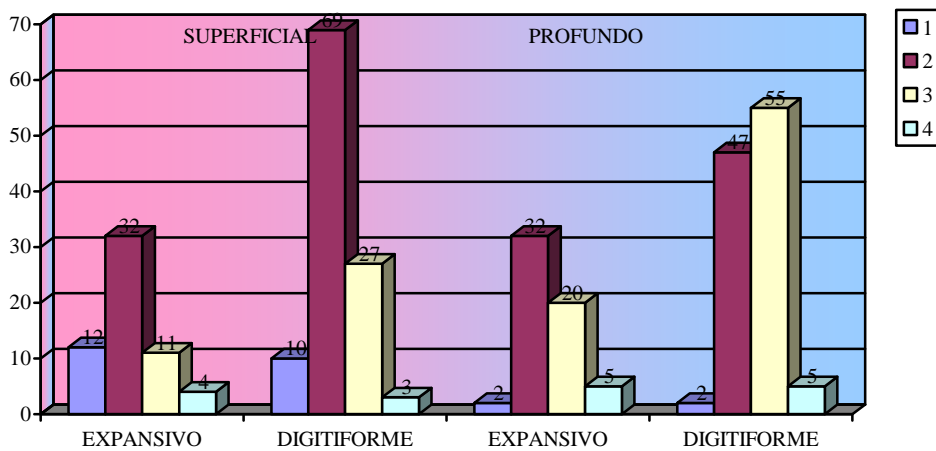


Figura IV.2.23. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con el tipo de frente de infiltración.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con el frente de infiltración- Los tumores de frente expansivo mostraron, tanto a nivel superficial como profundo, patrones de bajo grado en el 75 y 58% de los casos respectivamente. Los tumores de tipo digitiforme presentaron mayor proporción de patrones de alto grado, en el 28% a nivel superficial, y en el 55% de los casos a nivel profundo (*fig. IV.2.24*). N/S.

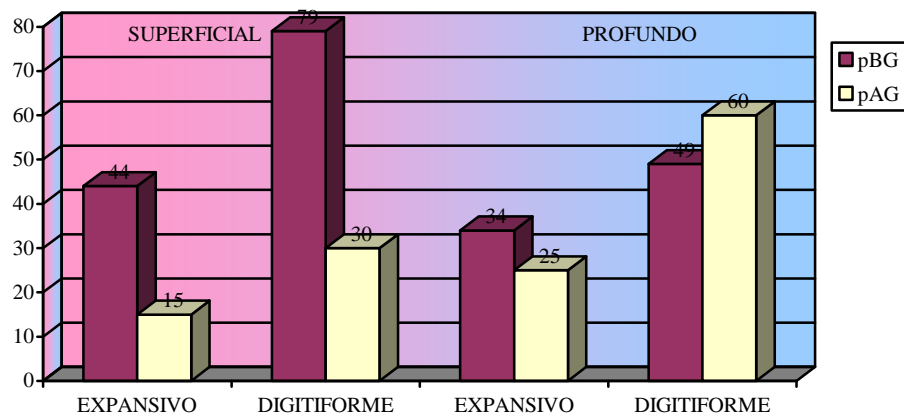


Figura IV.2.24. Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con el tipo de frente de infiltración.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de desmoplasia- En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.04$) entre el patrón superficial y la presencia de desmoplasia, que fue proporcionalmente más frecuente, en casi la mitad de los casos, en el grupo de patrón 3. En el compartimento profundo no se evidenció presencia de desmoplasia en el grupo de patrón 1, y el mayor porcentaje de casos con desmoplasia se encontró en el grupo de patrón 3. (*fig. IV.2.25*).

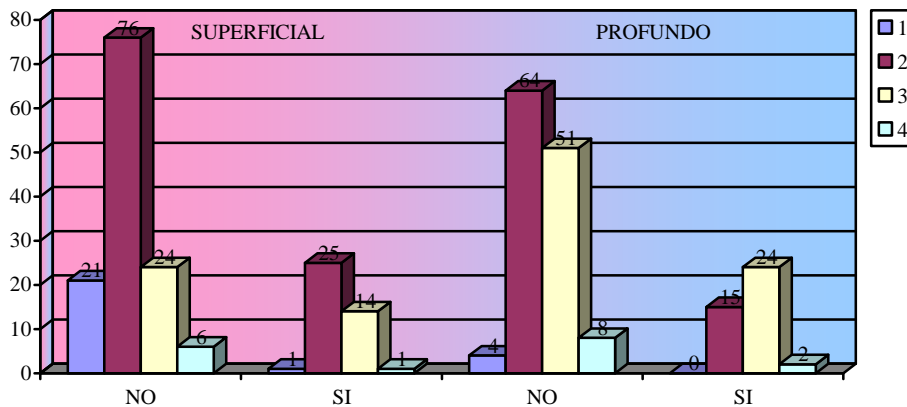
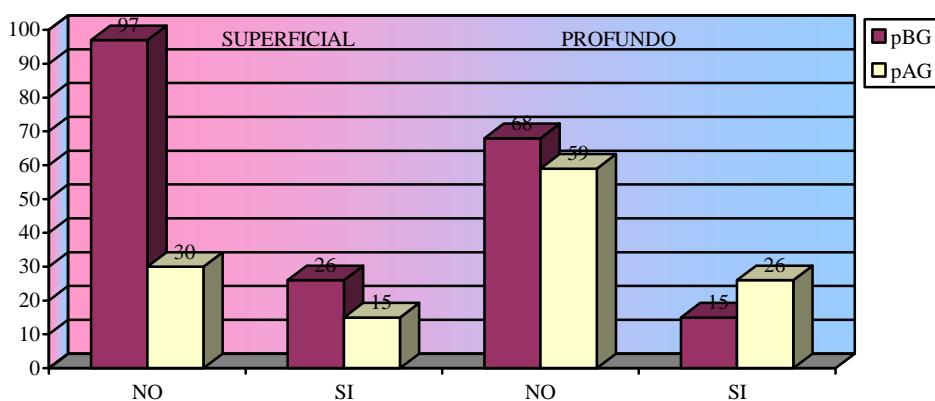


Figura IV.2.25. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de desmoplasia.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia o ausencia de desmoplasia- Obtuvimos diferencias significativas entre la presencia de desmoplasia y los patrones arquitecturales divididos en dos categorías ($p < 0.04$). La presencia de desmoplasia fue significativamente más frecuente en los patrones de alto grado, presentándose en el 30% de los casos, tanto a nivel superficial como profundo. Del total de casos con desmoplasia el 63% presentó patrones de alto grado en el compartimento profundo. (fig. IV.2.26).



IV.2.26. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con la presencia de desmoplasia.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de inflamación peritumoral- El mayor número de casos con inflamación peritumoral se observó en el grupo de patrón 2. No se observó inflamación peritumoral en ninguno de los casos del grupo con patrón 4. A nivel profundo, al igual que en el compartimento superficial no se evidenció ningún caso de inflamación peritumoral en el grupo de patrón 4, y en esta ocasión tampoco en el grupo de patrón 1. El mayor número de casos con inflamación peritumoral se evidenció en el grupo de patrón 3. (fig. IV.2.27). N/S.

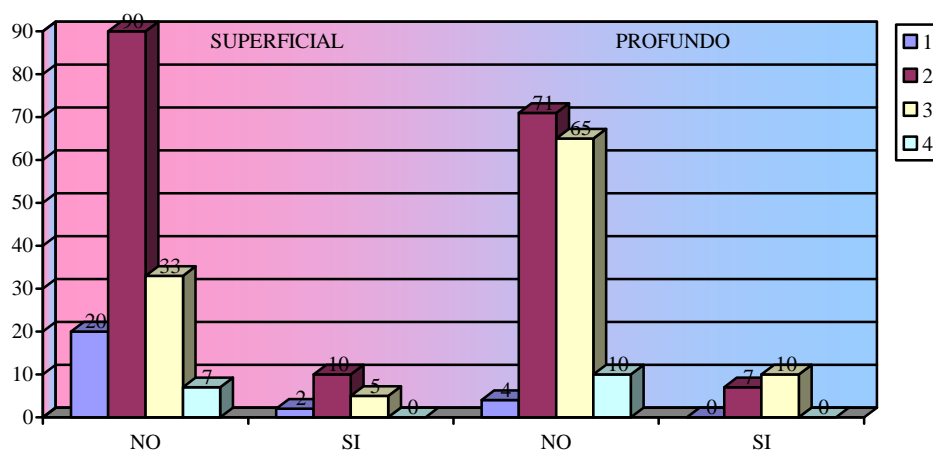


Figura IV.2.27. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de infiltrado inflamatorio peritumoral.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia o ausencia de inflamación peritumoral- El reducido número de casos en el que se evidenció inflamación peritumoral mostró a nivel superficial patrones de bajo grado en el 70% de los casos. A nivel profundo, la presencia de inflamación tumoral mostró patrones de alto grado en el 59% de los casos. (fig. IV.2.28).

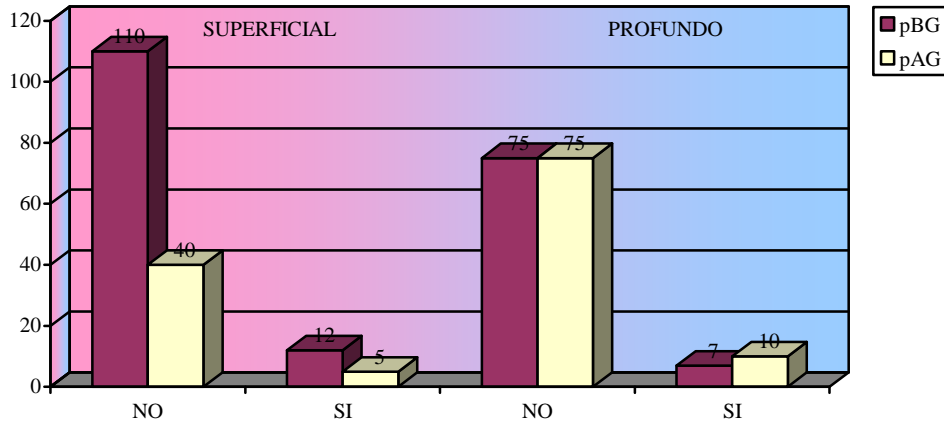


Figura IV.2.28. Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de inflamación peritumoral.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de necrosis- En el compartimento superficial la presencia de necrosis se observó en todos los patrones, siendo discretamente más frecuente en el patrón 3. En el compartimento profundo, no se evidenció presencia de necrosis en ninguno de los casos de patrón 1, y fue proporcionalmente más frecuente en los grupos de patrón 3 y 4 (fig. IV.2.29). N/S.

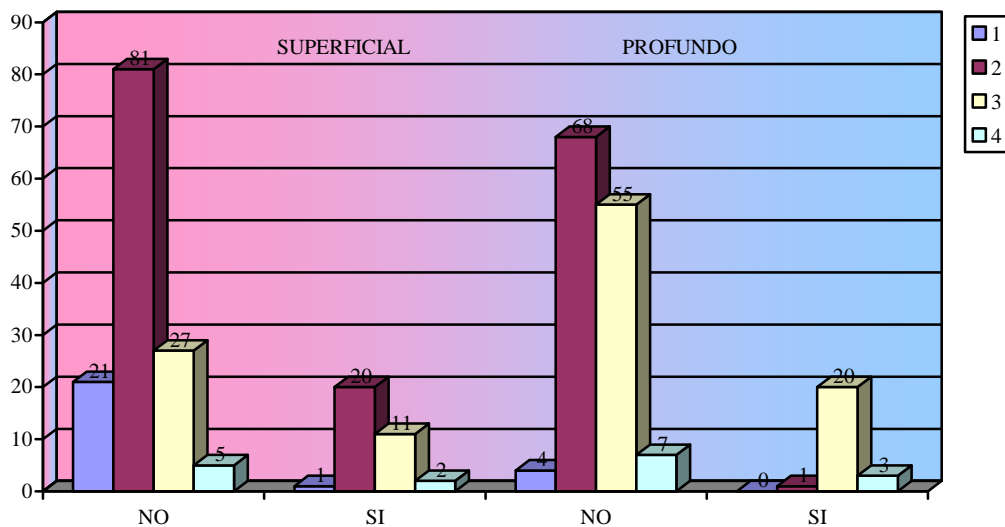


Figura IV.2.29. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia o ausencia de necrosis.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de necrosis- La presencia de necrosis se evidenció en el 17% de los tumores de bajo grado, y en el 29% de los tumores de alto grado a nivel superficial. A nivel profundo el 68% de los tumores en los que se evidenció necrosis presentaban patrones de alto grado (*fig. IV.2.30*). Estos datos mostraron significación estadística ($p < 0.02$).

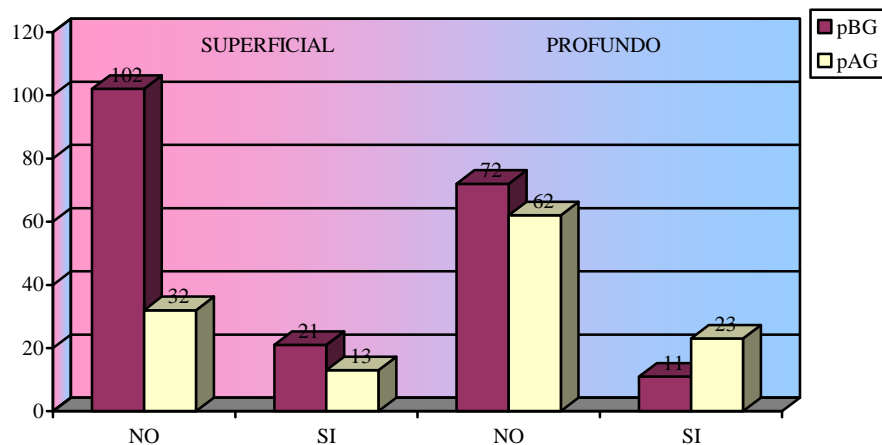


Figura IV.2.30. Patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, y su relación con la presencia de necrosis.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de patrón cribiforme- En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre la presencia de patrón cribiforme y los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos. El reducido grupo de pacientes con patrón cribiforme (23), mostró a nivel superficial mayor proporción de casos con patrón 2, y cifras similares de patrón 2 y 3 en localización profunda. No se evidenció ningún caso de patrón 4 con morfología cribiforme, en ninguno de los compartimentos, ya que la presencia de ésta morfología está excluida de la definición de casos con dicho patrón. (*fig. IV.2.31*).

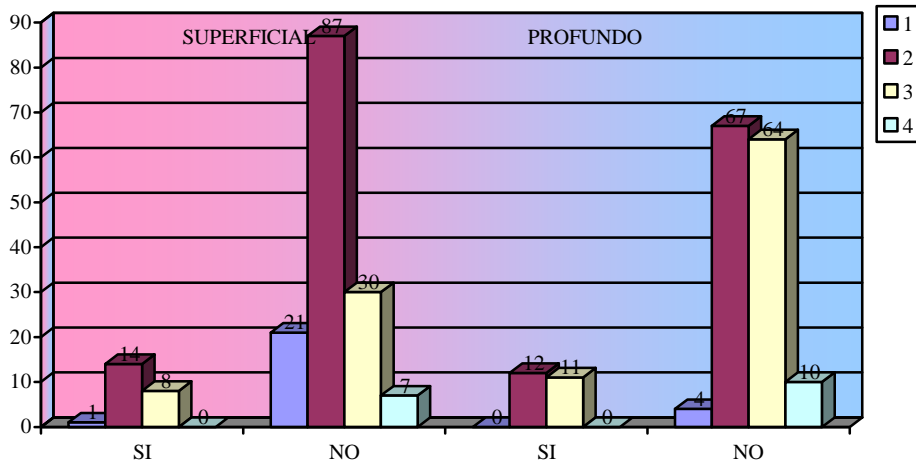


Figura IV.2.31. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de patrón cribiforme.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de patrón cribiforme- Tampoco obtuvimos significación estadística entre la presencia de patrón cribiforme y los patrones de alto o bajo grado. Se evidenció patrón cribiforme a nivel superficial en el 12% de los tumores de bajo grado, y en el 18% de los tumores de alto grado, y proporciones similares se observaron a nivel profundo. En ambos compartimentos, la mayoría de los tumores con patrón cribiforme presentaron patrones de bajo grado, en el 65% a nivel superficial, y 52% a nivel profundo (fig. IV.2.32).

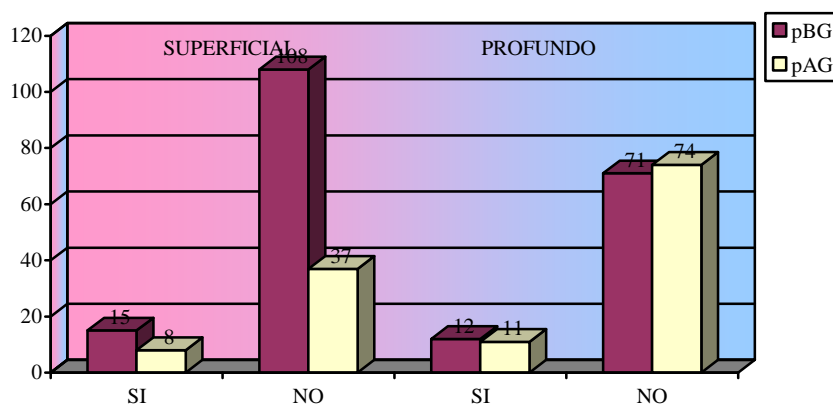


Figura IV.2.32. Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de patrón cribiforme.

Patrones arquitecturales en los compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de mucina- El 70% de los casos con presencia de mucina mostraron en el compartimento superficial patrones de bajo grado (1 y 2); a nivel profundo, la presencia de mucina también se observó con más frecuencia en patrones de bajo grado, aunque en una proporción ligeramente inferior a la observada en el compartimento superficial, en el 55% (*fig. IV.2.33*).

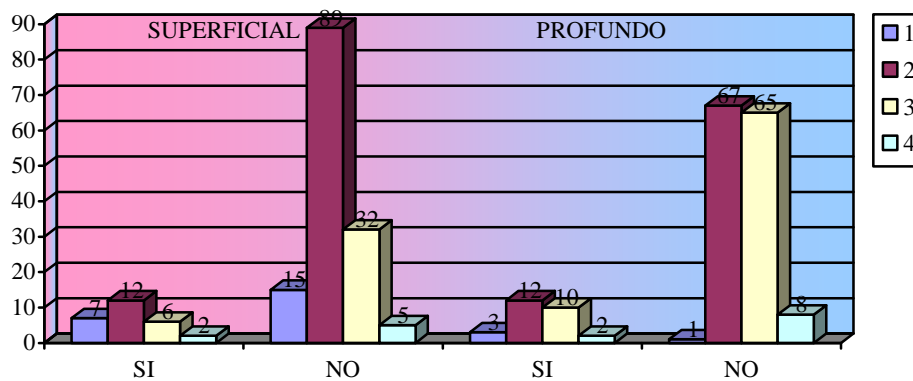


Figura IV.2.33. Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la presencia de mucina.

Patrones arquitecturales en dos categorías y su relación con la presencia de mucina- Se evidenció mucina en el 15% de los tumores de bajo grado a nivel superficial, y en el 18% de los tumores de alto grado. A nivel superficial más del 70% de los tumores con presencia de mucina mostraron patrones de bajo grado; a nivel profundo este porcentaje fue del 55% (*fig. IV.2.34*).

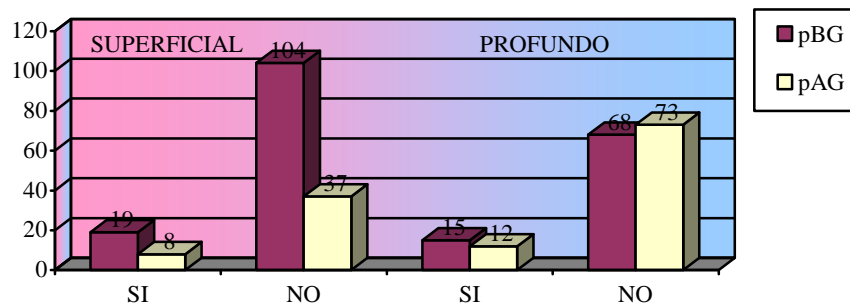


Figura IV.2.34. Patrones arquitecturales en dos categorías y presencia de mucina.

2.2 Relación del grado sumatorio con distintos parámetros

Tras obtener el valor del grado sumatorio para cada caso, y para facilitar su asociación con distintas variables, hemos realizado dos grandes grupos, de alto y de no alto grado, y los hemos comparado con distintas variables clínicas e histopatológicas.

Grado sumatorio y grado histológico histórico- Al comparar los valores obtenidos en nuestro grado sumatorio, con el grado histológico que se le asignó a cada neoplasia en el momento del diagnóstico, observamos que curiosamente, el 75% de los casos con grado sumatorio 2 fueron catalogados como pobremente diferenciados. La mayoría de las neoplasias de los grupos con grado sumatorio 3, 4, 5 y 6, fueron etiquetados como moderadamente diferenciado en el 53%, 65%, 63% y 75% de los casos, respectivamente. El 75% de los tumores del grado sumatorio 7 habían sido catalogados como pobremente diferenciados, y el 100% de los tumores con grado sumatorio 8 también correspondían a esa categoría. (*fig. IV.2.35*).

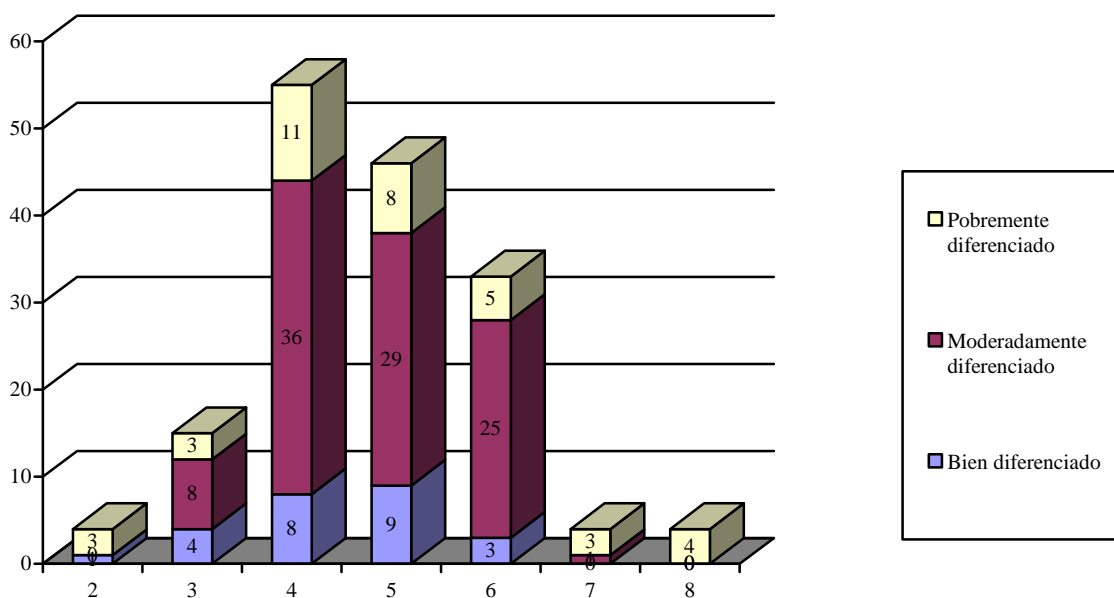


Figura IV.2.35. Grado sumatorio y grado histológico histórico.

Grado sumatorio y grupos de edad- No obtuvimos diferencias significativas para estos parámetros, pero al comparar nuestro grado sumatorio con los grupos

de edad, observamos que presentan mayor proporción de AG los grupos de edad < 50 y mayores de 70 (67 y 53%), que el grupo de edad intermedia; siendo más evidente la diferencia en el grupo < de 50 años, en el que el número de casos AG es casi el doble que los casos NAG (*fig. IV.2.36*).

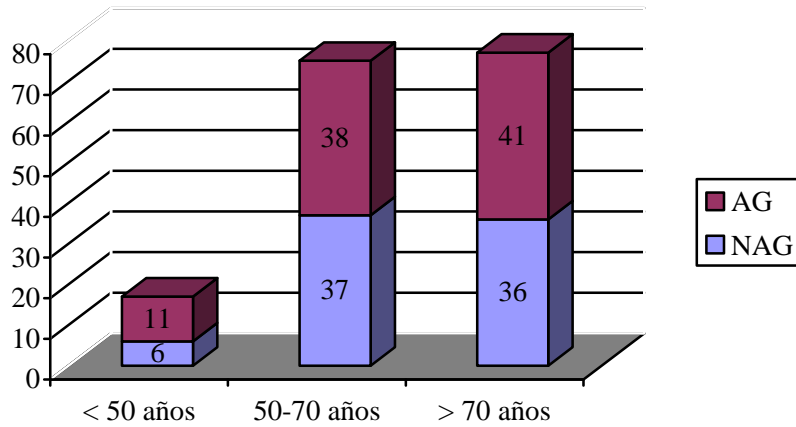


Figura IV.2.36. Grado sumatorio y grupos de edad.

Grado sumatorio y sexo- En nuestro estudio no encontramos diferencias entre el grado sumatorio y su distribución por sexos. De los 92 varones, 48 mostraron un grado sumatorio de AG y 44 de NAG (52 a 48%). De las 72 mujeres, 41 presentaron grado sumatorio de AG y 31 de NAG (55 a 45%) (*fig. IV.2.37*).

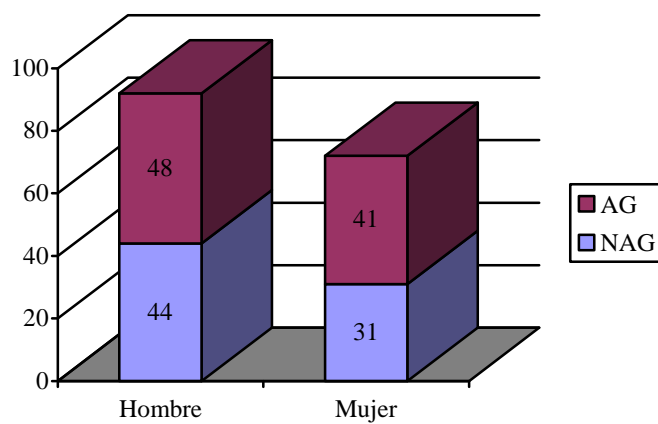


Figura IV.2.37. Grado sumatorio y sexo.

Grado sumatorio y localización anatómica- Las localizaciones con tumores de mayor grado fueron CT y recto. En los tumores localizados en colon derecho observamos el mismo número de casos AG y NAG; en los localizados en colon izquierdo-sigma el porcentaje de casos NAG fue ligeramente superior al de AG (54 a 46%); mientras que en los localizados en colon transverso y recto el número de casos de AG fue muy superior al de NAG (83 a 17% en CT, 63 a 37% en recto) (*fig. IV.2.38*).

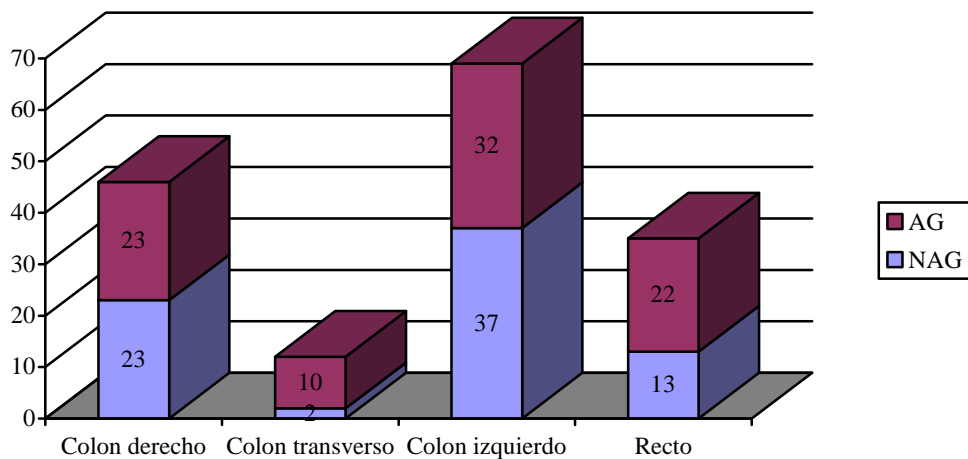


Figura IV.2.38. Grado sumatorio y localización anatómica.

Grado sumatorio y tipo histológico- En nuestro estudio obtuvimos casos de AG y NAG en ambos grupos de tipo histológico, con proporciones similares, siendo ligeramente superior la proporción de AG dentro del tipo intestinal. Dentro de los CCR de tipo intestinal 76 (55.9%) obtuvieron un grado sumatorio de AG; en el grupo de tumores de tipo mucinoso sólo 12 (44%) presentaron AG. (*fig. IV.2.39*).

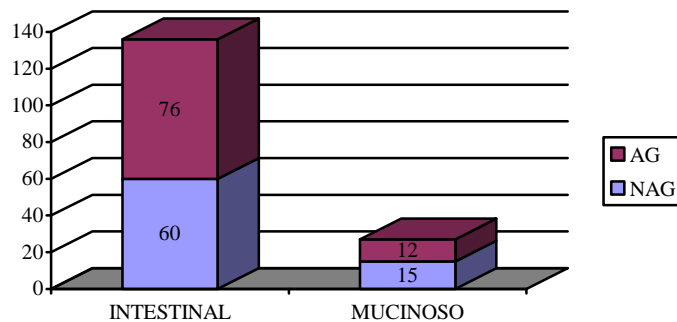


Figura IV.2.39. Grado sumatorio y tipo histológico.

Grado sumatorio y tamaño tumoral- En nuestro estudio no obtuvimos diferencias significativas entre el tamaño tumoral y el grado sumatorio, pero sí se evidenció que en los tumores de dimensiones superiores a 5 cm fueron más frecuentes los casos AG que los NAG (57 a 43%); mientras que en los tumores de menor tamaño, el número de casos NAG superó al de AG (54 a 46%). (fig. IV.2.40).

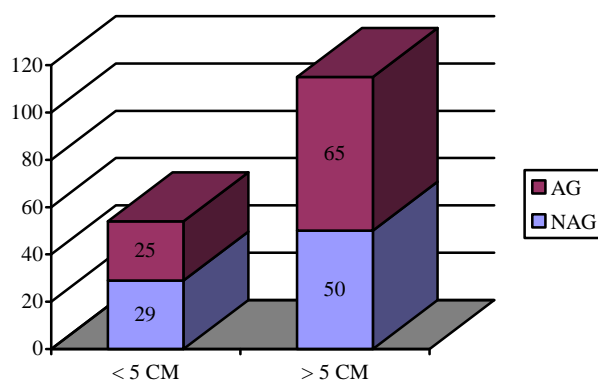


Figura IV.2.40. Grado sumatorio y tamaño tumoral.

Grado sumatorio y estadio tumoral- El único grupo que presentó mayor proporción de casos NAG frente a AG fue el grupo de pacientes en estadio I (57 a 43%). Los pacientes en estadio II, III y IV mostraron más casos de AG que NAG (52% 58% y 54% respectivamente) (fig. IV.2.41). N/S.

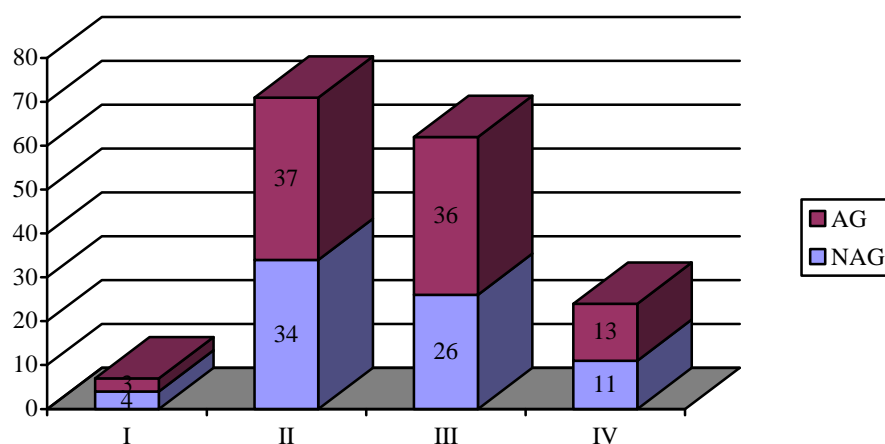


Figura IV.2.41. Grado sumatorio y estadio tumoral.

Grado sumatorio y afectación ganglionar- No obtuvimos diferencias significativas entre el grado sumatorio y la afectación ganglionar. Los tumores de alto grado mostraron afectación ganglionar en el 53% de los casos, y los pacientes del grupo NAG mostraron afectación ganglionar en el 50%. (fig. IV.2.42).

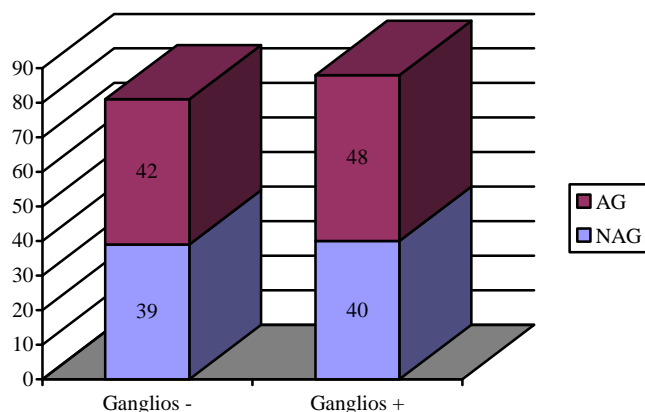


Figura IV.2.42. Grado sumatorio y afectación ganglionar.

Grado sumatorio y recidiva tumoral- En el grupo de pacientes que recidivan el número de casos con grado sumatorio de AG es superior al de NAG (54 al 46%); en el grupo de pacientes que no recidivan el número de casos AG también es superior al de NAG pero con una diferencia ligeramente menor (53 a 47%). Si limitamos el número de pacientes que recidivan a aquellos que lo hacen en órganos (eliminando las recidivas a nivel locoregional) observamos que la proporción de casos AG en este grupo es mucho mayor (60% a 40%). (fig. IV.2.43). N/S.

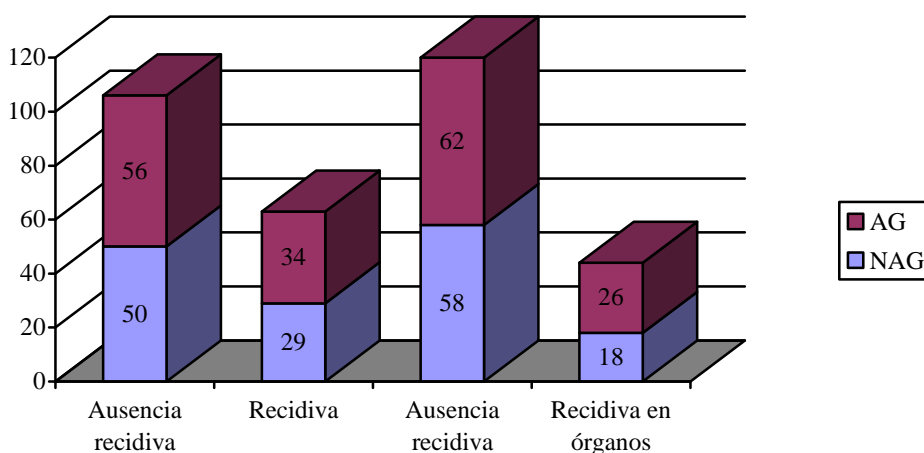


Figura IV.2.43. Grado sumatorio y recidiva.

Grado sumatorio y extensión- Al comparar el grado sumatorio con el estado de extensión tumoral en el momento del diagnóstico, observamos que en aquellos que muestran enfermedad diseminada el porcentaje de casos AG es mucho mayor al de NAG (64 a 36%). Los grupos de pacientes con extensión local o regional de la enfermedad muestran un porcentaje de casos de AG frente a NAG de 52 a 47%. (fig. IV.2.44). N/S.

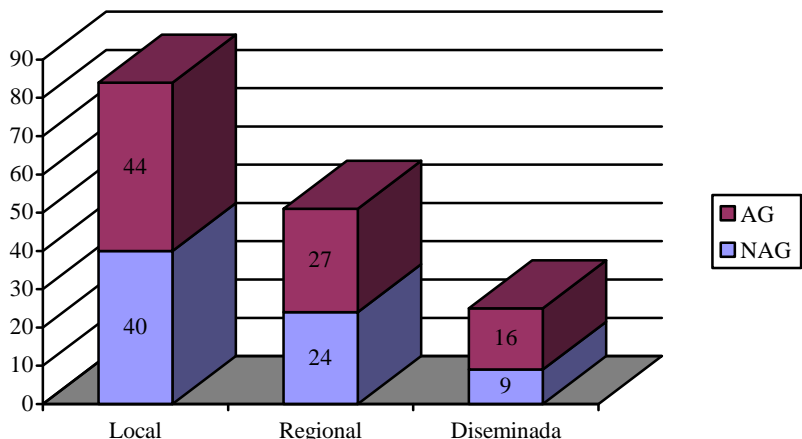


Figura IV.2.44. Grado sumatorio y extensión tumoral.

Grado sumatorio y frente de infiltración- Al dividir los casos según el tipo de frente de infiltración, observamos que en el grupo de frente expansivo el número de casos NAG es mayor al de AG (52 a 47%); mientras que en el grupo de frente digitiforme son los tumores AG los más frecuentes, suponiendo el 56% de los casos. (fig. IV.2.45). Estos datos no obtuvieron significación estadística.

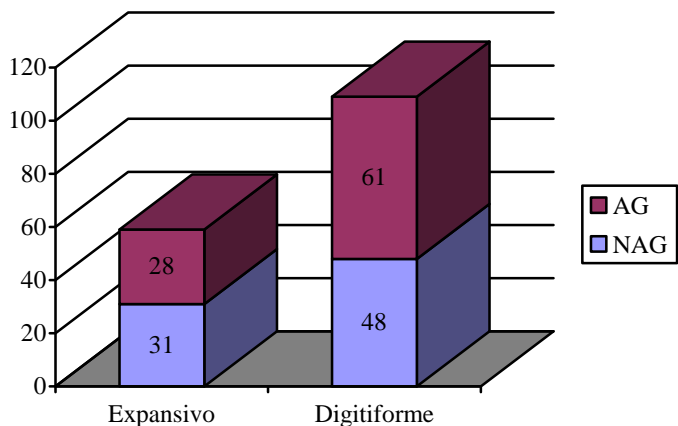


Figura IV.2.45. Grado sumatorio y tipo de frente de infiltración.

Grado sumatorio y desmoplasia- En nuestro estudio obtuvimos diferencias significativas entre el grado sumatorio y la presencia o ausencia de desmoplasia ($p < 0.04$). En el grupo de tumores que presentaron desmoplasia, el porcentaje de casos AG fue muy superior a de NAG (66 a 34%); mientras que el grupo de casos sin desmoplasia mostraron mayor número de casos NAG (51.2%). (fig. IV.2.46).

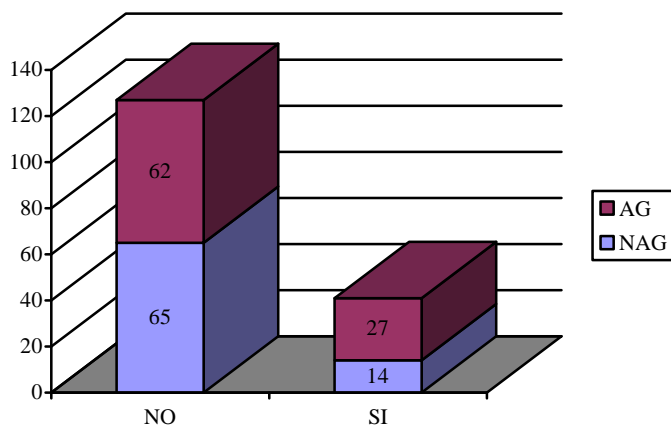


Figura IV.2.46. Grado sumatorio y presencia de desmoplasia.

Grado sumatorio e inflamación peritumoral- En el reducido número de casos que en nuestro estudio mostraron inflamación peritumoral (17), observamos un mayor número de casos AG frente a NAG (59 a 41%), resultado estadísticamente no significativo. (fig. IV.2.47).

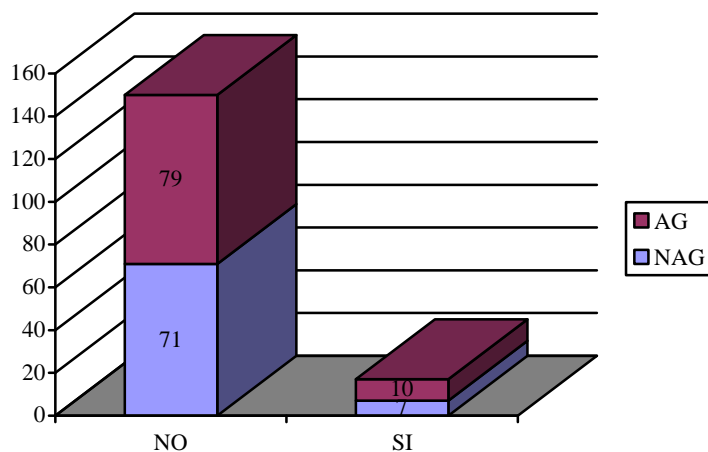


Figura IV.2.47. Grado sumatorio y presencia de inflamación peritumoral.

Grado sumatorio y necrosis- El grupo de pacientes AG mostró necrosis en el 25% de los casos, mientras que el grupo NAG sólo lo hizo en el 15%. En el grupo de tumores con presencia de necrosis el porcentaje de casos AG fue del 65%. (fig. IV.2.48).

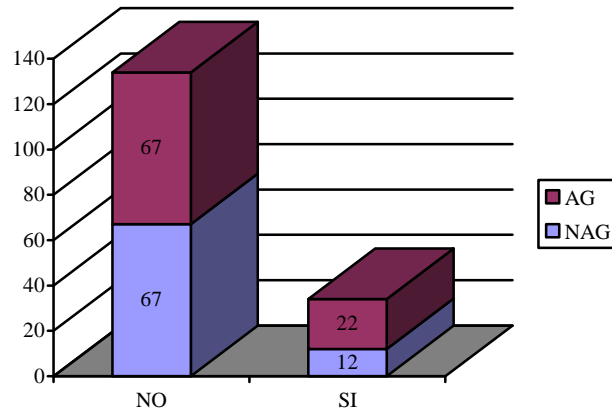


Figura IV.2.48. Grado sumatorio y presencia de necrosis.

Grado sumatorio y patrón cribiforme- El 16% de los tumores AG mostraron áreas cribiformes; en el grupo NAG el porcentaje de casos con áreas cribiformes fue del 11%. Dentro de grupo de tumores con dicho patrón, los tumores AG suponen el 61 %. (fig. IV.2.49). N/S.

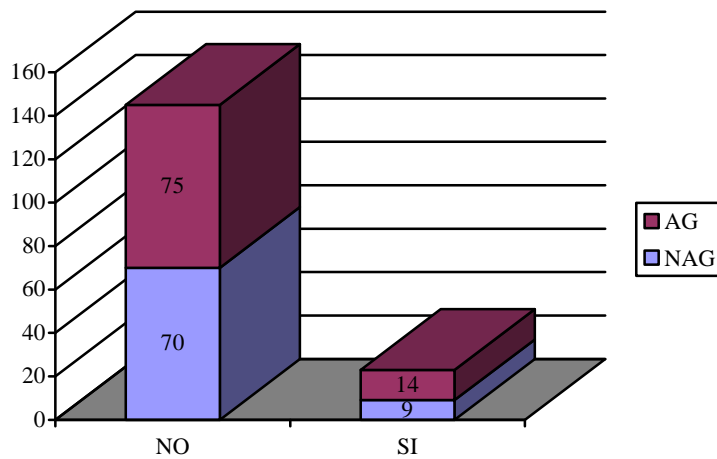


Figura IV.2.49. Grado sumatorio y presencia de patrón cribiforme.

Grado sumatorio y mucina- La presencia de mucina fue más frecuente en el grupo de tumores NAG, en el que se evidenció casi en el 20% de los casos, mientras que el grupo de tumores AG sólo presentó mucina en el 13%. Dentro del grupo de tumores con presencia de mucina, los NAG suponen el 55% del total. (fig. IV.2.50). N/S.

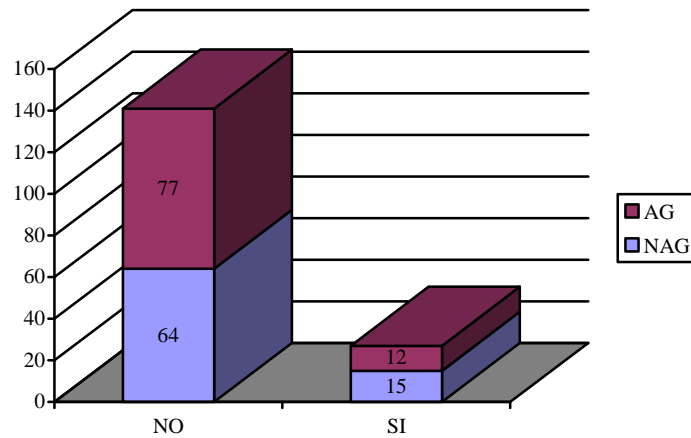


Figura IV.2.50. Grado sumatorio y presencia de mucina.

2.3 Expresión de p53 y distintas variables

La expresión de p53, valorada como positiva o negativa, y la cuantificación de la misma, dividida en dos grupos con tinción en < o > del 30% de las células, se ha comparado con distintas variables.

Positividad para p53 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo-

En el compartimento profundo se evidenciaron casos p53 positivos en todos los patrones. El mayor porcentaje de casos positivos, con más de la mitad de los casos en el compartimento profundo, se evidenció en el grupo de patrón 3. En el grupo de patrón 4 el porcentaje de casos negativos fue muy superior al de casos positivos. En el compartimento superficial se evidenciaron casos p53 positivos en todos los grupos de patrones. El mayor porcentaje de casos positivos a diferencia de lo que se observó en el compartimento profundo, en este caso se obtuvo en el grupo de patrón 2. Y coincidiendo con lo que se observa en el compartimento profundo, en el superficial el número de casos positivos en el grupo de patrón 4 fue inferior al de casos negativos (*fig. IV.2.51*). No obtuvimos significación estadística para estos parámetros.

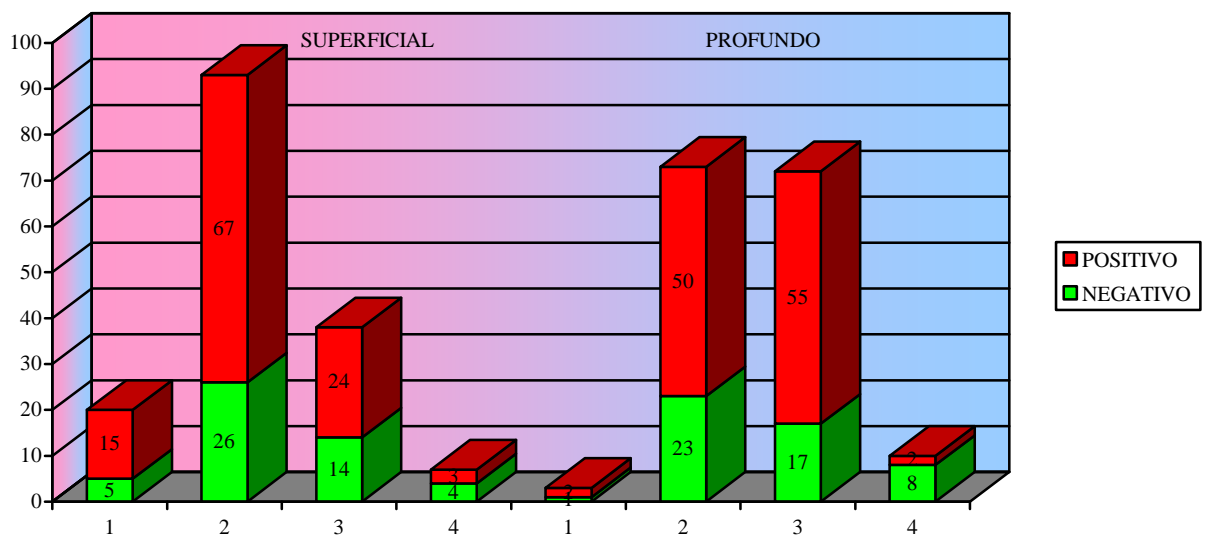


Figura IV.2.51. p53 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo

Expresión de p53 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo- No obtuvimos diferencias significativas al relacionar los patrones arquitecturales de los distintos compartimentos con los valores de p53 divididos en dos categorías. En el compartimento superficial no se obtuvo ningún caso del grupo de patrón 4 con valor de p53 > 30%. El mayor porcentaje de casos p53 >30% (32%) se observó en el grupo de patrón 2. En los grupos de patrón 1 y 3 el número de casos p53 < 30% fue superior al de casos p53 > 30%, con 54.5% a 45.5% y 60.5 a 39.5%; mientras que en el grupo de patrón 2 el número de casos p53 < 30% fue inferior al de casos p53 > 30% con una proporción 47.1% a 52.9%. En el compartimento profundo no se observó ningún caso p53 > 30% en el grupo de patrón 1, y el mayor porcentaje de casos p53 > 30% se evidenció en el grupo de patrón 2 con el 52.1 % de los casos. En esta localización, a diferencia del compartimento superficial, en todos los grupos de patrones, el porcentaje de casos p53 < 30% fue superior al de casos p53 > 30%, con una proporción en el grupo de patrón 4 de 90 al 10%. (fig. IV.2.52).

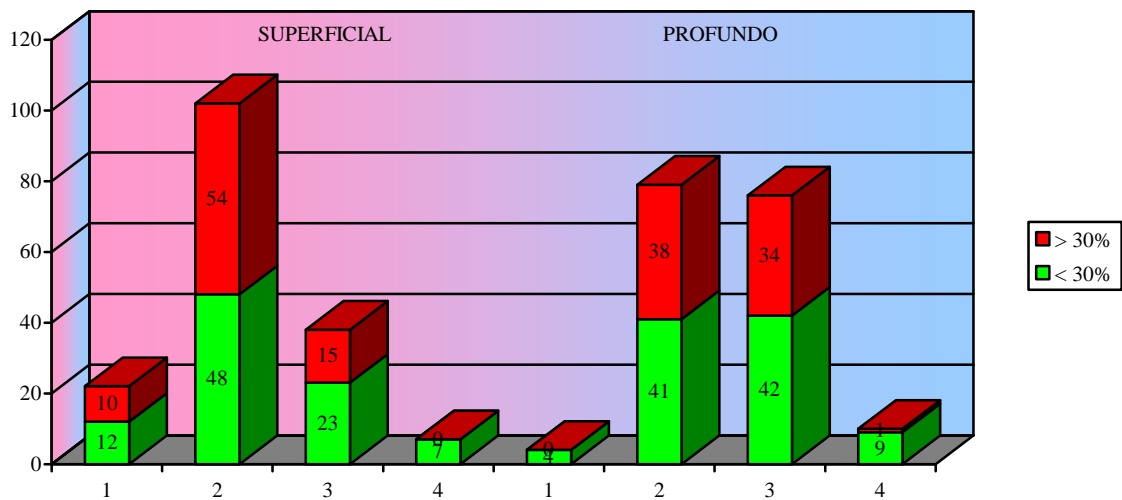


Figura IV.2.52. p53 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo.

Expresión de p53 S y P y patrón arquitectural en compartimentos superficial y profundo- En nuestro estudio encontramos diferencias significativas (p0.02) entre la expresión de p53 a nivel superficial, y el patrón arquitectural superficial,

dividido en dos categorías. En el grupo de pBG la expresión de p53 > 30% se observó en el 50% de los casos, mientras que en el grupo de pAG el número de casos con p53 > 30% supuso el 66%. A nivel profundo no obtuvimos significación estadística, y a diferencia de lo observado en el compartimento superficial, el 60 % de los casos con patrones de alto grado mostraron cifras bajas de expresión de p53 (< 30%) (fig. IV.2.53).

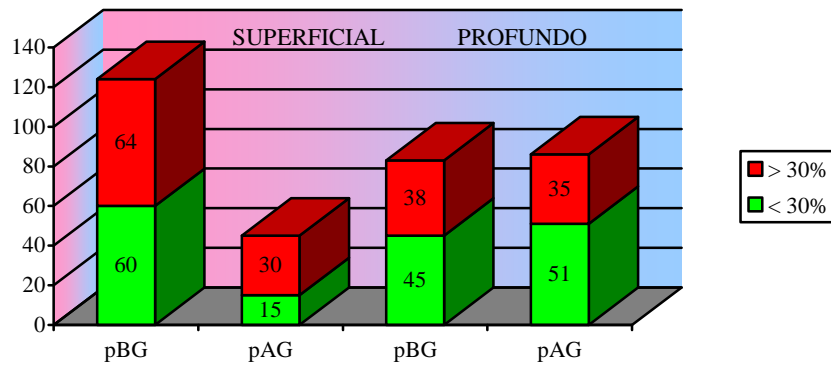


Figura IV.2.53. p53 S y P y patrón arquitectural superficial y profundo.

Valor medio de p53 y grado sumatorio- El valor medio de los valores de p53 obtenidos en las distintas categorías del grado sumatorio son los expuestos en la siguiente figura (fig. IV.2.54). Los valores de expresión de p53 fueron más altos para todos los grupos a nivel superficial. La media más alta de expresión de p53 se observó en los pacientes con patrón sumatorio 5, que mostraron 33% de expresión de p53 a nivel profundo, y 43% de expresión media a nivel superficial.

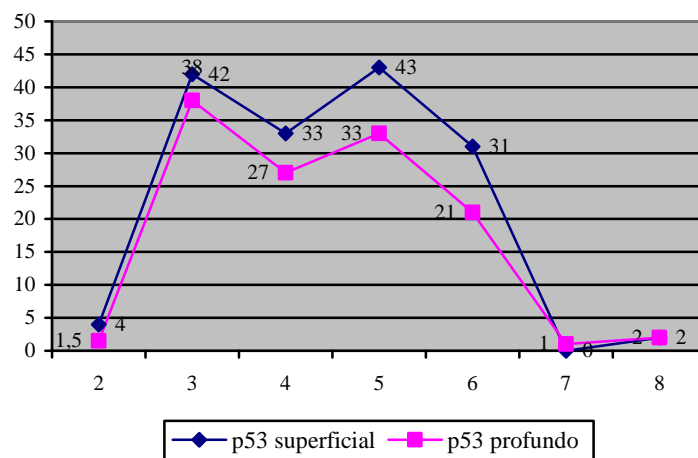


Figura IV.2.54. Valor medio de p53 y grado sumatorio.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y grado sumatorio- No obtuvimos relación estadísticamente significativa entre la expresión de p53 y el grado sumatorio. A nivel superficial, ninguno de los tumores con grado sumatorio 7 y 8 presentaron expresión de p53 > 30%, y el mayor porcentaje de casos con p53 > 30% se observó en el grupo de grado 3, con el 56% de los casos (*fig. IV.2.55*). A nivel profundo, ninguno de los tumores con patrón 8 presentó expresión de p53 > 30%, y el mayor porcentaje (62.5%) de casos con expresión de p53 > 30% se evidenció en el grupo de tumores con grado sumatorio 3 (*fig. IV.2.56*).

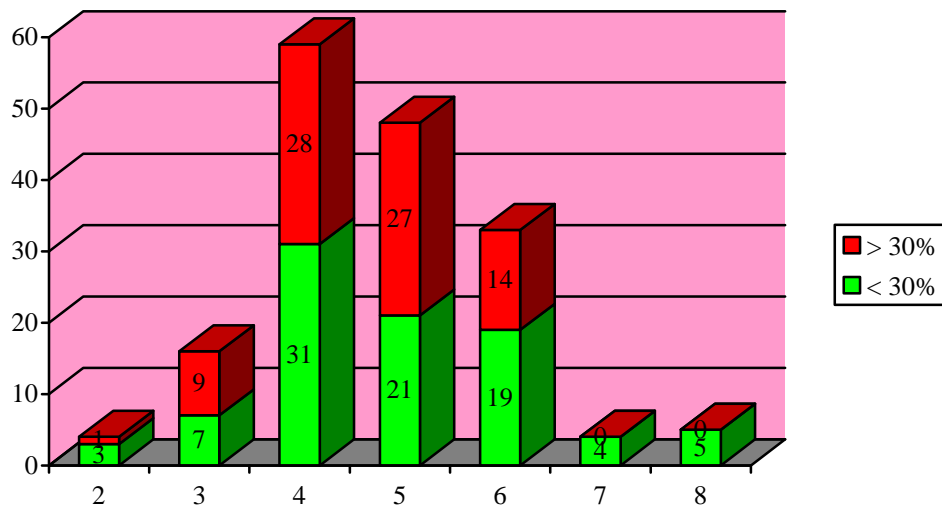


Figura IV.2.55. Expresión de p53 en compartimento S y grado sumatorio.

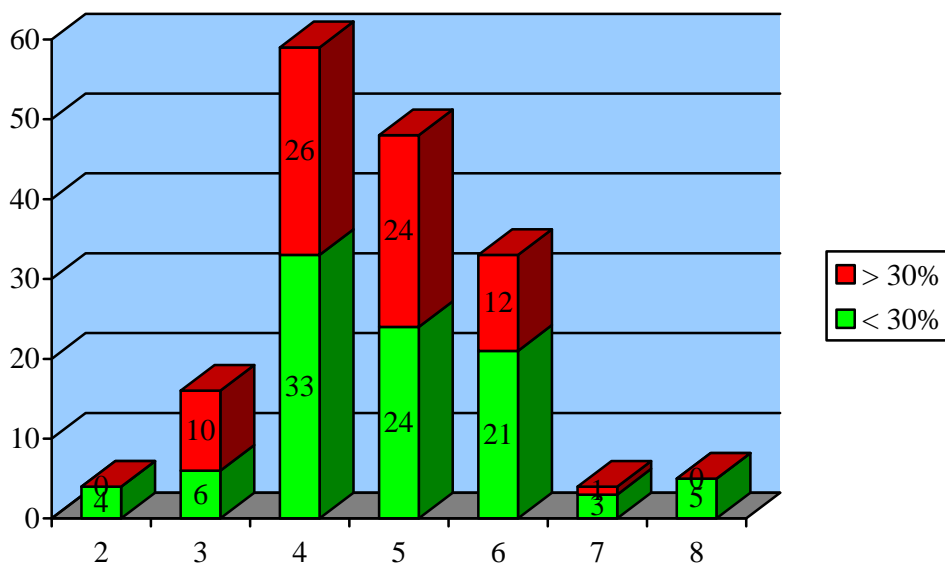


Figura IV.2.56. Expresión de p53 en compartimento P y grado sumatorio.

Expresión de p53 en compartimento superficial y grado sumatorio en dos categorías- No obtuvimos relación estadísticamente significativa entre la expresión de p53 en el compartimento superficial y el grado histológico sumatorio. La expresión de p53 > 30% se observó en el 48 y 51% de los tumores de NAG y AG respectivamente (*fig. IV.2.57*).

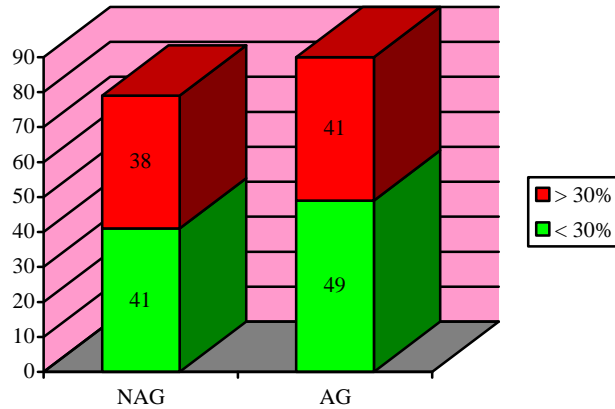


Figura IV.2.57. p53 en compartimento superficial y grado sumatorio.

Expresión de p53 en compartimento profundo y grado sumatorio en dos categorías- No obtuvimos significación estadística al comparar el valor de p53 a nivel profundo, con el grado sumatorio. Los casos con p53 < 30% y > 30% presentaron AG en aprox. el 50% de los casos. (*fig. IV.2.58*).

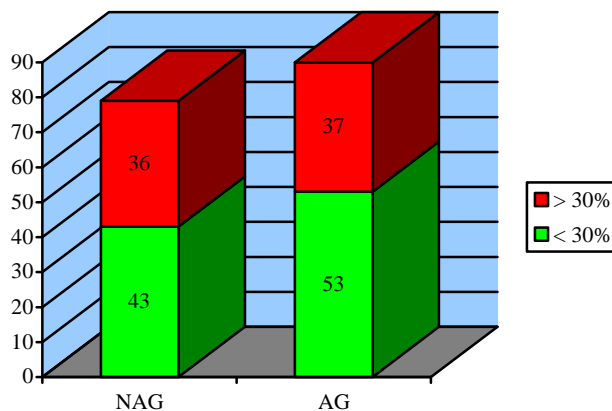


Figura IV.2.58. p53 en compartimento profundo y grado sumatorio.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y grupos de edad- No encontramos diferencias significativas entre la expresión de p53 y la edad de nuestros pacientes. El grupo de edad intermedia (50-70 años) presentó el mayor número de casos con expresión de p53 > 30%, tanto a nivel superficial como profundo (*fig. IV.2.59*)

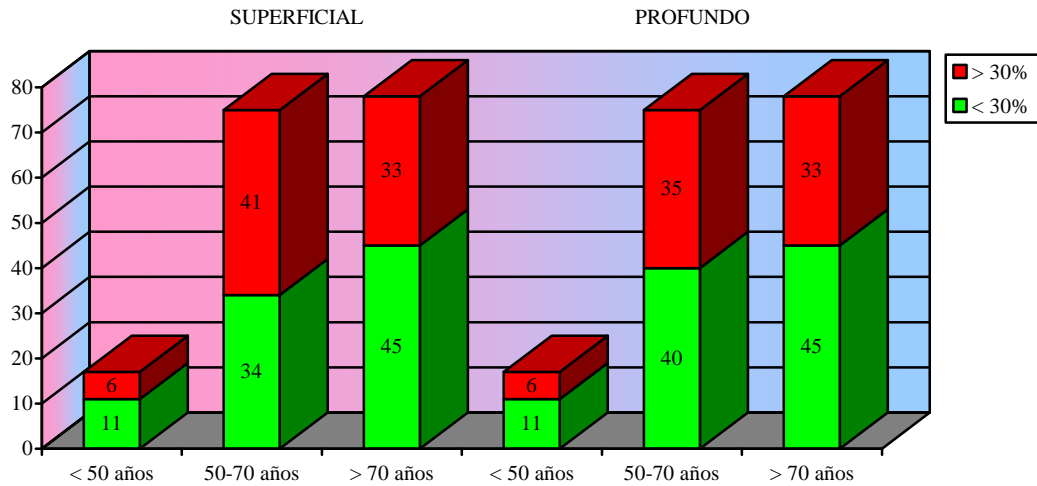


Figura IV.2.59. Expresión de p53 y grupos de edad.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y sexo- La expresión de p53 > 30% fue más frecuente entre los pacientes varones, en ambos compartimentos, con el 46% frente al 44% de las mujeres a nivel superficial, y el 44% frente al 39% a nivel profundo (*fig. IV.2.60*)

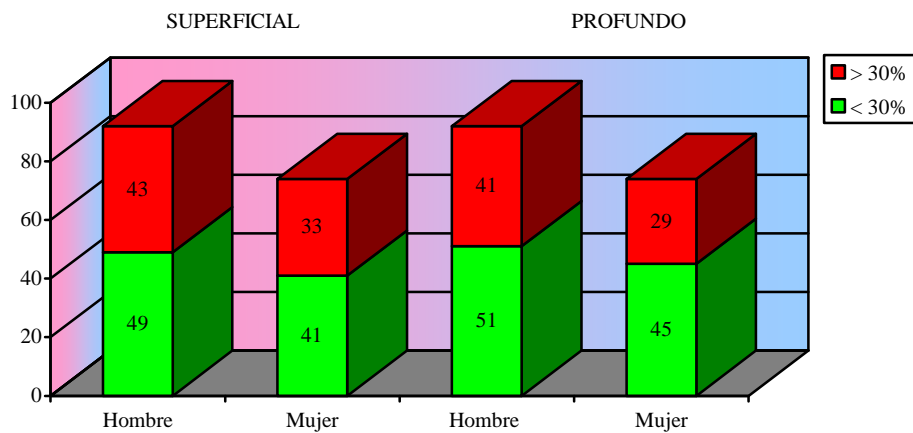


Figura IV.2.60. Expresión de p53 y sexo.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y localización anatómica- En nuestra serie encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de p53 y la localización anatómica, tanto a nivel superficial ($p < 0.000$), como profundo ($p < 0.001$). La expresión de p53 $> 30\%$ se observó de forma mas frecuente en los tumores de CI-S y recto, con el 56 y 60% de los casos respectivamente a nivel superficial; y el 53% y 51% a nivel profundo. La localización anatómica con menor expresión de p53 fue CT, con el 2 y 4% a nivel superficial y profundo respectivamente (*fig. IV.2.61*).

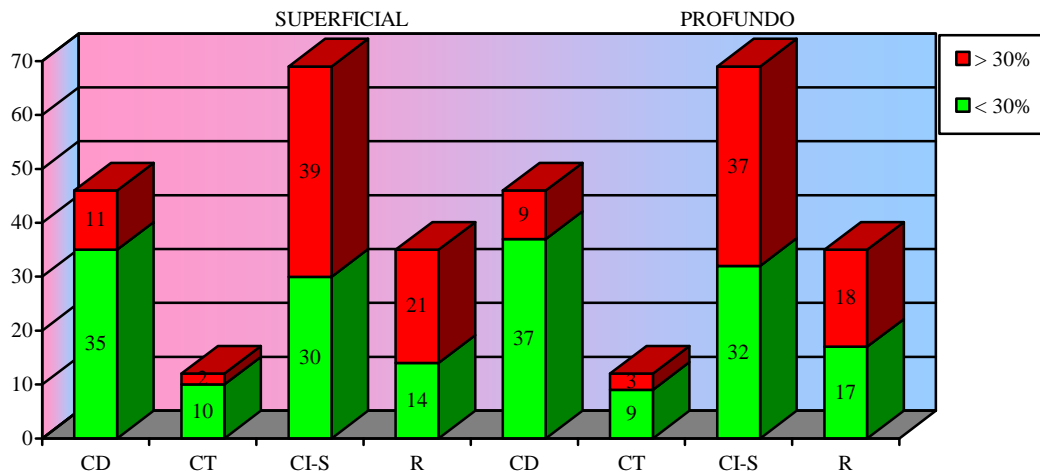


Figura IV.2.61. Expresión de p53 y localización anatómica.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y tamaño tumoral- No observamos diferencias significativas entre el tamaño tumoral y la expresión de p53. Los tumores menores de 5 cm expresaron p53 $> 30\%$ en el 48% de los casos, y los mayores de 5 cm en el 46%, a nivel superficial. En el compartimento profundo estas cifras fueron del 40 y 44% (*fig. IV.2.62*).

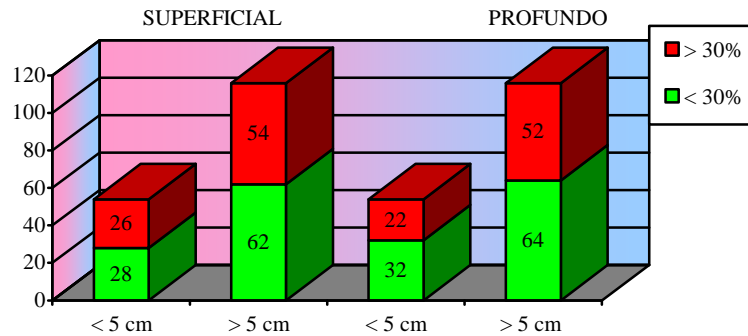


Figura IV.2.62. Expresión de p53 y tamaño tumoral.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo y presencia de recidiva- No obtuvimos diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de p53 y la presencia o ausencia de recidiva. Los tumores que recidivaron expresaron p53 < 30% y > 30% en aprox. la misma proporción (fig. IV.2.63)

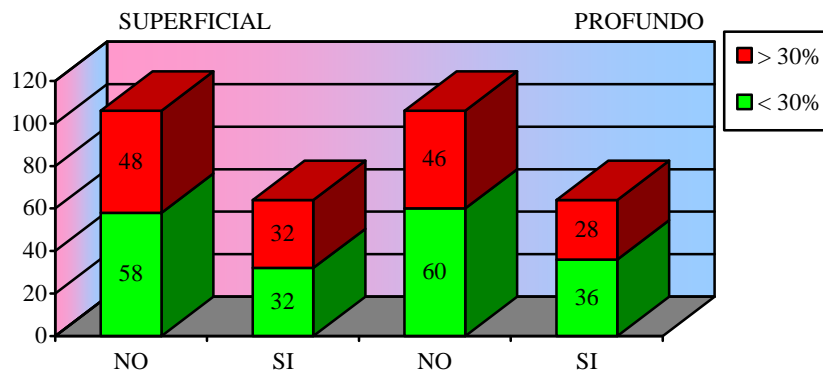


Figura IV.2.63. Expresión de p53 y recidiva.

Expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo afectación ganglionar- Los tumores con afectación ganglionar expresaron p53 > 30% en aprox. el 50% de los casos tanto a nivel superficial como profundo. Los pacientes NO expresaron p53 > 30% en el 40 y 34% respectivamente (fig. IV.2.64). N/S.

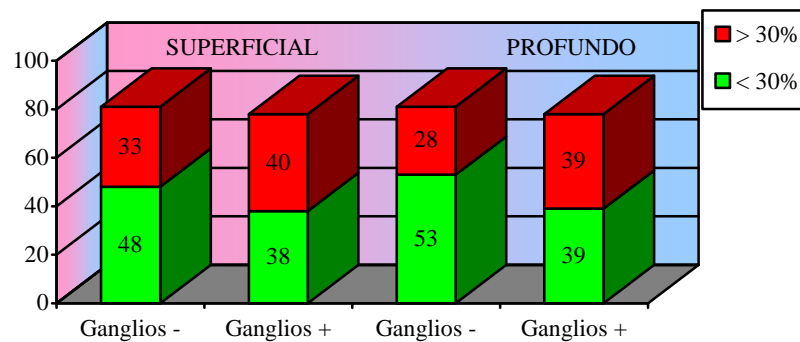


Figura IV.2.64. Expresión de p53 y afectación ganglionar.

2.4 Expresión de ki-67 y distintas variables

La expresión de ki-67, dividida en dos categorías, < 20% y > 20%, se relacionó con distintas variables, obteniendo los resultados que se exponen a continuación.

ki-67 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo-

En el compartimento profundo, en el grupo de patrón 1 el 50% de los casos mostró cifras < 20% y el otro 50% por encima del 20%, y aproximadamente la misma proporción se evidenció en los grupos de patrón 3 y 4, con porcentajes del 41% a 58% y de 51% a 48 respectivamente. En cambio en el grupo de patrón 4 el número de casos con valores de ki67 por encima del 20% fue del 80% frente al 20% que mostró valores inferiores. En el compartimento superficial entre los casos de grupo 4 se obtuvieron cifras similares a las observadas en el profundo, con un 71.4% de los casos con valores de ki-67 superiores al 20% frente a un 28% con cifras inferiores. En los demás grupos arquitecturales los casos presentaron proporciones de casos >20% y <20% con cifras próximas al 50%. (fig. IV.2.65).N/S.

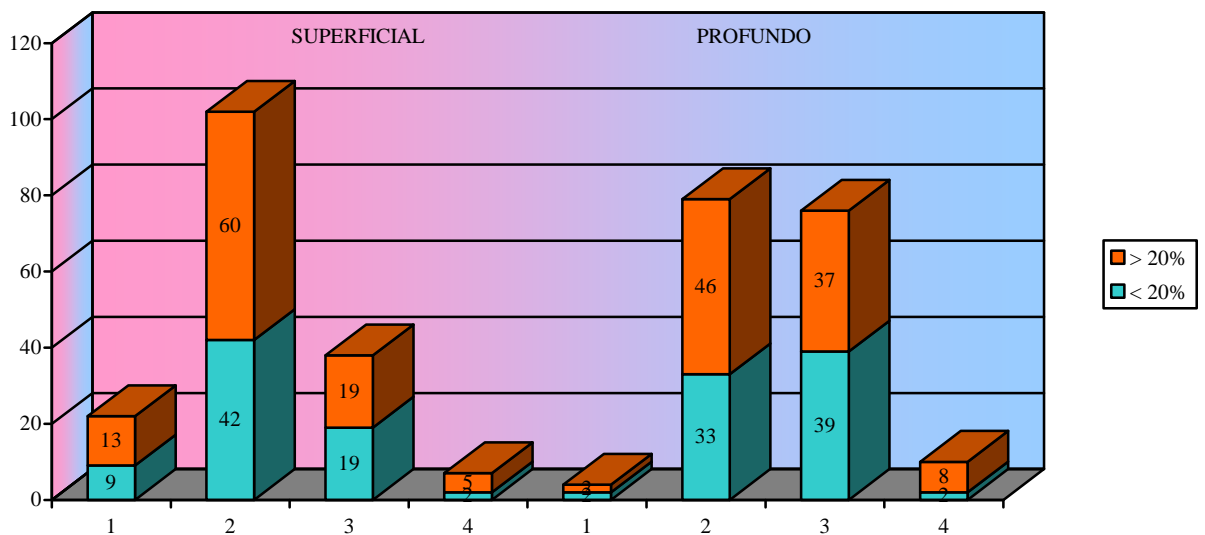


Figura IV.2.65. ki67 y patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo, y patrones arquitecturales-

No encontramos diferencias significativas en la expresión de ki-67 y los patrones

arquitecturales, divididos en dos categorías: pBG y pAG. A nivel superficial, el 59% de los tumores de bajo grado mostraron cifras de ki67 > 20%; en los tumores de alto grado este valor fue del 53%. En el compartimento profundo, el 57.8% de los tumores con patrones de bajo grado presentaron cifras de ki-67 superiores al 20%. El 52.3% de los tumores con patrones de alto grado presentaron cifras de ki-67 superiores al 20%. (fig. IV.2.66). N/S.

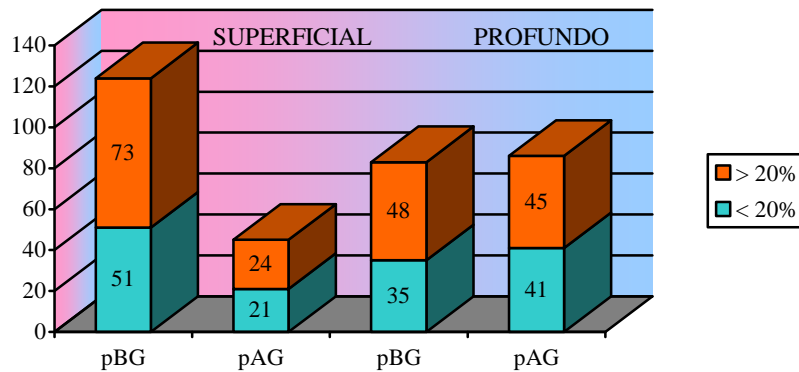


Figura IV.2.66. ki67 en compartimentos S y P y patrones arquitecturales.

Valor medio de ki-67 y grado sumatorio- Los valores de ki67 en las distintas categorías del grado sumatorio fueron similares a nivel superficial y profundo. El grupo con mayor valor medio de índice de proliferación se observó en el grupo de grado sumatorio 8, a nivel profundo (fig. IV.2.67).

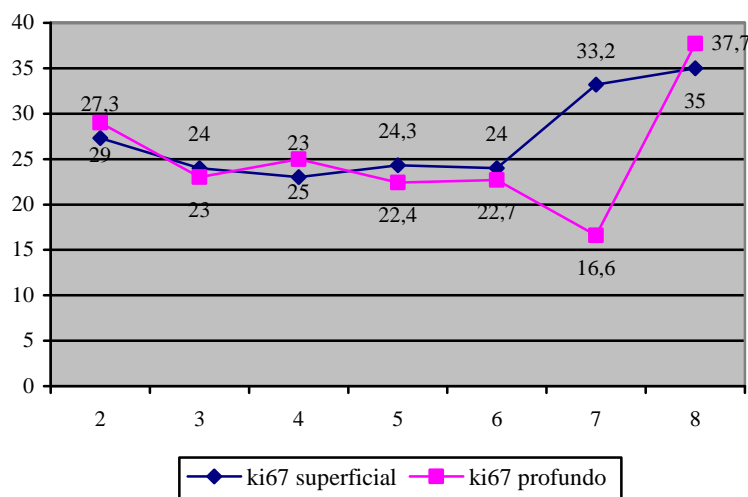


Figura IV.2.67. Valor medio de ki67 y grado sumatorio.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo, y grado sumatorio- El 75% y el 80% de los tumores con grado sumatorio 7 y 8 expresaron niveles de ki67 > 20%, a nivel superficial, y el 100% de los tumores de grado sumatorio 8 expresan valores de ki67 >20% a nivel profundo. En el resto de categorías de grado sumatorio, el porcentaje de casos con ki67 > 20% se aproximó al 50% (fig. IV.2.68) y (fig. IV.2.69). N/S.

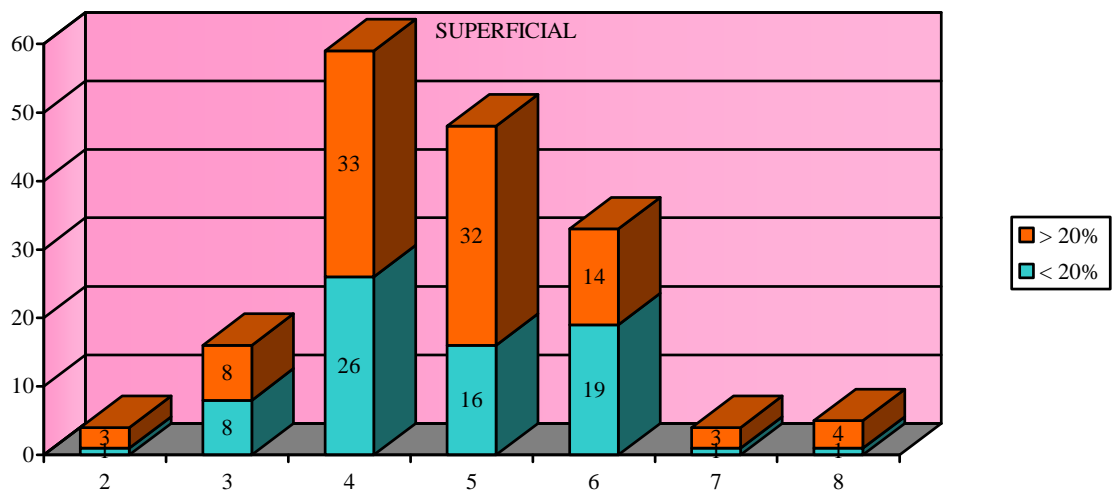


Figura IV.2.68. Expresión de ki67 en compartimento S y grado sumatorio.

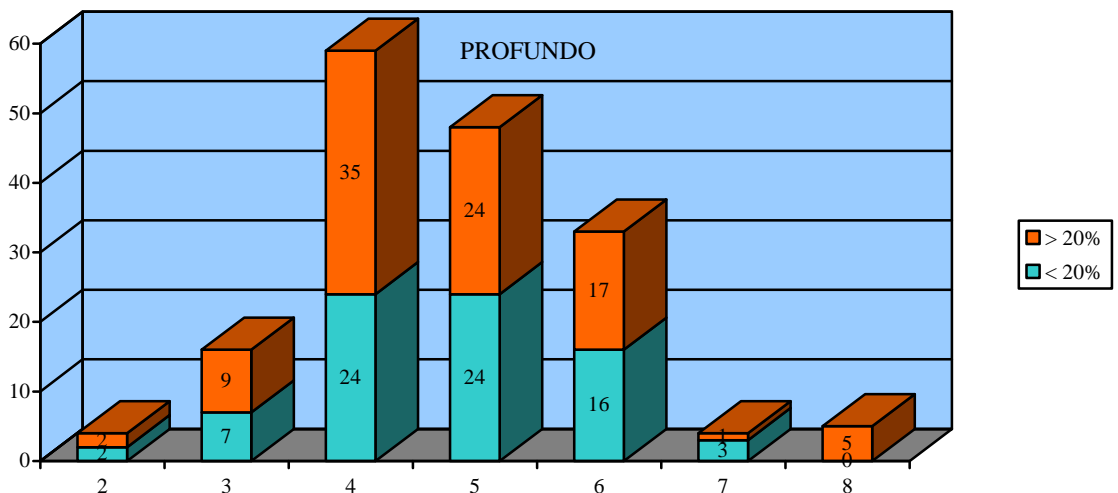


Figura IV.2.69. Expresión de ki67 en compartimento P y grado sumatorio

ki-67 en compartimento superficial y grado sumatorio- Nuestro estudio no muestra relación estadísticamente significativa entre la expresión de ki67 en el compartimento superficial y el grado sumatorio. El 56% y 59% de los tumores NAG y AG respectivamente, expresaron valores de ki-67 > 20% a nivel superficial (*fig. IV.2.70*)

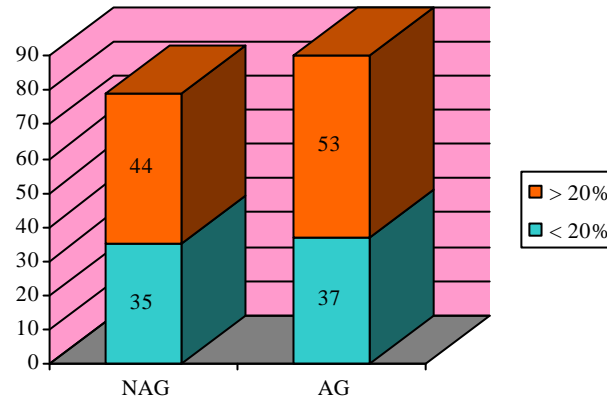


Figura IV.2.70. ki67 en compartimento superficial y grado sumatorio.

ki-67 en compartimento profundo y grado sumatorio- No encontramos diferencias en la expresión de ki67 en compartimento profundo y el grado sumatorio tumoral. Los tumores de AG mostraron en el compartimento profundo valores de ki67 > 20% en el 50.5 % de los casos; los tumores NAG lo hicieron en el 49.5 %. (*fig. IV.2.71*).

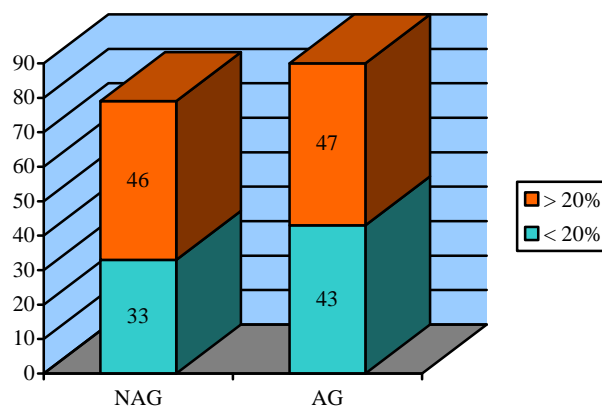


Figura IV.2.71. ki67 en compartimento profundo y grado sumatorio.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y grupos de edad- En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de ki-67 a nivel profundo y los grupos de edad ($p < 0.03$). En dicho compartimento el porcentaje de casos con $ki67 > 20\%$ para los menores de 50 años es del 35%; mientras que los pacientes mayores de 70 años muestran niveles de $ki-67 > 20\%$ en el 65% de los casos (*fig. IV.2.72*).

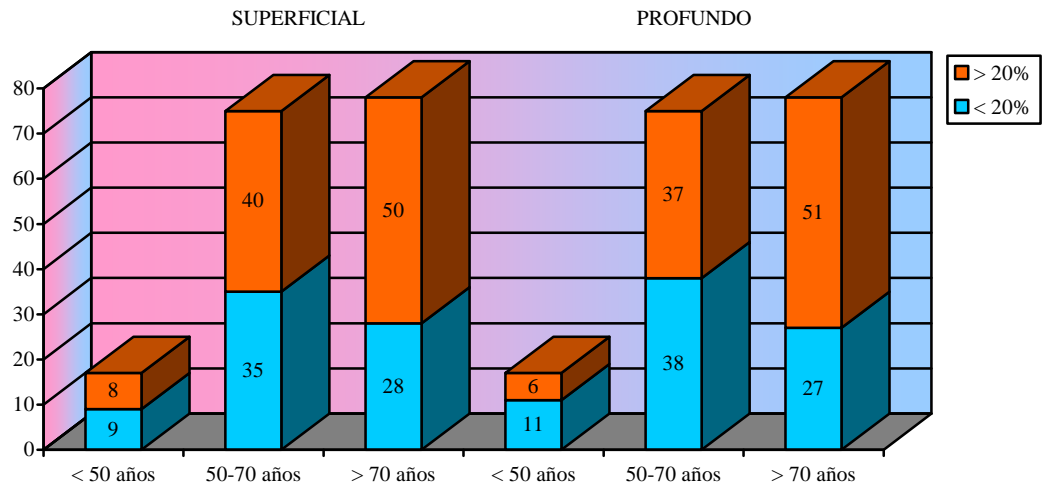


Figura IV.2.72. *ki67 en compartimentos S y P y grupos de edad.*

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y sexo- La presencia de valores de $ki67 > 20\%$ se observó de forma más frecuente entre las mujeres. A nivel superficial y profundo, el 64% y 54% respectivamente, de los tumores en mujeres mostraron valores de $ki67 > 20\%$; mientras que en los varones ese porcentaje fue del 51 y 55% (*fig. IV.2.73*). Estos datos no mostraron significación estadística.

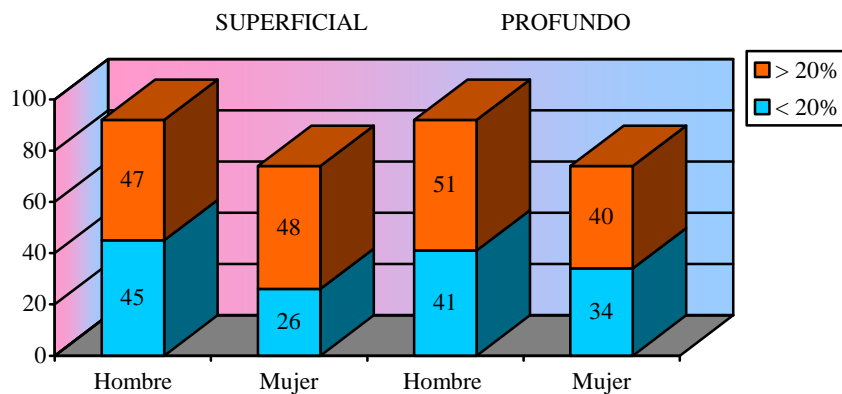


Figura IV.2.73. *ki67 en compartimentos S y P y sexo.*

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y localización anatómica-

Las localizaciones anatómicas con mayor número de casos con valores de ki67 > 20%, son CT (91%) y Recto (74%) a nivel superficial (fig. IV.2.74). Estos datos muestran significación estadística en nuestro estudio (p0.003).

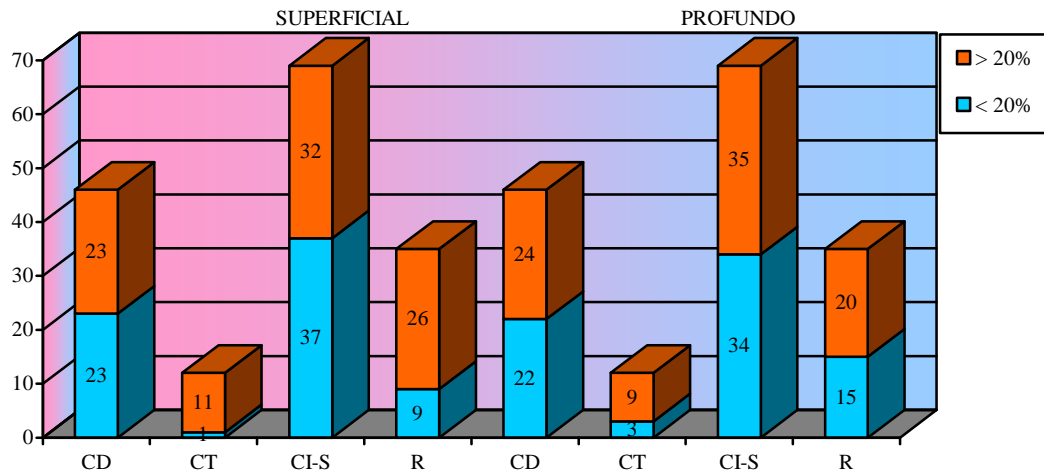


Figura IV.2.74. ki67 en compartimentos S y P y localización anatómica.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y tamaño tumoral-

En nuestro estudio no encontramos significación estadística entre los valores del ki67 y el tamaño tumoral. A nivel superficial, el 64% y el 54% de los tumores < 5cm y > 5 cm respectivamente, expresaron valores de ki67 > 20%. A nivel profundo estas cifras fueron del 54% y 53% (fig. IV.2.75).

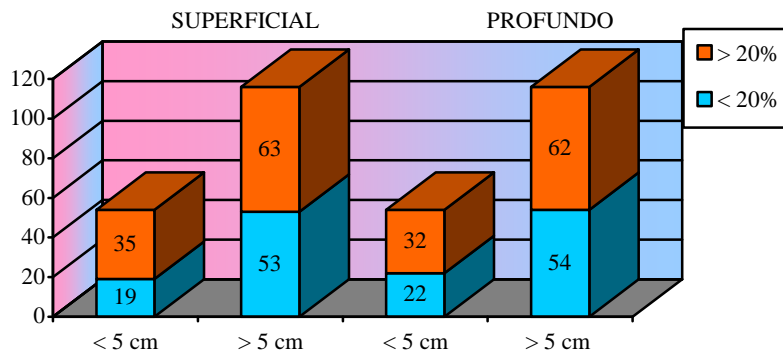


Figura IV.2.75. ki67 en compartimentos S y P y tamaño tumoral.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y presencia de recidiva- No observamos relación estadísticamente significativa entre la expresión de ki67 y la presencia de recidiva. Los pacientes que recidivan presentan a nivel superficial valores de ki67 > 20% en el 64% de los casos, y a nivel profundo en el 57%. El grupo de pacientes que no recidivan presentan cifras de ki67 > 20% en el 54% de los casos en el compartimento superficial, y en el 53% en el profundo (fig. IV.2.76).

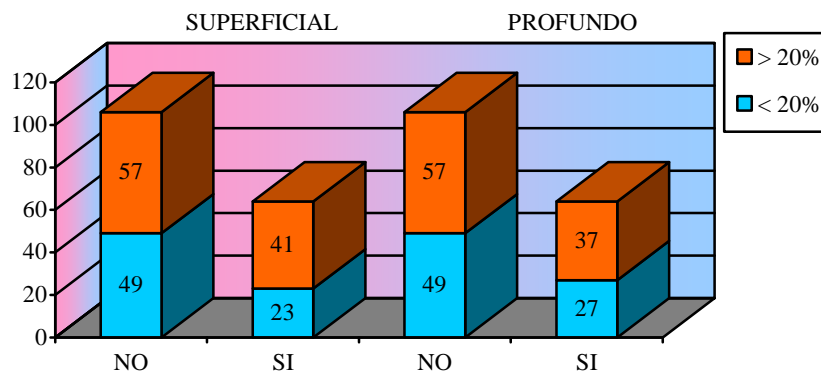


Figura IV.2.76. ki67 en compartimentos S y P y recidiva.

ki-67 en compartimentos superficial y profundo y afectación ganglionar- Nuestro estudio no muestra relación significativa entre la afectación ganglionar y la expresión de ki67 a nivel superficial y profundo. Los pacientes con afectación ganglionar expresan valores de ki67 > 20% en el 57.6% de los casos a nivel superficial, y en el 52% a nivel profundo (fig. IV.2.77).

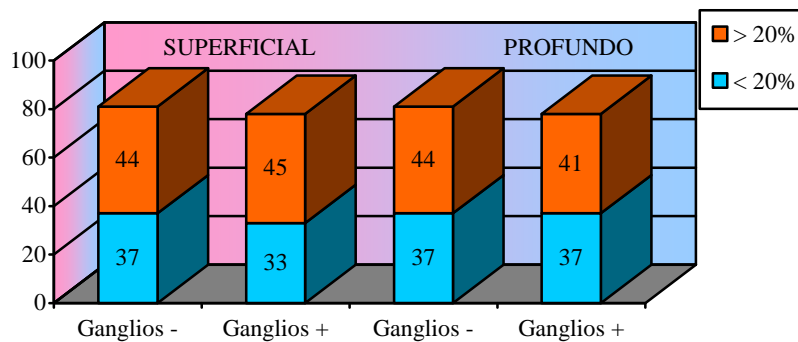


Figura IV.2.77. ki67 en compartimentos S y P y afectación ganglionar.

3. Estudio de supervivencia

3.1 Supervivencia global

Después de más de 15 años de seguimiento, la supervivencia global media de nuestra serie se situó en los 91 meses (IC 95% 77-104). A los 100 meses de seguimiento la probabilidad de supervivencia de nuestros pacientes fue del 44% (fig. IV.3.1). Al finalizar nuestro estudio, 13 pacientes permanecen vivos sin enfermedad (7.8%), 3 (1.8%) vivos con enfermedad, 63 (38%) han fallecido por el tumor, 45 (28%) por otras causas y 42 (25.3%) se han perdido para seguimiento.

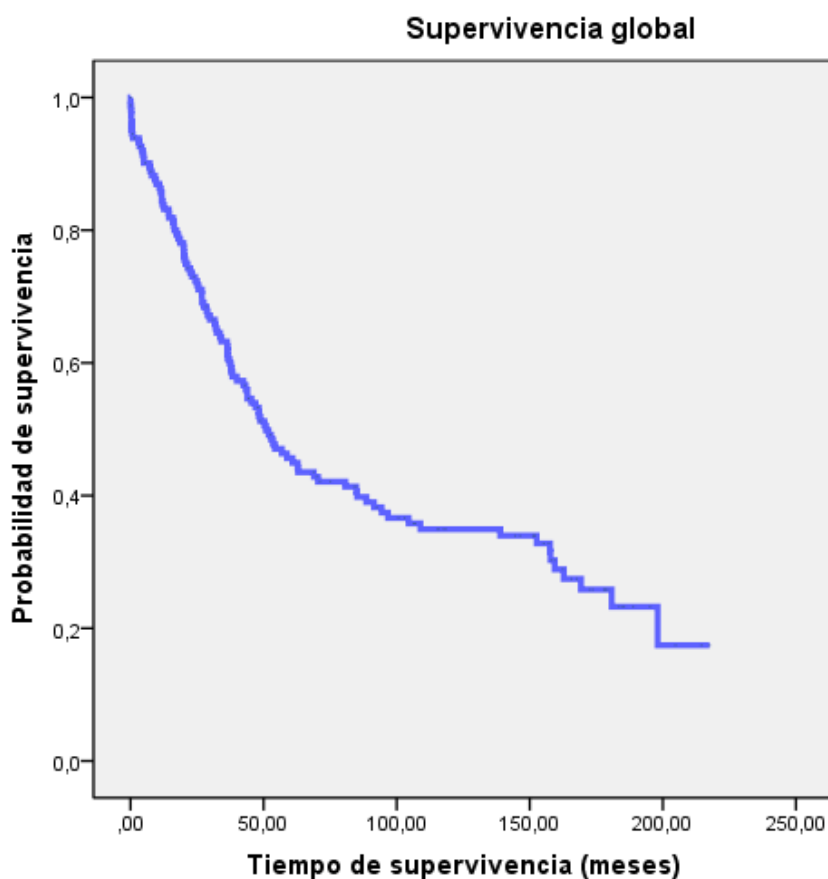


Figura IV.3.1. Supervivencia global de la serie completa.

3.2 Supervivencia global específica

En cuanto a la supervivencia global específica (SGE), al valorar los fallecimientos causados exclusivamente por el tumor, la supervivencia media estimada de los pacientes de nuestro estudio se situó en 129 meses (IC 95% 113-145). (fig. IV.3.2). A los 100 meses de seguimiento, la probabilidad de supervivencia específica es del 60%.

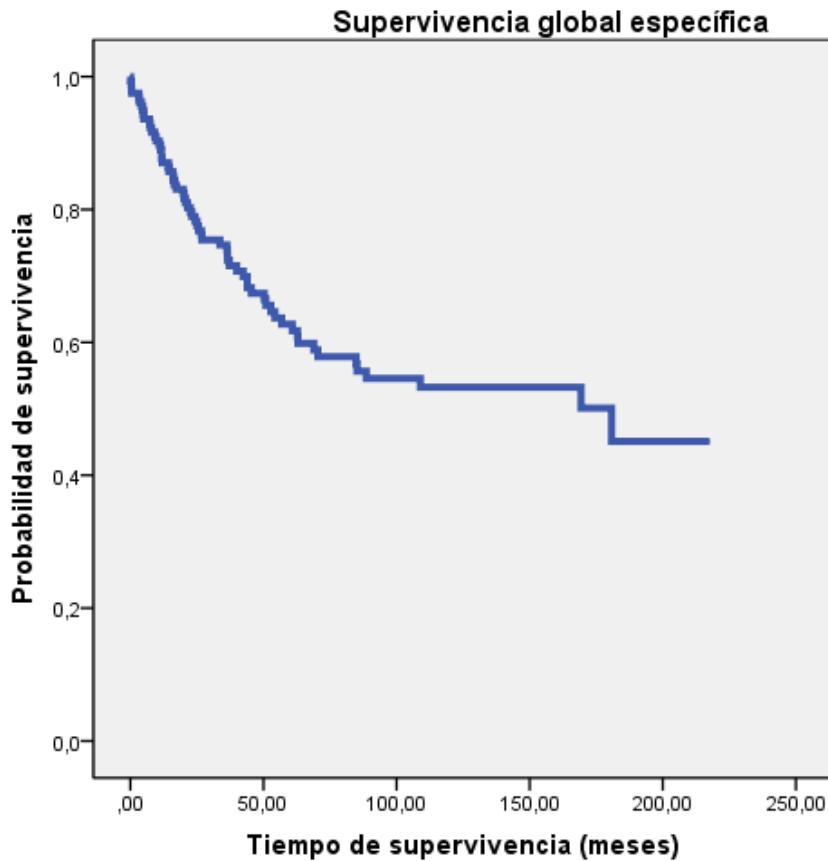


Figura IV.3.2. Supervivencia global específica de la serie completa.

Hemos realizado un análisis univariante de la supervivencia global específica de nuestros pacientes, y su relación con distintos parámetros clínicos e histopatológicos.

3.3 Relación entre SGE y patrones arquitecturales en distintos compartimentos

SGE y patrones arquitecturales en compartimento superficial- La media de supervivencia de los pacientes con patrón 4 fue de 89 meses (IC 95% 35-142), frente a la de los pacientes de patrón 1 que presentaron una supervivencia media estimada de 132 meses (IC 95% 98-167). La supervivencia media estimada de los pacientes de patrón 3 fue de 108 meses (IC 95% 75-140); y la del grupo de patrón 2 de 136 meses (IC 95% 115-157), siendo este grupo el que presentó mejores datos de supervivencia. A los 108 meses de seguimiento la probabilidad de supervivencia en los pacientes de patrón 3 es del 47%; mientras que la de los pacientes de patrón 1 es del 70% (*fig. IV.3.3*). N/S.

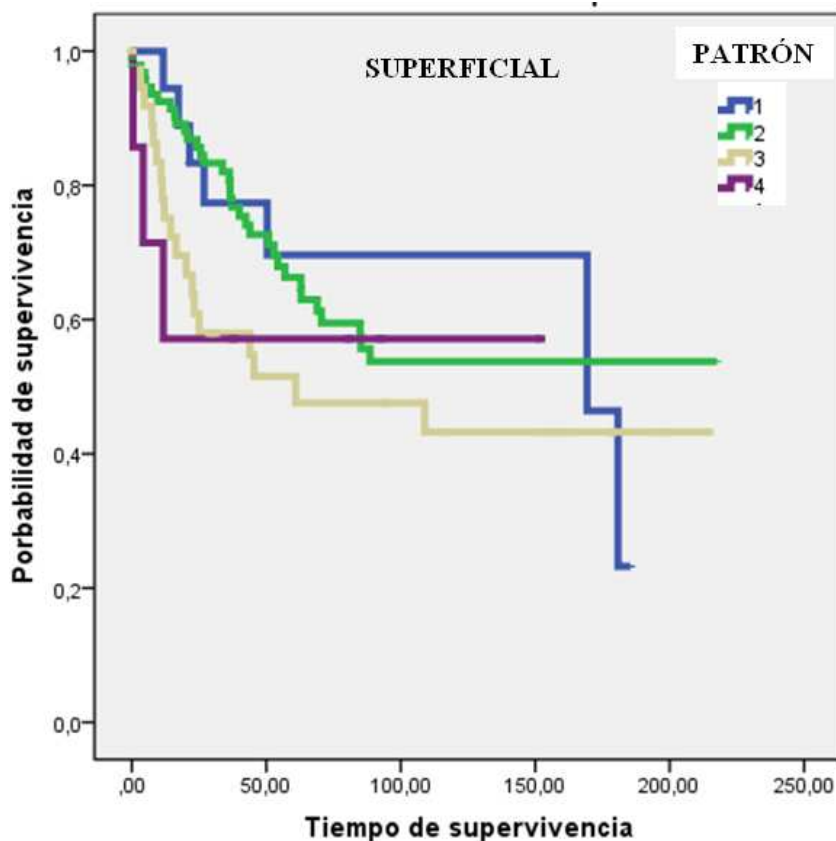


Figura IV.3.3. Supervivencia específica y patrones arquitecturales en compartimento superficial.

SGE y patrones arquitecturales en compartimento profundo- En el compartimento profundo los pacientes con patrón 4 mostraron una media de supervivencia estimada de 75 meses (IC 95% 32-117), frente a los 132 meses (IC 95% 109-154) de supervivencia media de los pacientes con patrón 2. En este compartimento el grupo con patrón 1 fue muy reducido con sólo 4 pacientes, y mostró una supervivencia media de sólo 96 meses (IC 95% 7-187). A los 180 meses de seguimiento, la probabilidad de supervivencia de los pacientes con patrón 3 es del 47% (media estimada: 123 meses, IC 95% 103-150); frente a los de patrón 2 que presentan un 60%. (*fig. IV.3.4*).N/S.

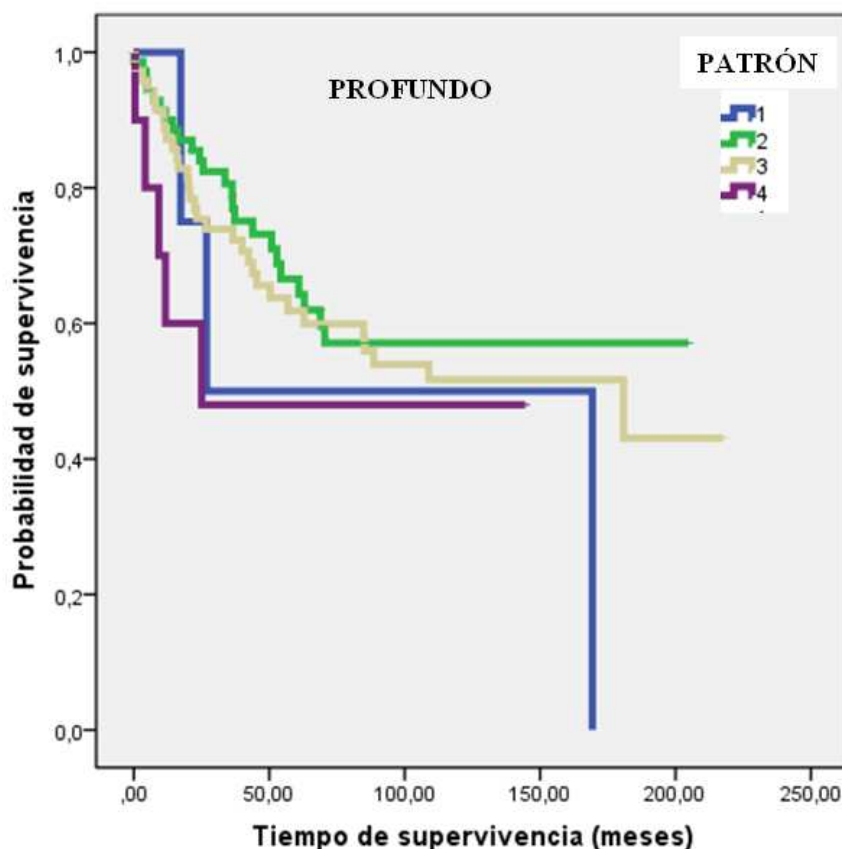


Figura IV.3.4. Supervivencia específica y patrones arquitecturales en compartimento profundo.

Relación entre SGE y patrones arquitecturales de alto o bajo grado en ambos compartimentos- Los pacientes con patrones de bajo grado a nivel superficial presentaron una supervivencia media de 135 meses (IC 95% 116-154); superior a la de los pacientes con patrones de alto grado en ese compartimento, que mostraron una supervivencia media de 110 meses (IC 95% 80-140). Los pacientes con patrones de bajo grado a nivel profundo también presentaron mejores datos de supervivencia que los pacientes con patrones de alto grado, pero las diferencias fueron menores. La supervivencia media de los pacientes con patrones de bajo grado fue de 128 meses (IC 95% 106-150), y la de los pacientes con patrones de alto grado, de 123 meses (IC 95% 101-145) (*fig. IV.3.5*). N/S.

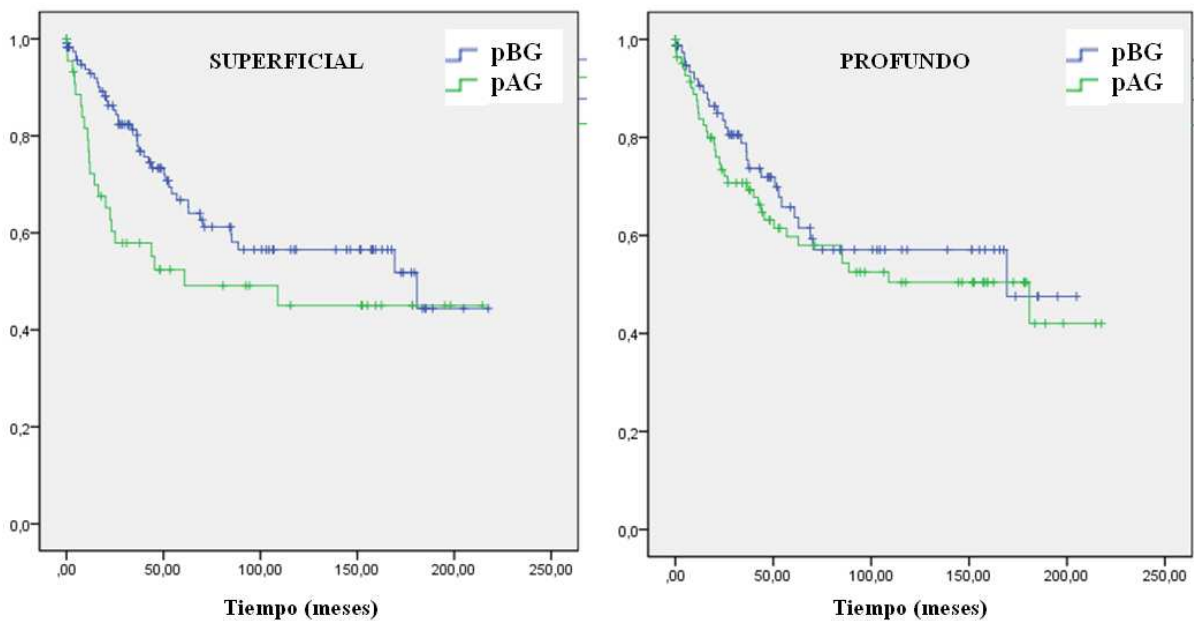


Figura IV.3.5. Supervivencia específica y patrones arquitecturales en dos categorías, alto y bajo grado, en compartimentos superficial y profundo.

3.4 Relación entre SG y grado sumatorio- No encontramos diferencias significativas entre el grado sumatorio de ambos compartimentos, y la supervivencia global. Los pacientes con lesiones del grupo AG presentaron mejores datos globales de supervivencia. Los pacientes del grupo NAG mostraron una supervivencia media de 124 meses (IC 95% 102-146), frente a los 128 meses (IC 95% 106-149) del grupo AG. A los 108 meses de seguimiento, la probabilidad de supervivencia de los pacientes del grupo de AG es del 51%, frente a los del grupo NAG que muestran una probabilidad de supervivencia para ese periodo ligeramente superior (58%). (fig. IV.3.6).

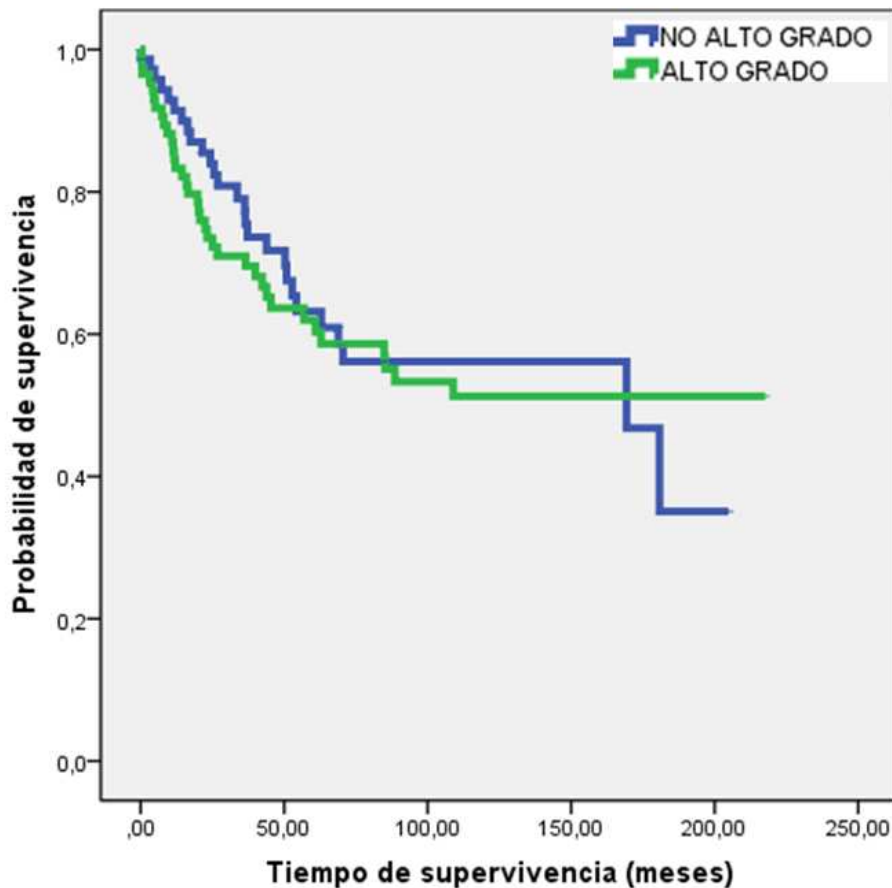


Figura IV.3.6. Supervivencia específica y grado sumatorio.

3.5 Relación entre SGE y parámetros clínicos y pronósticos clásicos:

SGE y grupos de edad- Se evidenció una supervivencia global inferior en los pacientes menores de 50 años, con una supervivencia media de 85 meses (IC 95% 49-121), frente a los 134 meses (IC 95% 111-157) del grupo de pacientes con edades entre 50 y 70 años, que fue el grupo con mejor pronóstico. En el grupo de pacientes mayores de 70 años se evidenció una supervivencia media de 124 meses (IC 95% 99-149). (fig. IV.3.7).

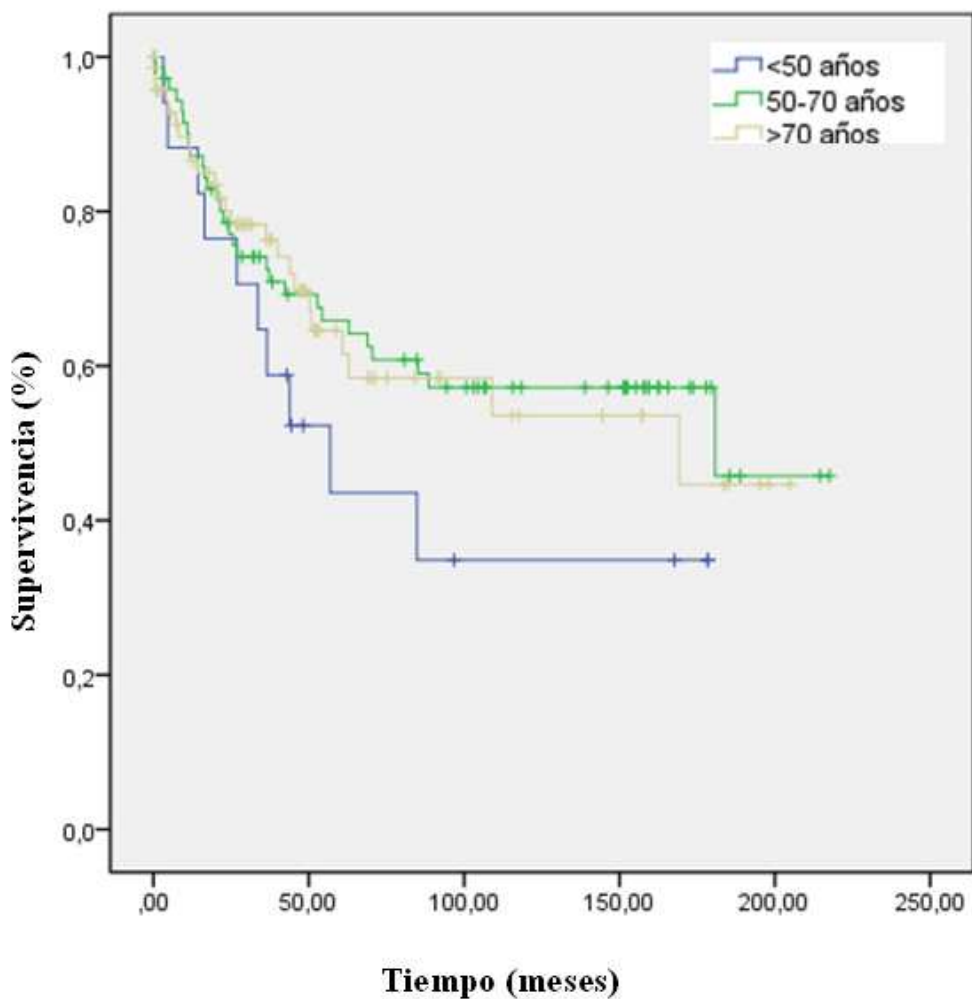


Figura IV.3.7. Supervivencia global específica y grupos de edad.

SGE y sexo- No encontramos diferencias significativas en nuestro estudio entre la supervivencia global específica y el sexo de los pacientes. La media estimada de supervivencia de los pacientes varones fue de 133 meses (IC 95% 112-155); y la de las mujeres de 122 meses (IC 95% 98-145) (*fig. IV.3.8*).

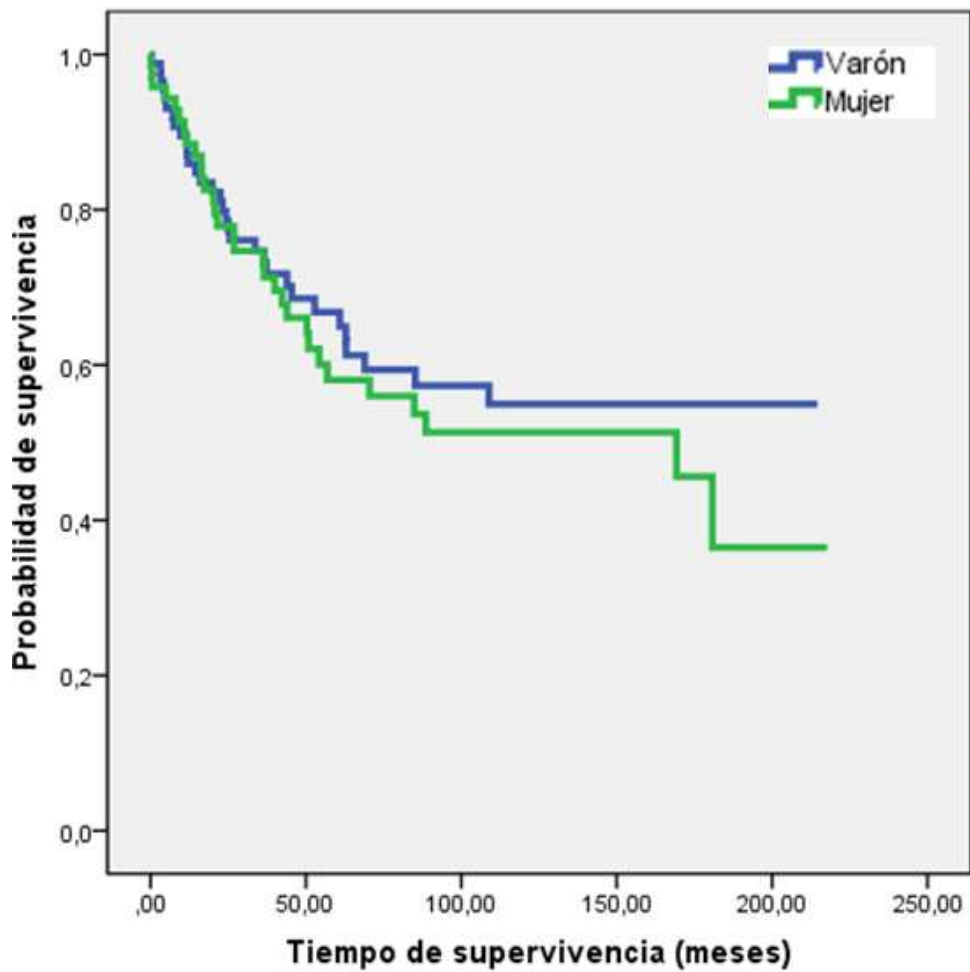


Figura IV.3.8. Supervivencia global específica y sexo.

SGE y tipo histológico- No encontramos diferencias significativas entre la supervivencia global específica y el tipo histológico en nuestro estudio. La supervivencia media estimada de los pacientes con CCR tipo intestinal fue de 130 meses (IC 95% 113-148); y la de los pacientes con CCR tipo mucinoso fue ligeramente inferior, 102 meses (IC 95% 70-134). (fig. IV.3.9).

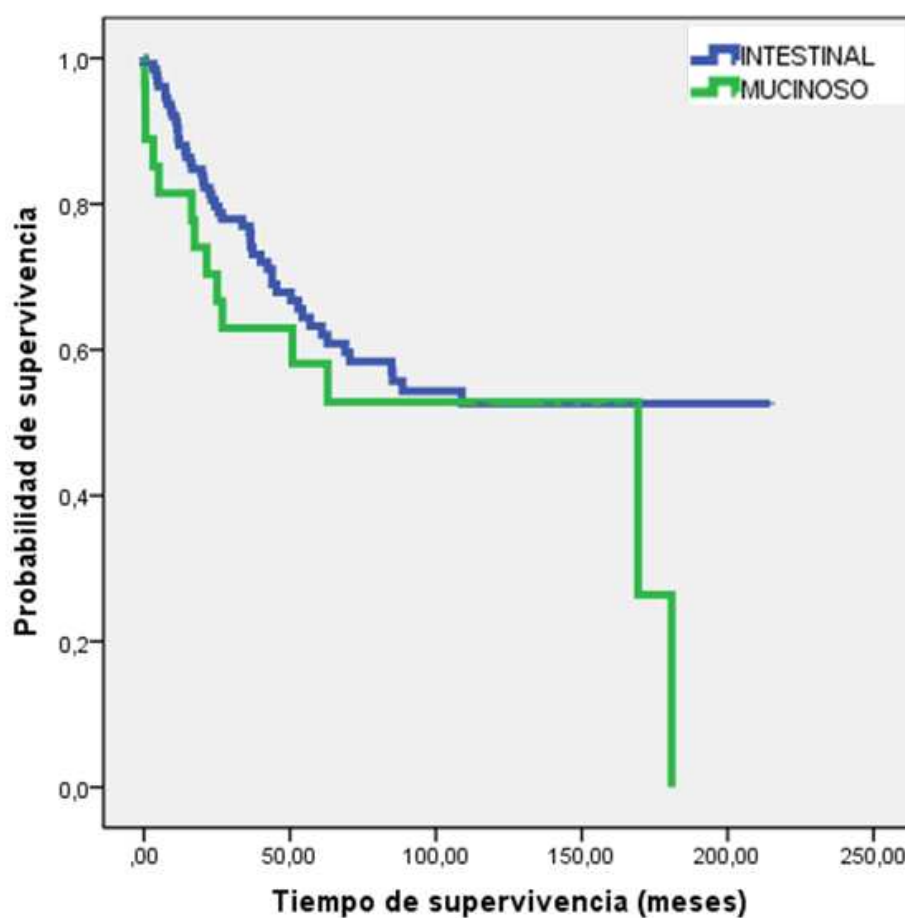


Figura IV.3.9. Supervivencia específica y tipo histológico.

SGE y extensión tumoral- Observamos una clara relación, estadísticamente significativa ($p < 0.000$), entre la extensión tumoral en el momento del diagnóstico y la supervivencia de los pacientes. Se evidenció una supervivencia global específica muy inferior en los pacientes con enfermedad diseminada, con una media de 38 meses (IC 95% 15-62); frente a los 158 meses (IC 95% 138-179) de los pacientes con enfermedad localizada. Los pacientes con enfermedad con extensión regional presentaron una supervivencia media estimada de 109 meses (IC 95% 84-134). A los 100 meses del diagnóstico la probabilidad de supervivencia de los pacientes con enfermedad diseminada es inferior al 10%, y es superior al 70% en aquellos que presentan sólo extensión local (*fig. IV.3.10*).

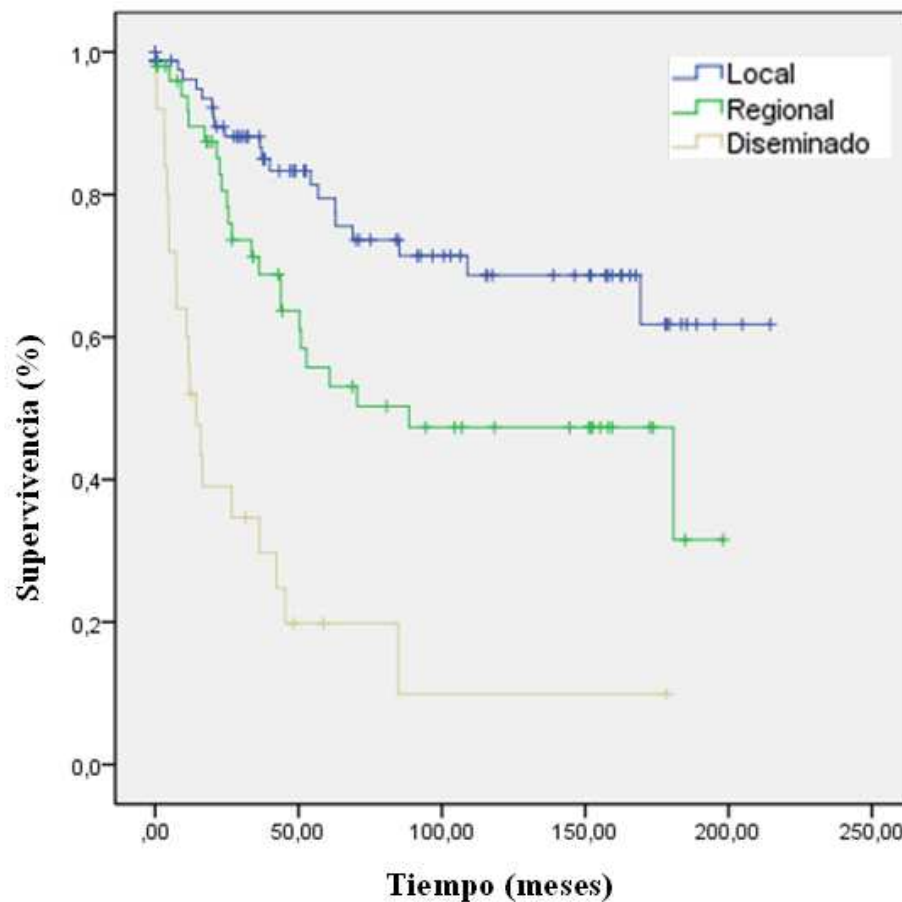


Figura IV.3.10. Supervivencia global específica y extensión tumoral.

SGE y localización tumoral- En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre la localización anatómica y la supervivencia. La localización con la supervivencia media estimada mayor fue el recto, con 131 meses (IC 95% 98-163); y la localización con menor supervivencia, colon derecho con 115 meses (IC 95% 90-139). A los 100 meses de seguimiento, la localización con mayor probabilidad de supervivencia fue colon transverso, con > 70%. (fig. IV.3.11).

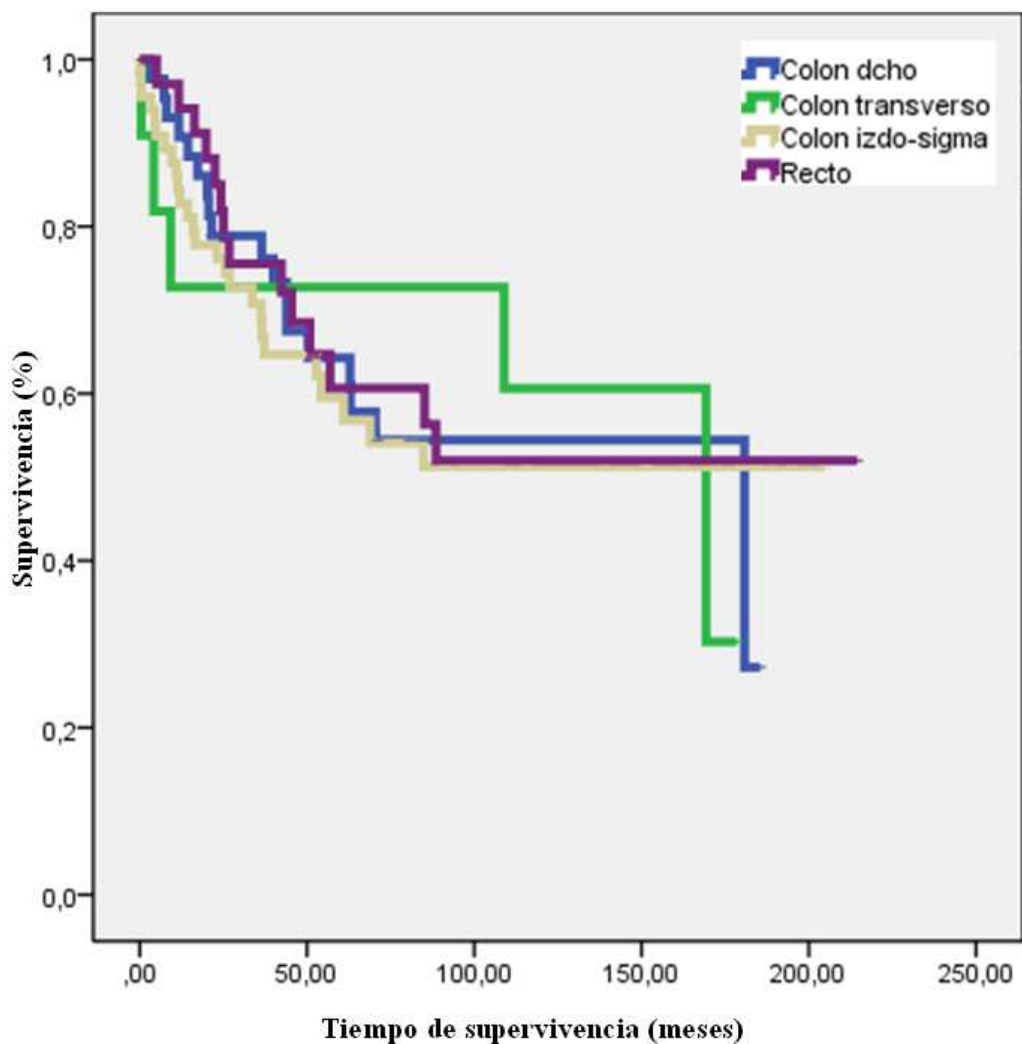


Figura IV.3.11. Supervivencia específica y localización anatómica.

SGE y estadio tumoral- Encontramos diferencias significativas entre el estadio tumoral y la supervivencia global ($p=0.000$). Los pacientes en estadio IV presentaron una supervivencia media estimada de 44 meses (IC 95% 12-76); muy inferior a la de los pacientes de estadio I, 105 meses (IC 95% 105-167). Los pacientes con mejores datos de supervivencia global fueron los que presentaban estadio II, que alcanzaron 168 meses de supervivencia media (IC 95% 149-186). A los 100 meses del diagnóstico la probabilidad de supervivencia en los pacientes de estadio IV es del 15%, frente al casi 80% de los del grupo II. (fig. IV.3.12).

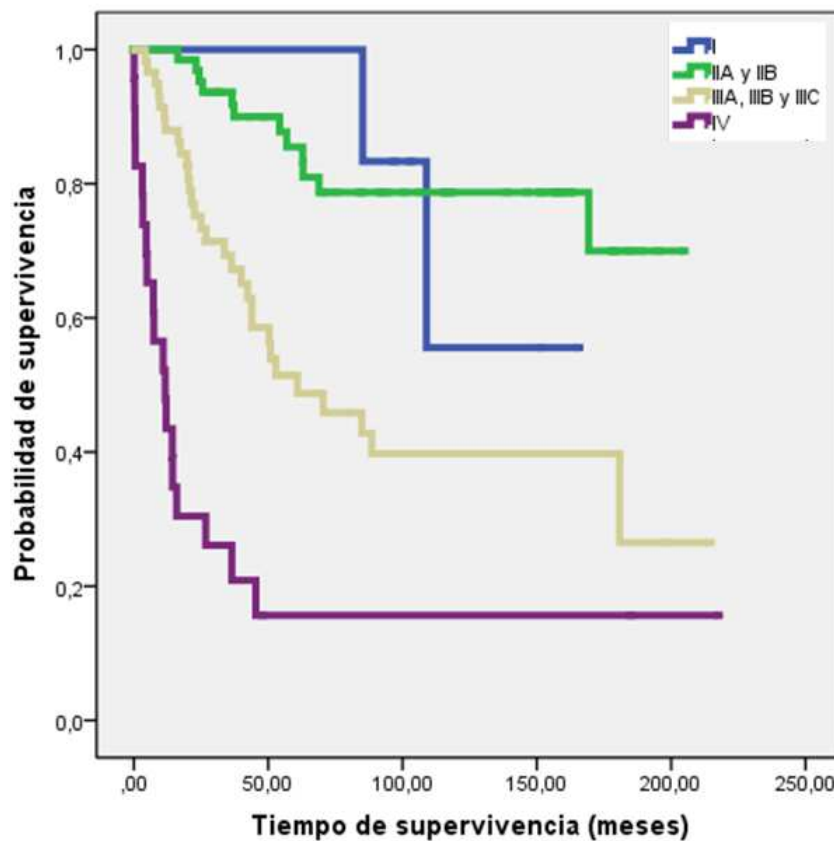


Figura IV.3.12. Supervivencia global específica y estadio tumoral.

SGE y afectación- ganglionar- Los pacientes con ganglios linfáticos negativos de nuestro estudio, presentaron mejores datos de supervivencia que los pacientes con afectación ganglionar ($p0.000$). Los pacientes sin afectación ganglionar presentaron una supervivencia media de 164 meses (IC 95% 146-182); mientras que los pacientes con ganglios positivos mostraron una supervivencia media de 88 meses (IC 95% 66-109) (*fig. IV.3.13*).

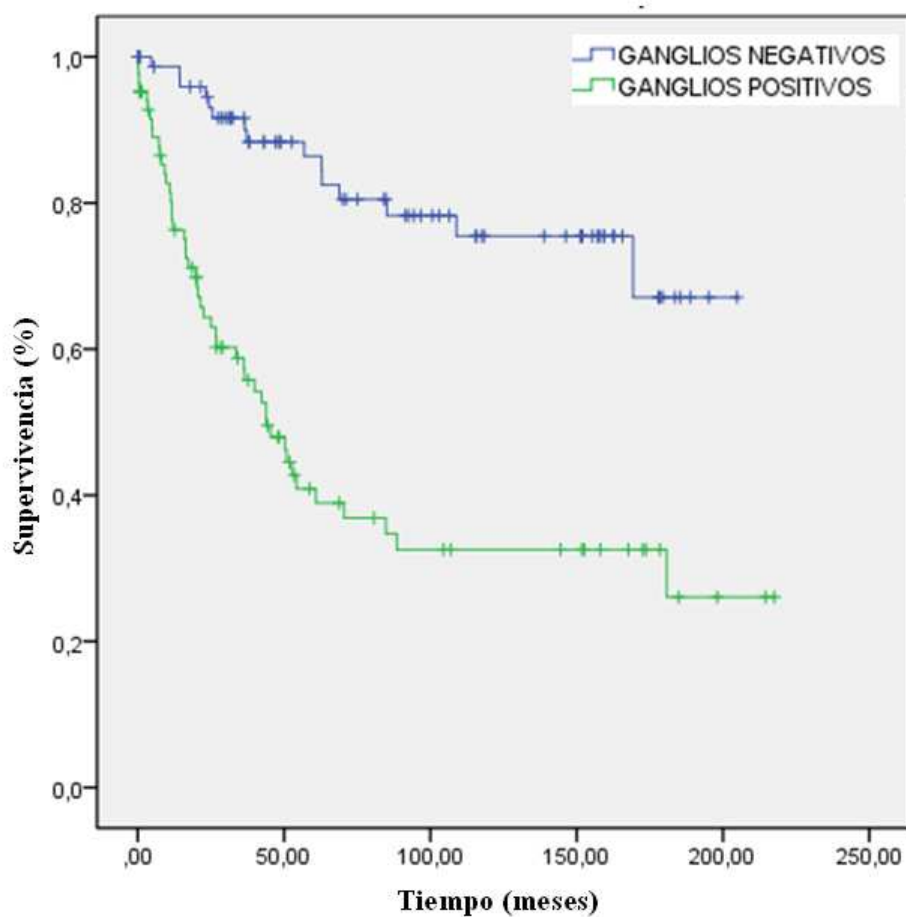


Figura IV.3.13. Supervivencia global específica y afectación ganglionar.

SGE y ausencia o presencia de recidiva- También obtuvimos diferencias significativas entre la supervivencia y la presencia o ausencia de recidiva. Los pacientes con recidiva muestran una supervivencia media estimada de 74 meses (IC 95% 56-93); y los que no presentan recidiva tienen una supervivencia media estimada de 172 meses (IC 95% 154-169). A los 100 meses de seguimiento la probabilidad de supervivencia en el grupo con recidiva es del 20%, y del 80% en los que no presentan recidiva (fig. IV.3.14).

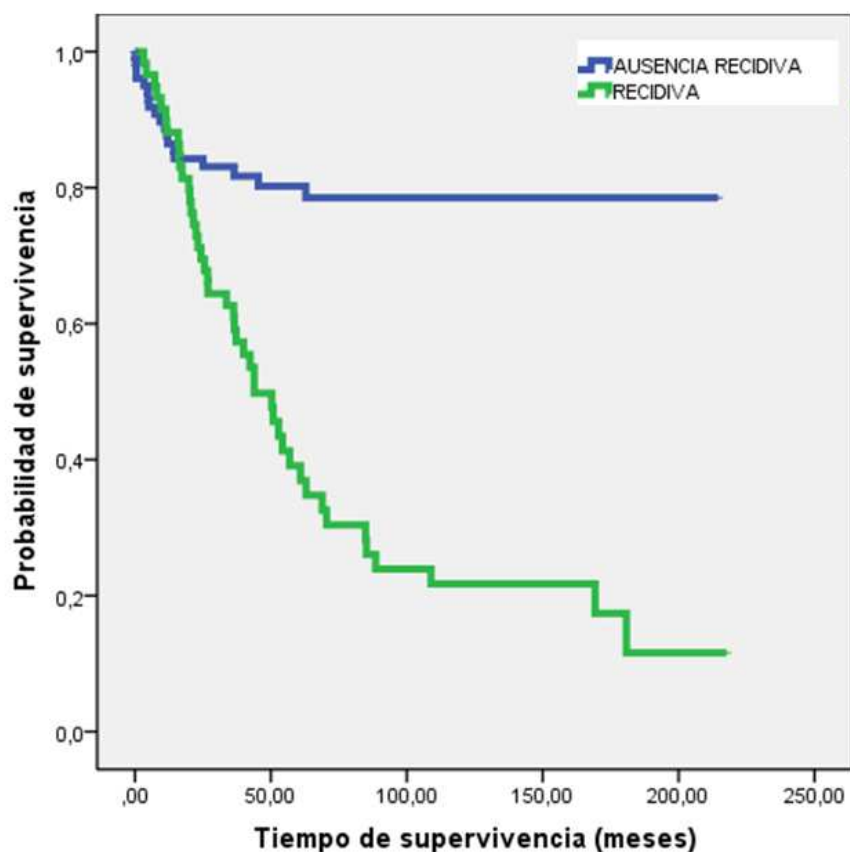


Figura IV.3.14. Supervivencia global específica y recidiva tumoral.

3.6 Relación entre SGE y marcadores de proliferación y control del ciclo celular

SGE y positividad de p53 en compartimentos superficial y profundo- No encontramos diferencias significativas entre la supervivencia global específica y la expresión o no de p53. La supervivencia media estimada de los pacientes con expresión de p53 a nivel superficial fue de 129 meses (IC 95% 110-149); y la de los pacientes sin expresión de p53 a nivel superficial fue de 118 meses (IC 95% 92-145). A nivel profundo, los pacientes con expresión de p53 presentaron una supervivencia media de 136 meses (IC 95% 115-157); superior a la de los pacientes que no expresaron p53, que presentaron una supervivencia media estimada de 105 meses (IC 95% 82-128). A los 8 años de seguimiento, la probabilidad de supervivencia de los pacientes con expresión de p53 se aproximó al 60%, mientras que la de los pacientes p53 negativos no alcanzaba el 50% (*fig. IV.3.15*).

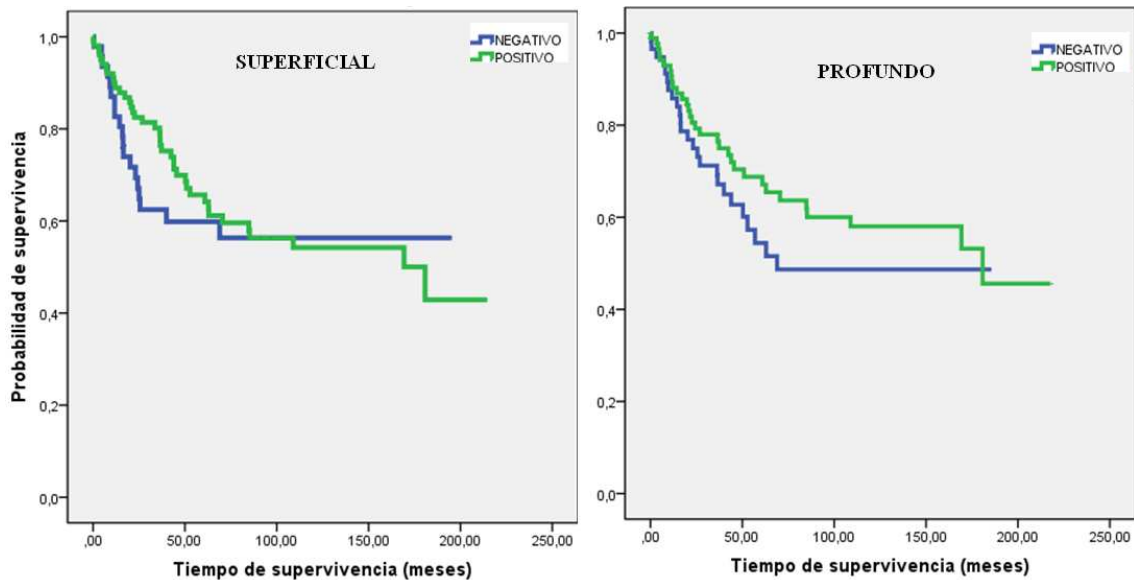


Figura IV.3.15. Supervivencia específica y positividad para p53 en compartimentos superficial y profundo.

SGE y expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo- La supervivencia media estimada para los pacientes con p53 < 30% en el compartimento superficial fue de 124 meses (IC 95% 103-146); ligeramente inferior a la del grupo de pacientes con p53 > 30% en el compartimento superficial, que fue de 131 meses (IC 95% 107-154). A los 108 meses de seguimiento, la probabilidad de supervivencia en los pacientes con p53 < 30% es del 56%, y del 50% en los que presentan valores de p53 > 30%. En el compartimento profundo obtuvimos una supervivencia media estimada similar para los pacientes de ambos grupos, 124 meses (IC 95% 99-149) para los que presentan p53 > 30%; y 121 meses (IC 95% 102-139) para los pacientes con p53 < 30%. A los 108 meses de seguimiento, la probabilidad de supervivencia es mayor para los pacientes con p 53 < 30% con el 57%, frente al 48 % de probabilidad de supervivencia entre los pacientes con p53 > 30% en el compartimento profundo. (fig. IV.3.16).

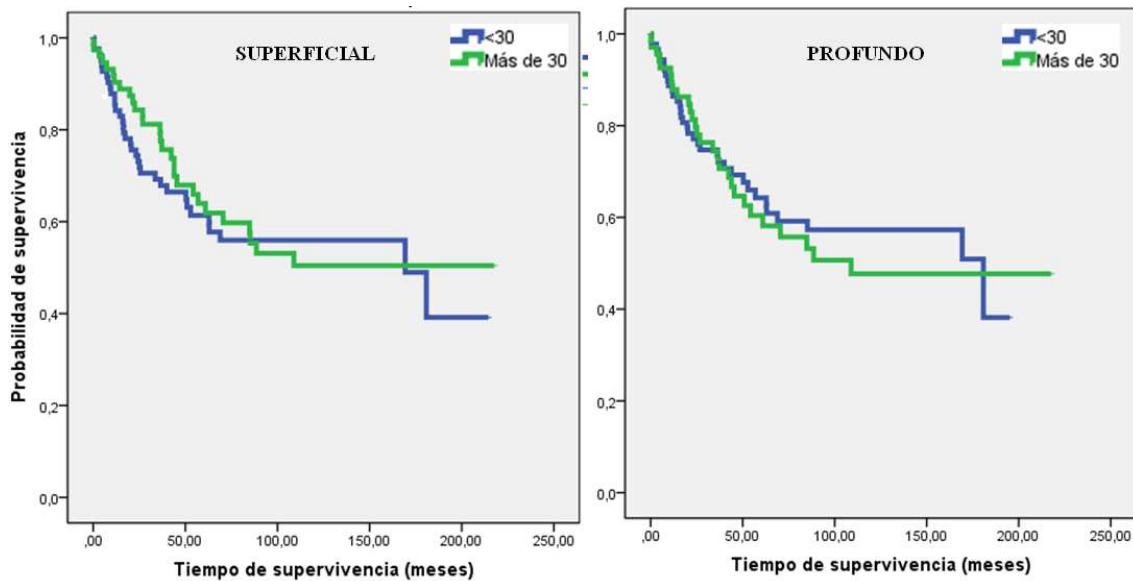


Figura IV.3.16. Supervivencia global específica y expresión de p53 en compartimentos superficial y profundo.

SGE y expresión de ki-67 en compartimentos superficial y profundo- La supervivencia media estimada de los pacientes con valores de ki67 < 20% en el compartimento superficial, fue de 133 meses (IC 95% 108-157). Los pacientes con ki67 > 20% mostraron una supervivencia media inferior con 124 meses (IC 95% 103-145). Los pacientes con valores de ki67 > 20% y < 20% en el compartimento profundo, mostraron una supervivencia media estimada de 122 meses (IC 95% 100-144), y 125 meses (IC 95% 104-146), respectivamente (*fig. IV.3.17*). Estos datos no mostraron significación estadística.

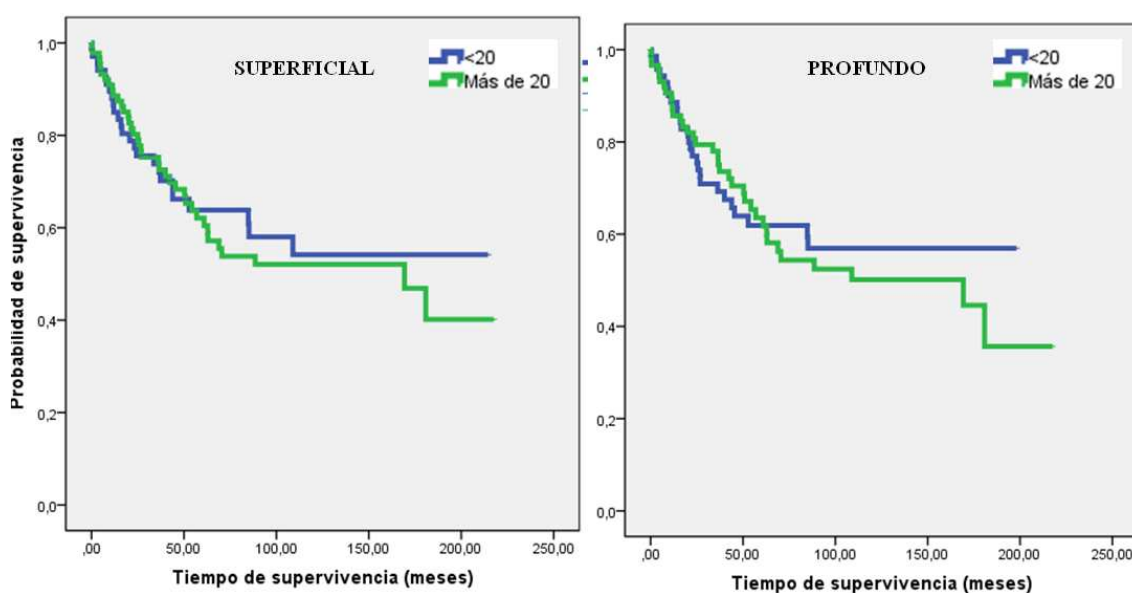


Figura IV.3.17. Supervivencia global específica y expresión de ki67 en compartimentos superficial y profundo.

V. DISCUSIÓN

El CCR es una neoplasia muy frecuente, supone casi el 10% de todos los tumores a nivel mundial, y en la práctica clínica habitual, el plan terapéutico y el pronóstico del CCR se suelen establecer sólo en virtud del estadio de extensión de la enfermedad; sin tener en consideración los factores independientes del tiempo de evolución, que definen las características patobiológicas del tumor y que se corresponden con su agresividad intrínseca.

Actualmente el estadio sigue siendo el principal factor pronóstico, pero se sabe que los pacientes en el mismo estadio muestran pronósticos muy distintos, con una supervivencia entre 40-60% a los 5 años para los pacientes en estadio II; lo que ha llevado a buscar nuevos factores pronósticos que permitan definir subgrupos de pacientes dentro del mismo estadio susceptibles de recibir tratamientos distintos; y entre esos posibles factores pronósticos se encuentran el grado histológico y los marcadores de proliferación y control del ciclo celular.

Muchos son los estudios que se han realizado sobre el valor pronóstico del grado histológico en el CCR, y muy variados han sido los resultados. Las principales diferencias entre los resultados obtenidos se deben en parte a los distintos sistemas utilizados para la valoración del grado histológico. Y aunque se acepta que el grado histológico tiene significación pronóstica, principalmente cuando se usa la clasificación en dos categorías, alto y bajo grado; la verdad es que en la actualidad no existe un método estandarizado para la valoración del mismo. Y esta falta de estandarización se debe a la subjetividad y dificultad para encontrar un sistema reproducible con significación pronóstica.

Desde la primera clasificación de Broders en 1925, han sido incontables las nuevas modificaciones y clasificaciones que han ido surgiendo, sin que ninguna destaque sobre las otras. La mayoría de los sistemas divide los CCR en 3 o 4 grados, y se basan en criterios puramente arquitecturales, siendo el porcentaje de formación glandular el criterio básico. En los sistemas de clasificación con tres opciones: bien, moderado y pobremente diferenciado; la mayoría de los casos se agrupan en la categoría intermedia, reduciendo casi a la inexistencia a las otras dos.

A medida que han ido aumentando los sistemas propuestos, se han ido haciendo más complejos, como el sistema de puntuación de Grinnel que usó 4 parámetros: la formación glandular, el número de mitosis, la polaridad nuclear y la presencia de fibrosis; o el posterior de Jass, que también combinó un complicado sistema de parámetros, entre los que incluía el tipo histológico, la características nucleares y el infiltrado linfocitario. Estos sistemas comparten entre sí, además de su complejidad, el no poder ser aplicados a biopsias endoscópicas, ya que valoran aspectos como el tipo de frente de infiltración.

La mayoría de estudios que señalan el grado histológico como factor pronóstico, son más simples, y son aquellos en los que el número de grados es reducido a dos categorías. Y quizás estos resultados se deban a que estos sistemas tienen mayor reproducibilidad interobservador, el criterio a seguir para la estratificación en dos grados se limita a la formación de glándulas, siendo considerados de bajo grado aquellas neoplasias con > 50% de formación glandular, y de alto grado cuando la diferenciación glandular está por debajo del 50%. Por su valor pronóstico, relativa simplicidad y reproducibilidad, este sistema es el recomendado por el Colegio Americano de Patólogos.

En nuestro intento de encontrar un sistema de gradación histológica con significación pronóstica, hemos incluido la novedad de valorar dos compartimentos distintos de un mismo tumor, dada la conocida heterogeneidad de esta neoplasia. Con el estudio de los dos compartimentos, superficial e infiltrante, intentamos conocer las posibles diferencias, a nivel histológico y biomolecular, y la implicación que de existir estas diferencias, este hecho podría tener en la valoración del grado histológico o de marcadores de proliferación y control del ciclo celular en las biopsias endoscópicas. Hemos seleccionado el compartimento superficial porque es el que solemos valorar en las biopsias preoperatorias, y el compartimento profundo, porque según los estudios previos el tumor presenta en esta zona menor diferenciación y distinta expresión de marcadores biomoleculares.

Además de este estudio comparativo de los dos compartimentos de un mismo tumor, hemos diseñado un nuevo sistema para calcular el grado histológico sumatorio, uniendo los patrones arquitecturales de ambos compartimentos. El uso de gradaciones histológicas sumatorias se ha usado con anterioridad tanto en colon, como demuestran los estudios mencionados previamente; como en otras localizaciones, como la conocida y muy usada clasificación de Nottingham para el cáncer de mama. Pero estos sistemas de clasificación sumatorios comparten entre sí que suman distintos parámetros histopatológicos de una misma localización tumoral, como el grado arquitectural, el grado nuclear, el número de mitosis, etc. Nuestro sistema, en este sentido, comparte más características con el sistema de gradación de Gleason para el cáncer de próstata, ya que sólo tiene en cuenta valores arquitecturales, y la suma deriva de la valoración de dos localizaciones distintas de un mismo tumor.

1. Patrones arquitecturales y grado histológico sumatorio

1.1 Patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo y su relación con la supervivencia

En el estudio de patrones arquitecturales en los distintos compartimentos observamos que en el compartimento superficial la mayoría de los casos, el 72% mostró patrones de bajo grado, mientras que a nivel profundo el porcentaje disminuye al 50%. El patrón mejor diferenciado, el patrón 1, fue el menos frecuente en el compartimento profundo, con sólo un 2%, frente al 12% de casos de patrón 1 en el compartimento superficial. Encontramos diferencias significativas entre los patrones arquitecturales y los compartimentos de un mismo tumor, hasta el 57% de los tumores que presentan alto grado a nivel profundo muestran patrones de bajo grado a nivel superficial. Estos datos coinciden con lo aportado por estudios previos que sostienen que la distribución y diferenciación de las células de un tumor no es uniforme y en general son menos diferenciadas en el plano invasor que en el superficial.

Al relacionar los datos de supervivencia con los patrones arquitecturales en el compartimento superficial obtenemos que la media de supervivencia de los pacientes con patrón más indiferenciado fue muy inferior (7.4 años), frente a la de

los pacientes de patrón 1 que presentaron una supervivencia media de 11 años. Estos datos coinciden con los estudios que apoyan el valor pronóstico adverso de los tumores indiferenciados, pero no obtuvimos significación estadística en nuestra serie para estos parámetros. En el compartimento profundo, los pacientes con peor pronóstico en cuanto a supervivencia fueron también los del patrón arquitectural más indiferenciado, con 6.2 años de supervivencia media, mientras que los pacientes con patrón 2 presentaron una supervivencia de 11 años. En el compartimento profundo, los pacientes con patrón arquitectural 1 mostraron cifras de supervivencia inferiores a los de patrón 2 y 3, pero creemos que este dato es poco valorable dado el escaso número de pacientes en esta categoría (solo 4). Cuando agrupamos los patrones arquitecturales en dos categorías, de alto y bajo grado, observamos que a nivel superficial los pacientes con pBG presentan mejor supervivencia media con 11.2 años frente a los 9.1 años de los pacientes con pAG; y esto se mantiene a nivel profundo, aunque las diferencias son menores, 10.6 años a 10.2 años, y en ninguno de los compartimentos obtenemos significación estadística para estos parámetros.

1.2 Grado histológico sumatorio y supervivencia

Al aplicar la fórmula para obtener el grado sumatorio, a partir de estos patrones arquitecturales, observamos que la mayoría de los casos se agrupan en los valores 4, 5 y 6. El 34.7% de los casos mostró un grado sumatorio valor 4; el segundo más frecuente fue el valor 5 con el 28.2% de los casos; los valores 2, 7 y 8 sólo se evidenciaron en aprox. 2 % de los casos. Para facilitar la relación del grado sumatorio con otras variables hemos realizamos una división en dos grandes grupos, denominados NAG y AG, con 79 y 90 pacientes respectivamente.

En nuestro estudio no hemos obtenido diferencias significativas entre el grado histológico sumatorio y la supervivencia específica de los pacientes, obteniendo mejores datos globales de supervivencia los pacientes con grado sumatorio de alto grado. Los pacientes del grupo NAG mostraron una supervivencia media de 10.3 años, frente a los 10.6 años del grupo AG. A los 9 años de seguimiento, la probabilidad de supervivencia de los pacientes del grupo de AG es del 51%,

frente a los del grupo NAG que muestran una probabilidad de supervivencia para ese periodo ligeramente superior (58%).

El hecho de que los pacientes con patrones de bajo grado, tanto a nivel superficial como profundo, presenten mejores datos de supervivencia que los pacientes con patrones de alto grado, y que esto no ocurra con los pacientes con grado sumatorio NAG puede deberse a que al establecer el grado sumatorio, no estamos valorando el menos diferenciado, y dada la heterogeneidad de estos tumores, al sumar el patrón arquitectural del componente superficial, que ya hemos visto que es menos indiferenciado, hayamos incluido en el grupo NAG a tumores que presentan patrones indiferenciados a nivel profundo. Por ejemplo, una neoplasia con un patrón superficial muy bien diferenciado (valor 1), y un patrón arquitectural a nivel profundo de alto grado (valor 3), obtiene un grado sumatorio valor 4 que la incluye en el grupo NAG.

1.3. Patrones arquitecturales y grado sumatorio en relación a parámetros clínicos

En cuanto a la relación con parámetros clínicos como la edad y el sexo, en nuestro estudio hemos observado que los pacientes < 50 años muestran en el compartimento profundo mayor número de patrones de alto grado (59%). No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre los grupos de edad y el grado histológico sumatorio, pero observamos un mayor número de casos de alto grado entre los pacientes menores de 50 años, y mayores de 70.

En relación a la supervivencia, el grupo de pacientes menores de 50 años mostró peor pronóstico, con una supervivencia media estimada de 49 meses menos que el grupo de edad entre 50 y 70 años. Este resultado coincide con lo evidenciado en estudios previos, que otorgan a los menores de 50 años un peor pronóstico, y lo atribuyen a diversos factores como la presencia de neoplasias menos diferenciadas, el retraso en el diagnóstico, o la asociación a EII o síndromes familiares.

En relación al sexo, no observamos diferencias significativas en los patrones arquitecturales, pero se evidenció un mayor número de patrones de alto grado en

las mujeres en el compartimento profundo, que se puso de manifiesto también en un mayor número de casos de AG en el grado histológico sumatorio. En cuanto a la supervivencia, las mujeres presentaron una media estimada de supervivencia de 10.1 años, y los hombres de 11 años, no siendo este resultado estadísticamente significativo.

En cuanto a la localización anatómica, la distribución de nuestros pacientes coincide con la distribución habitual, la mayoría de los casos (42.6%) se localizaron en colon izquierdo-sigma; la segunda localización más frecuente fue colon derecho (28.4%); y la menos frecuente colon transversal (7.4%). Al estudiar los patrones arquitecturales a nivel superficial y profundo, en relación con la localización, hemos encontrado diferencias significativas ($p < 0.03$), tanto a nivel superficial como profundo, observando que los tumores localizados en CT presentaron patrones de alto grado, con patrones 3 y 4; mientras que los localizados en colon derecho y sigma presentaron mayoritariamente patrón 2. En los tumores localizados a nivel rectal, observamos que en el compartimento superficial estas neoplasias muestran predominantemente patrón 2, mientras que en profundidad predomina el patrón 3. Al dividir los patrones arquitecturales en dos categorías, pBG y pAG, observamos también diferencias significativas ($p < 0.01$), los tumores localizados en CT muestran patrones de alto grado en ambos compartimentos, en el 63% y 87% de los casos respectivamente; mientras que los tumores localizados en CI-S presentaron patrones de bajo grado en el 76% y 60%. A nivel rectal se observaron las mayores diferencias entre el compartimento superficial y profundo, mostrando en el primero patrones de alto grado en el 28%, y en el compartimento profundo en el 63%.

En relación con el grado histológico sumatorio no obtuvimos diferencias significativas, pero también observamos un predominio de tumores de alto grado en CT, y en recto. En estas localizaciones el porcentaje de casos AG frente a NAG fue de 83 a 17% y 63 a 37%, respectivamente.

En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre la localización anatómica y la supervivencia. La localización con mejor pronóstico fue el recto, con una media estimada de 10.9 años de supervivencia; y mostraron peor pronóstico los tumores localizados en colon derecho con 9.6 años de supervivencia media.

1.4 Patrones arquitecturales y grado sumatorio en relación a parámetros histopatológicos

En cuanto al tipo histológico asignado en el momento del diagnóstico, más del 80% de los casos de nuestro estudio se catalogaron como CCR de tipo intestinal; y el 15%, como CCR de tipo mucinoso; sólo 2 casos presentaron morfología de células en anillo de sello, y para su estudio estadístico estos fueron incluidos dentro del grupo de mucinosos. Los tumores de tipo intestinal mostraron en el compartimento superficial predominantemente patrones de bajo grado, con un incremento considerable de patrones del alto grado en compartimento profundo. Entre los de tipo mucinoso se evidenció también esta tendencia a mostrar patrones de alto grado a nivel profundo. A nivel superficial los mucinosos mostraron mayor porcentaje de patrones de alto grado que los de tipo intestinal (29 a 27%), pero esta relación se invierte a nivel profundo, donde la proporción de patrones de alto grado frente a no alto grado es mayor en los de tipo intestinal (52 a 44%).

En relación con el grado histológico sumatorio observamos un mayor porcentaje de casos de alto grado en los de tipo intestinal, frente a los mucinosos, pero no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas.

En relación a la supervivencia, los pacientes con CCR de tipo mucinoso de nuestro estudio mostraron una media estimada ligeramente inferior a la de los pacientes con CCR de tipo intestinal, pero sin alcanzar cifras estadísticamente significativas, que nos permitan afirmar que los de tipo mucinoso presentan peor pronóstico.

Según la clasificación de grado histológico histórico en tres categorías usada en el momento del diagnóstico, aprox. el 60 % de los CCR de nuestro estudio fueron catalogados como moderadamente diferenciados, 15 % se clasificaron como bien diferenciados, y el 23% como pobremente diferenciados. Al comparar nuestros patrones arquitecturales con este grado histológico observamos que el 100% de los casos diagnosticados como pobremente diferenciados mostraron a nivel superficial patrón 4; pero a nivel profundo este porcentaje fue del 66.7%. El grupo de tumores con grado histológico bien diferenciado mostró patrón 2 en el 70% de los casos a nivel superficial y en el 52% de los casos a nivel profundo. El grupo de pacientes con carcinomas moderadamente diferenciados mostraron a nivel

superficial patrón 2 en el 63% de los casos y patrón 3 en el 27%. A nivel profundo, estos mismos pacientes mostraron patrón 3 en el 52% de los casos.

En cuanto al grado histológico sumatorio observamos que curiosamente, el 75% de los casos con grado sumatorio 2 (el grado más bajo), fueron catalogados como pobremente diferenciados. La mayoría de las neoplasias de los grupos con grado sumatorio 3, 4, 5 y 6, fueron etiquetados como moderadamente diferenciados en el 53%, 65%, 63% y 75% de los casos, respectivamente. El 75% de los tumores del grado sumatorio 7 habían sido catalogados como pobremente diferenciados, y el 100% de los tumores con grado sumatorio 8 también correspondían a esa categoría. Estos datos coinciden con lo observado en estudios previos, en los que la concordancia interobservador es mayor al valorar casos menos diferenciados.

En cuanto al tamaño tumoral, la valoración del mismo se realizó utilizando los datos recogidos en el informe del estudio macroscópico de la pieza. El 68% de los pacientes presentó un tamaño tumoral superior a 5 cm. Obtuvimos diferencias significativas entre el tamaño tumoral y los patrones arquitecturales en compartimentos superficial y profundo ($p < 0.02$). Los tumores de mayor tamaño mostraron patrones menos diferenciados que los tumores < 5 cm. Ningún tumor inferior a 5 cm mostró patrón arquitectural 4, en el compartimento superficial, y casi de la mitad de los tumores > 5 cm (47.8%) presentó patrón 3. Al dividir los patrones arquitecturales en dos categorías ($p < 0.01$) observamos que más del 80% de los tumores menores de 5 cm muestran patrones de bajo grado. Y más del 80% de los tumores con patrones de alto grado a nivel superficial, y 73% a nivel profundo, miden más de 5 cm.

Pero no obtenemos significación estadística al comparar el tamaño tumoral con el grado histológico sumatorio, aunque si se observa un ligero predominio de AG frente a NAG en los tumores de más de 5 cm (57 a 43%).

La valoración del estadio tumoral de los casos de nuestro estudio según las clasificaciones de TNM, Astler/Coller y Dukes del momento del diagnóstico, mostró un mayor porcentaje de casos en estadio II. Al comparar el estadio tumoral con los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos, a diferencia de lo observado en otros estudios, no obtuvimos diferencias significativas. Los pacientes con estadio I, muestran patrones de bajo grado a nivel superficial en el 86% de los

casos, y a nivel profundo en el 57%. El 80% de los tumores en estadio II presentan patrones de bajo grado a nivel superficial, pero a nivel profundo sólo el 50% de los tumores en dicho estadio presentan patrones de bajo grado. Los tumores en estadio III muestran a nivel profundo patrones de alto grado en el 56%.

En relación con el grado histológico sumatorio, los pacientes en estadio I mostraron mayor proporción de casos NAG frente a AG (57 a 43%). Los pacientes en estadios II, III y IV mostraron más casos de AG que NAG (52% 58% y 54% respectivamente), sin obtener significación estadística.

En nuestro estudio observamos diferencias significativas, entre el estadio tumoral y la supervivencia específica ($p < 0.000$). Los pacientes en estadio IV presentaron una supervivencia media estimada de 3.6 años; muy inferior a la de los pacientes de estadio I, 8.7 años. Los pacientes con mejores datos de supervivencia global fueron los que presentaban estadio II, que alcanzaron 14 años de supervivencia media. A los 8 años de diagnóstico la probabilidad de supervivencia en los pacientes de estadio IV es del 15%, frente al casi 80% de los del grupo II.

En cuanto a la extensión tumoral de la enfermedad en nuestro estudio, más del 50% de los casos presentó extensión local y el 15.6 % presentaba extensión diseminada en el momento del diagnóstico. El resto mostró extensión regional. Con respecto a los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos, observamos que entre el grupo de pacientes con extensión local, el 66% de los casos muestran patrón 2 a nivel superficial. En el grupo de pacientes con enfermedad diseminada, en el compartimento superficial el 48% muestra patrón 2 y el 40% patrón 3; mientras que a nivel profundo los pacientes con enfermedad diseminada muestran en el 52% de los casos patrones de alto grado. Al dividir los patrones arquitecturales en dos categorías (pBG y pAG), obtenemos significación estadística ($p < 0.01$) en relación a la extensión tumoral. A nivel superficial los pacientes con enfermedad local mostraron patrones de bajo grado en el 81% de los casos, y los pacientes con enfermedad diseminada presentaron patrones de bajo grado en el 52%. En el compartimento profundo los pacientes con enfermedad diseminada presentaron patrones de alto grado en el 60% de los casos. Estos resultados coinciden con los publicados en estudios previos, en los que se evidencia relación entre grado histológico y extensión del tumor.

Pero no observamos diferencias significativas entre la extensión tumoral y el grado histológico sumatorio. Los pacientes con enfermedad diseminada muestran un porcentaje de casos de AG frente a NAG de (64 a 36%), mayor que el de los pacientes con enfermedad con extensión local y regional, pero en los tres grupos obtenemos mayor número de casos de AG frente a NAG.

En cuanto a la supervivencia, obtenemos resultados estadísticamente significativos ($p < 0.000$). Los pacientes con enfermedad diseminada presentaron una supervivencia media de 3.1 años, muy inferior a la de los pacientes con enfermedad localizada que alcanzaron los 13 años de supervivencia.

En relación a la afectación ganglionar, no obtuvimos diferencias significativas. La presencia de ganglios positivos fue más frecuente en los tumores con patrones de alto grado, evidenciándose en el 62% de los casos de alto grado a nivel superficial, y en el 54% de los tumores de alto grado a nivel profundo. El grado histológico sumatorio tampoco mostró relación significativa con la presencia de ganglios positivos. Los tumores de alto grado mostraron afectación ganglionar en el 53% de los casos, y los pacientes del grupo NAG mostraron afectación ganglionar en el 50%.

En cuanto a la supervivencia específica y la afectación ganglionar, los pacientes con ganglios linfáticos negativos de nuestro estudio, presentaron mejores datos de supervivencia que los pacientes con afectación ganglionar ($p < 0.000$). Los pacientes sin afectación ganglionar presentaron una supervivencia media de 13 años; mientras que los pacientes con ganglios positivos mostraron una supervivencia media de 7.3 años.

En relación a la presencia de recidiva el 63 % de los pacientes de nuestro estudio no presentaron recidiva de ningún tipo; pero el 37% recidivó, con un 26% de recidiva en órganos. Al comparar la presencia o ausencia de recidiva con los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos observamos que el grupo de pacientes que no recidiva, muestra tanto en el compartimento superficial como profundo predominantemente patrón 2. Pero en el grupo de pacientes que presentan recidiva, tanto ganglionares como en órganos, se observa que en el compartimento profundo muestran con mayor frecuencia patrones del alto grado.

En relación al grado histológico sumatorio, en el grupo de pacientes que recidivan el número de casos con grado sumatorio de AG es superior al de NAG (54 a 46%); en el grupo de pacientes que no recidivan el número de casos AG también es superior al de NAG pero con una diferencia ligeramente menor (53 a 47%). Si limitamos el número de pacientes que recidivan a aquellos que lo hacen en órganos (eliminando las recidivas a nivel locoregional) observamos que la proporción de casos AG en este grupo es mucho mayor (60 a 40%), pero no obtenemos resultados estadísticamente significativos.

En cuanto a la supervivencia se evidencian diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.000$). Los pacientes con recidiva muestran una supervivencia media estimada de 6.1 años; y los que no presentan recidiva tienen una supervivencia media estimada de 14 años.

En cuanto al resto de parámetros histopatológicos estudiados: frente de infiltración, inflamación peritumoral, mucina, patrón cribiforme y necrosis; no observamos diferencias estadísticamente significativas en relación a los patrones arquitecturales y el grado histológico sumatorio. Sólo observamos relación estadísticamente significativa con la presencia de desmoplasia ($p < 0.04$), que se evidenció de forma más frecuente en tumores con patrones arquitecturales y grado histológico sumatorio de alto grado. Estos datos coinciden con los de estudios previos en los que la presencia de desmoplasia se ha asociado a grado histológico menos diferenciado.

En conclusión, en nuestra serie hemos encontrado diferencias significativas en la distribución del grado histológico de un mismo tumor en distintos compartimentos, evidenciándose patrones de mayor grado en la zona profunda, coincidiendo con lo publicado anteriormente. Y al estudiar los patrones arquitecturales de los compartimentos, hemos encontrado relación estadísticamente significativa con distintos parámetros clínicos e histopatológicos, como la localización anatómica, el tamaño tumoral y la extensión de la enfermedad. Sin embargo, no hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre el grado histológico sumatorio y ninguno de los parámetros estudiados, lo que atribuimos al hecho de que al sumar los grados de dos localizaciones distintas en un tumor tan heterogéneo, y luego dividirlo en

categorías de alto y no alto grado, puede hacernos incluir en el segundo grupo a tumores con patrones indiferenciados a nivel profundo, pero muy bien diferenciados en el compartimento superficial.

Una de las principales limitaciones de nuestro estudio es el reducido número de pacientes, para poder valorar el grado sumatorio en sus 7 categorías (del 2 al 8), por lo que sería necesario un estudio con una serie mayor, con suficientes pacientes en cada una de las categorías para conocer el valor pronóstico y predictivo de este grado histológico sumatorio.

2. Estudio IHQ de marcadores de proliferación y control del ciclo celular

La utilización de la inmunexpresión de marcadores tisulares relacionados con la capacidad de proliferación, como ki-67, y el control del ciclo celular, como p53; han ayudado a discernir las vías de carcinogénesis del CCR, intentar predecir su comportamiento biológico, así como a distinguir a los pacientes que se benefician del tratamiento coadyuvante con determinadas terapias.

2.1. Valor pronóstico del estudio de p53

p53 es un gen supresor con una doble acción, por un lado detecta las alteraciones del ADN y detiene el ciclo celular en la fase G1 facilitando así su reparación; y cuando estas alteraciones no son reparables p53 induce a la célula a la apoptosis. Su mutación se relaciona con una sobreexpresión de la proteína codificada por el gen anormal, que puede ser detectada por inmunohistoquímica. La mutación de p53 es la alteración genética más frecuente en las neoplasias, y está presente en el 70-80% de los CCR.

La sobreexpresión de p53 ha sido demostrada en varios estudios como factor pronóstico adverso independiente, asignándole la Categoría IIB AJC. En los estudios realizados hasta ahora no está del todo clara su relación con la localización o diferenciación tumoral; pero sí con la mucosa transicional en el borde tumoral que es siempre negativa.

Diversos estudios apuntan que los pacientes con tumores positivos para p53 muestran estadios mas avanzados, con una mayor incidencia de metástasis ganglionares y hepáticas.

También se le atribuye valor pronóstico en cuanto a la resistencia al tratamiento. Hay estudios que señalan que los pacientes que no expresan p53 se benefician de

la terapia con 5-FU mas Levamisole, mientras que no se benefician aquellos que si expresan p53.

En nuestro estudio el número de casos con expresión positiva de p53, tanto a nivel superficial como profundo, ha sido del 68%, coincidiendo con el porcentaje obtenido por estudios previos ¹⁵⁸.

Los valores obtenidos de p53 han oscilado entre 0-98%, con una ligera diferencia entre el compartimento superficial que mostró un valor medio algo superior, 33.48%, y el compartimento profundo, con un valor medio de 26.92%. La mucosa normal fue en todos los casos negativa para p53, al igual que en todos los estudios previos.

La cuantificación de p53 en ambos compartimentos, superficial y profundo, catalogada como $< 30\%$ o $> 30\%$, mostró que en ambos compartimentos, más del 50 % de los casos presentó niveles bajos de p53. Éste dato difiere con los obtenidos por algunos estudios previos, en los que más de la mitad de los casos positivos mostraban valores de p53 por encima del 50% ¹⁵⁸. En nuestro estudio, el número de casos con valores altos de p53 fue inferior en el compartimento profundo.

En cuanto a la relación entre los valores de p53 y el grado histológico, hemos encontrado en nuestro estudio diferencias significativas con los patrones arquitecturales a nivel superficial, observándose mayor número de casos con p53 $> 30\%$ en los tumores con pAG. Estos datos coinciden con los obtenidos en otros estudios ¹⁶⁰, en los que los valores altos de p53 se relacionaron con tumores menos diferenciados. Pero difieren con los obtenidos en otro estudio ¹⁶² en el que los autores obtienen niveles altos de expresión de p53 en los tumores bien diferenciados, a nivel colónico y rectal. En cuanto a la localización anatómica, en nuestro estudio obtenemos diferencias significativas, observándose mayor número de casos con niveles de p53 $> 30\%$ en CI-S y recto, y un bajo número de casos con p53 $> 30\%$ en CT, tanto a nivel superficial como profundo.

A pesar de las diferencias obtenidas entre el valor de p53 y los patrones arquitecturales, no encontramos significación estadística entre la expresión de p53 y el grado histológico sumatorio. Obteniendo cifras similares de valores de p53 en casos de AG y NAG.

En relación con la supervivencia en nuestro estudio observamos que los pacientes con valores bajos $< 30\%$, tanto en el compartimento superficial como profundo,

muestran una media estimada de supervivencia ligeramente inferior a la de los pacientes con niveles altos de p53. Pero sin alcanzar significación estadística. Estos datos coinciden con los obtenidos en estudios previos^{161 160}, en los que tampoco obtuvieron relación estadísticamente significativa entre los valores de p53 y la supervivencia global, aunque si obtuvieron relación con el intervalo libre de enfermedad, presentando un pronóstico favorable los pacientes que no expresaban p53.

Algunos autores señalan que la mutación de p53 es sólo un escalón más de toda una cadena de eventos moleculares que se producen en la carcinogénesis del CCR, y esto hace que su estudio por separado no muestre datos concluyentes sobre su influencia pronóstica. Además debemos tener en cuenta que la expresión de p53, al igual que otros marcadores, aunque se haya comprobado la validación para el estudio IHQ en matrices de tejido en múltiples estudios¹⁷⁷, puede verse alterada al usar muestras parafinadas archivadas durante cierto tiempo, como se ha señalado en algunos trabajos¹⁷⁸.

2.2 Valor pronóstico del estudio de ki-67

La valoración del porcentaje de células en proliferación dentro de una neoplasia ha sido, y sigue siendo actualmente, objeto de un considerable número de investigaciones.

ki-67 es una proteína nuclear útil para detectar células proliferativas. Aunque los métodos de citometría de flujo muestran que está presente en todas las fases del ciclo celular, excepto en la G0; su detección por métodos de IHQ se limita a fase tardía G1 con máxima expresión en profases y metafases, y sus niveles son aparentemente indetectables durante la interfase. Por esta razón, Ki-67 se reconoce como un indicador de actividad mitótica y proliferativa. El uso del anticuerpo monoclonal MIB-1 que reacciona con este antígeno permite valorar y cuantificar la capacidad proliferativa de los distintos tejidos incluidos en parafina.

En tumores malignos de otra localización, un alto índice de proliferación medido con ki-67, se asocia a un comportamiento más agresivo y peor pronóstico, pero en el CCR la relación entre la proliferación celular y la evolución es incierta, en vista

a los trabajos realizados hasta ahora. Algunos autores han encontrado que los CCR con baja proliferación tienen peor pronóstico, mientras que otros han observado que un alto índice proliferativo predice un pronóstico adverso, y otros estudios no han demostrado correlación entre estos parámetros.

También se han realizado estudios¹⁶⁶ que comparan la expresión de ki-67 en matrices de tejido de la zona tumoral, mucosa adyacente y margen quirúrgico, observándose una expresión decreciente del marcador a medida que nos alejamos del tumor, concluyendo que la valoración de la expresión de estos marcadores puede ayudar a valorar el estado del margen de resección.

En nuestro estudio la valoración de ki-67 en el compartimento superficial mostró valores entre 0 y 95%, con una media de 24.39 %; en el compartimento profundo los valores oscilaron entre 0 y 90% y el valor medio fue ligeramente inferior, 23.90 %. En la mucosa normal los valores oscilaron entre 0 y 38%, con un valor medio de 9.6 %. No encontramos diferencias significativas entre los valores de ki-67 catalogados como > 20% y < 20%, en los distintos compartimentos, superficial y profundo. En ambos, aprox. la mitad de los casos mostró valores de ki-67 > 20 % y la otra mitad < 20%; sólo hallando diferencias con la mucosa adyacente, donde la cifra de proliferación fue significativamente menor, coincidiendo con los estudios previos.

A diferencia de lo observado con la valoración de p53, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los valores de ki-67 y los patrones arquitecturales en los distintos compartimentos. Pero sí observamos, tanto a nivel superficial como profundo, que los tumores menos diferenciados, de patrón 4, mostraron con mucha frecuencia (80% y 72%) niveles altos de ki-67 > 20%. Estos resultados difieren de los obtenidos en otros trabajos^{159 165}, en los que observaron que los tumores mejor diferenciados mostraban mayores valores de ki-67; pero coincide con los obtenidos en otros estudios¹⁶⁰, en los que los valores más altos de ki-67 se observaron en tumores menos diferenciados.

Tampoco encontramos significación estadística entre los valores de ki-67 y el grado histológico sumatorio, obteniendo cifras similares de número de células en proliferación en tumores de AG y NAG. Este resultado coincide con el observado en el estudio de Petrisor y cols, en el que no se observaron diferencias entre el grado histológico y los valores de ki-67.

En cuanto a la relación de ki-67 con distintos parámetros clínicos e histopatológicos, sólo encontramos relación estadísticamente significativa con la edad, evidenciándose mayor número de casos con valores altos entre los pacientes > 70 años.

En relación a la supervivencia, la media estimada de supervivencia en los pacientes con valores bajos de ki-67, tanto en compartimento superficial como profundo, fue ligeramente superior a la de los pacientes con valores altos de ki-67. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el reciente estudio de Morad JC y cols, en el que los pacientes con niveles bajos de ki-67 mostraron mejor supervivencia y mayor periodo libre de enfermedad; pero los resultados de nuestro estudio no mostraron significación estadística para estos datos.

VI. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en nuestro estudio extraemos las siguientes conclusiones:

- La distribución del grado histológico del CCR tumor es heterogénea, observándose patrones de mayor grado en el compartimento profundo que en el superficial.
- El tipo de patrón arquitectural en el compartimento superficial o profundo, por separado, se relaciona con el tamaño del tumor, la localización anatómica y la extensión de la enfermedad; mientras que el grado histológico sumatorio no muestra relación con otros parámetros histopatológicos, ni con la supervivencia.
- La expresión de p53 no muestra diferencias en los distintos compartimentos de un mismo tumor. Sin embargo, existen diferencias significativas, a nivel superficial, entre los patrones arquitecturales, siendo mayor el número de casos con p53 elevada en los tumores de alto grado.
- El índice de proliferación celular (ki-67) no muestra diferencias significativas entre los distintos compartimentos de la neoplasia y, aunque se han evidenciado niveles más altos en patrones arquitecturales menos diferenciados, los resultados no son significativos.
- Tanto la expresión inmunohistoquímica de p53, como el índice de proliferación determinado con ki-67, no se correlacionan con el grado histológico sumatorio, ni con la supervivencia.
- En nuestro estudio la extensión de la enfermedad, el estadio, y la afectación ganglionar, han demostrado ser los factores más determinantes de la supervivencia de los pacientes.

VII. BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S et al. Carcinoma of the colon and rectum in Pathology and genetics of tumours of the digestive system. WHO. IARC Press. Lyon. 2000.
- ² Cooper GS, Yuan Z, Stange KC, et al. Use of Medicare claims data to measure county-level variations in the incidence of colorectal carcinoma. 1998. *Cancer* 83: 673-678.
- ³ Honda T, Kai I, Ohi G. Fat and dietary fiber intake and colon cancer mortality: a chronological comparison between Japan and the United States. *Nutr Cancer* 1999, 33:95-99.
- ⁴ José Expósito Hernández et al. II Plan Integral de Oncología de Andalucía 2007-2012. Consejería de Salud. 2007.
- ⁵ Boyle P, Zaridze DG, Smaans M. Descriptive epidemiology of colorectal cancer. *Int J Cancer* 1985, 36: 9-18
- ⁶ Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 916-932.
- ⁷ Hill MJ: Bacteria and the etiology of colonic cancer. *Cancer* 1974, 34: 815-818.
- ⁸ Levin B. Nutrition and colorectal cancer. *Cancer* 1992, 70: 1723-1726.
- ⁹ Owen RW. Dietary and chemopreventive strategies. *Recent Results Cancer Res* 1998, 146: 195-213.
- ¹⁰ Dingley KH, Curtis KD, Nowell S, Felton JS, Lang NP, Turteltaub KW. DNA and protein adduct formation in the colon and blood of humans after exposure to a dietary-relevant dose of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999, 8: 507-512.

-
- ¹¹ Stemmermann GN, Nomura AMY, Heilbrun LK. Dietary fat and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1984, 44: 4633-4637.
- ¹² Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, Appelman HD, Fenoglio CM, Haggitt RC, Ahren C, Correa P, Hamilton SR, Morson BC, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 1998, 14: 931-968.
- ¹³ Persson PG, et al. Survival and cause-specific mortality in inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 1996, 110: 1339-1345.
- ¹⁴ Stewenius J, et al. Incidence of colorectal cancer and all cause mortality in non-selected patients with ulcerative colitis and indeterminate colitis in Malmo, Sweden. *Int J Colorectal Dis* 1996, 10: 117-122.
- ¹⁵ Mellekjær L, et al. Cancer in patients with ulcerative colitis. *Int J Cancer* 1995, 60: 330-333.
- ¹⁶ Ekblom A, et al. Survival and causes of death in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology* 1992, 103: 954-960.
- ¹⁷ Gillen CD, Walmsley RS, Prior P, Andrews HA, Allan RN. Ulcerative colitis and Crohn's disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut* 1994, 35: 1590-1592.
- ¹⁸ Hamilton SR. Colorectal carcinomas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1985, 89: 398-407.
- ¹⁹ Ky A, Sohn N, Weinstein MA, Korelitz BI. Carcinoma arising in anorectal fistulas of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1998, 41: 992-996.

-
- ²⁰ Tsunoda A, Shibusawa M, Kawamura M, Marumori T, Kusano M, Ohta H. Colorectal cancer after pelvic irradiation: case reports. *Anticancer Res* 1999,17/1B: 729-732.
- ²¹ Jass JR. Diagnosis of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Histopathology* 1998, 32: 491-497.
- ²² Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003, 348: 919-932.
- ²³ Lynch HT, Smyrk TC. Hereditary colorectal cancer. *Semin Oncol* 1999, 26: 478-484.
- ²⁴ Marra G, Boland CR. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes and historical perspectives. *J Natl Cancer Inst.* 1995, 87:1114-1125.
- ²⁵ Zerhouni EA, Rutter C, Hamilton SR, Balfe DM, Megibow AJ, Francis IR, Moss AA, Heiken JP, Tempany CM, Aisen AM, Weinreb JC, Gatsonis C, McNeil BJ. CT and MR imaging in the staging of colorectal carcinoma: report of the Radiology Diagnostic Oncology Group II. *Radiology* 1996, 200: 443-451.
- ²⁶ Thompson DMP, Krupey J, Freedman SO, Gold P. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969, 64: 161-167.
- ²⁷ Zamcheck N, Moore TL, Dhar P, Kupchik H. Immunologic diagnosis and prognosis of human digestive-tract cancer. Carcinoembryonic antigens. *N Engl J Med* 1972, 286: 83-86.
- ²⁸ Zamcheck N, Doos WG, Prudente R, et al. Prognostic factors in colon carcinoma. Correlation of serum carcinoembryonic antigen level and tumor histopathology. *Hum Pathol* 1975, 6: 31-45.

-
- ²⁹ Minton JP , Hoehn JL, Gerber DM, et al. Results of a 400 patient carcinoembryonic antigen second-look colorrectal cancer study. *Cancer* 1985, 55: 1284-1290.
- ³⁰ American Society of Clinical Oncology. Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorrectal cancer. Adopte don May 17, 1966 by the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 1996, 14: 2843-2877.
- ³¹ Abcarian H. Operative tratment of colorectal cancer. *Cancer* 1992, 70:1350-1354.
- ³² Andreola S, Leo E, Belli F, Bonfanti G, et al. Adenocarcinoma of the lower third of the rectum surgically treated with a <10-mm distal clearance: preliminary results in 35 No patients. *Ann Surg Oncol* 2001, 8: 611-615.
- ³³ Grem JL. Current treatment approaches in colorectal cancer. *Semin Oncol* 1991, 18: 17-26.
- ³⁴ O'Connell MJ, Martenson JA, Wieand HS, et al. Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med* 1994, 331:502-507.
- ³⁵ Kapiteijn E, Marjnmen CA, Nagtegall ID, et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl Med* 2001, 345:638-646.
- ³⁶ Rosai J, Ackerman LV. *Gastrointestinal tract in Surgical Pathology*. Edinburgh; New York: Mosby 2011.
- ³⁷ Dubrow R, Bernstein J, Holford TR. Age-period-cohort modelling of large-bowel-cancer incidence by anatomic sub-site and sex in Connecticut. *Int J Cancer* 1993, 53: 907-913.

-
- ³⁸ Slater G, Papatestas AE, Tarter PI, et al. Age distribution of right- and left-sided colorectal cancers. *Am J Gastroenterol* 1982, 77: 63-66.
- ³⁹ Stefansson T, Ekbom A, Sparen P. Increased risk of Leith sided colon cancer in patients with diverticular disease. *Gut* 1993, 34: 499-502.
- ⁴⁰ Thomas CR Jr, Jarosz R, Evans N. Racial differences in the anatomical distribution of colon cancer. *Arch Surg* 1992, 127: 1241-1245.
- ⁴¹ Cooper HS, Slemmer JR. Surgical pathology of carcinoma of the colon and rectum. *Semin Oncol* 1991, 18:367-380.
- ⁴² Iishi H, Tatsuta M, Tsutsui S, et al. Early depreseed adenocarcinoma of the large intestine. *Cancer* 1992, 69: 2406-2410.
- ⁴³ Kuramoto S, Oohara T. Flat early cancers of the large intestine. *Cancer* 1989, 64: 950-955.
- ⁴⁴ Tada S, Yao T, Iida M, et al. A clinicopathologic study of small flat colorrectal carcinoma. *Cancer* 1994, 34: 499-502.
- ⁴⁵ Ambe K, Mori M, Enjoji M. S-100 protein-positive dendritic cells in colorrectal adenocarcinomas. Distribution and relation to the clinical prognosis. *Cancer* 1989, 63: 496-503.
- ⁴⁶ Horny H-P, Horst H-A. Lymphoreticular infiltrates in adenocarcinoma of the large intestine. *Pathol Res Pract* 1987, 182: 222-227.
- ⁴⁷ Franzin G, Grigioni WF, Dina R, Scarpa A. Mucin secretion and morphological changes of the mucosa in non-neoplastic diseases of the colon. *Histopathology* 1983, 7: 707-718.

-
- ⁴⁸ Listinsky CM, Riddell RH. Patterns of mucin secretion in neoplastic and non-neoplastic diseases of the colon. *Hum Pathol* 1981, 12: 923-929.
- ⁴⁹ Sawady J, Friedman MI, Katin WE, Mendsesohn G. Role of the transicional mucosa of the colon in differentiating primary adenocarcinoma from carcinomas metastatic to the colon. An immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1991, 15: 136-144.
- ⁵⁰ Berezowski K, Stastny JF, Kornstein MJ. Cytokeratins 7 and 20 and carcinoembryonic antigen in ovarian and colonic carcinoma. *Mod Pathol* 1996, 9: 426-429.
- ⁵¹ Loy TS, Calaluce RD. Utility of cytokeratin immunostaining in separating pulmonary adenocarcinomas from colonic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 1994, 102: 764-767.
- ⁵² Kende AI, Carr NJ, Sobin LH. Expresión of cytokeratins 7 and 20 in carcinomas of the gastrointestinal tract. *Histopathology* 2003, 42: 137-140.
- ⁵³ O'Brien MJ; Zamsheck N, Burke B, et al. Immunocytochemical localization of carcinoembryonic antigen in benign and malignant colo-retal tissues. Assessment of diagnostic value. *Am J Clin Pathol* 1981, 75: 283-290.
- ⁵⁴ Hamada Y, Yamamura M, Hioki K, Yamamoto M, et al. Immunohistochemical study of carcinoembryonic antigen in patients with colorectal cancer. Correlation with plasma carcinoembryonic antigen levels. *Cancer* 1985, 55: 136-141.
- ⁵⁵ Goslin R, O'Brien MJ, Stelle G, et al. Correlation of plasma CEA and CEA tissue staining in poorly differentiated colorectal cancer. *Am J Med* 1981, 71: 246-253.

-
- ⁵⁶ Midiri G, Amanti C, Benedetti M, et al. CEA tissue staining in colorectal cancer patients. A way to improve the usefulness of serial serum CEA evaluation. *Cancer* 1985, 55: 2624-2629.
- ⁵⁷ Gotzos V, Wintergerst ES, Musy JP, et al. Selective distribution of calretinin in adenocarcinomas of the human colon and adjacent tissues. *Am J Surg Pathol* 1999, 23: 701-711.
- ⁵⁸ Campo E, Palacín A, benasco C, et al. Human chorionic gonadotropina in colorrectal carcinoma. An immunohistochemical study. *Cancer* 1987, 59: 1611-1616.
- ⁵⁹ Watanabe H, Tokuyama H, Ohta H, et al. Expression of placental alkaline phosphatase in gastric and colorrectal cancers. An immunohistochemical study using the prepared monoclonal antibody. *Cancer* 1990, 66: 2575-2582.
- ⁶⁰ White D, Chirala M, Younes A, et al. Estrogen receptor beta is expressed in human colorrectal adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2001, 32: 940-944.
- ⁶¹ Kaimaktchiev V, Dimhofer S, Sauter G, et al. Selective staining of gastrointestinal adenocarcinomas by the homeobox intestinal differentiation factor CDX2. *Mod Pathol* 2003, 16: 123A.
- ⁶² Connelly JH, Robey-Cafferty SS, Cleary KR. Mucinous carcinomas of the colon and rectum. An analysis of 62 stage B and C lesions. *Arch Patohol Lab Med* 1991m 115: 1022-1025.
- ⁶³ Sasaki O, Atkin WS, Jass JR. Mucinous carcinoma of the rectum. *Hsitopathology* 1987, 11: 259-272.
- ⁶⁴ Amorn Y, Knight WA Jr. Primary linitis plastic of the colon. Report of two cases and review of the literature. *Cancer* 1978, 41: 2420-2425.

-
- ⁶⁵ Nakahara H, Ishikawa T, Itabashi M, et al. Diffusely infiltrating primary colorrectal carcinoma of linitis plastica and lymphangiosis types. *Cancer* 1992, 69: 901-906.
- ⁶⁶ Jewell LD, Barr JR, McCaughey WET, Nguyen Gk, et al. Clear-cell epithelial neoplasms of the large intestine. *Arch Pathol Lab Med* 1988, 112: 197-199.
- ⁶⁷ Lanza g, Gafa R, Matteuxxi M, et al. Medullary-type poorly differentiated adenocarcinoma of the large bowel; a distinct clinicopathologic entity characterized by microsatellite instability and improved survival. *J Clin Oncol* 1999, 17: 2429-2438.
- ⁶⁸ Crissman JD. Adenosquamous and squamous cell carcinoma of teh colon. *Am J Surg Pathol* 1978, 2: 47-54.
- ⁶⁹ Bosman FT. Neuroendocrine cells in colonic tumors. *Mod Pathol* 1992, 5: 312-314.
- ⁷⁰ Smith DM Jr, Haggitt RC. The prevalence and prognostic significance of argyrophil cells in colorrectal carcinomas. *Am J Surg Pathol* 1984, 8: 123-128.
- ⁷¹ Schawartz AM Orenstein JM: Small-cell undifferentiated carcinoma of the rectosigmoid colon. *Arch Pathol Lab Med* 1985, 109: 629-632.
- ⁷² Burke AB, Shekitka KM, Sobin LH: Small cell carcinomas of the large intestine. *Am J Clin Pathol* 1991, 95: 315-321.
- ⁷³ Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K, et al. 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: 539-543.

-
- ⁷⁴ Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol* 2002, 26: 179-189.
- ⁷⁵ Davidson BR, Sams VR, Styles J, et al. Detection of occult nodal metastases in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 1990, 65: 967-970.
- ⁷⁶ Rahbari NN et al. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2012, 30(1):60-70.
- ⁷⁷ Dukes CE. Histologic grading of rectal carcinoma. *Proc R Soc Med* 1937, 30: 371-376.
- ⁷⁸ Kyriakos M. The President's cancer, the Dukes classification, and confusion. *Arch Pathol Lab Med* 1985, 109: 1063-1066.
- ⁷⁹ Astler VB, Coller FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann surg* 1954, 139:846.
- ⁸⁰ Jass JR, Atkin WS, Cuzick J, Bussey HJR, et al. The grading of rectal cancer. Historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. *Histopathology* 1986, 10: 437-459.
- ⁸¹ Haslam AC, Pearson JM, Bisset DL. A dukes/Jass combination- is it more discriminating?. *Colorectal Disease* 2006, 8: 418-422.
- ⁸² Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th E. New York, NY: Springer, 2002.

-
- ⁸³ Sobin LH, Wittekind C. TNM: Classification of Malignant tumours. 6th Ed. New York, NY: Wiley-Liss; 2002.
- ⁸⁴ Wittekind C, Greene FL, Henson DE. TNM Supplement: A Commentary on Uniform Use. 3rd Ed. New York, NY; Wiley-Liss; 2003.
- ⁸⁵ Shepeherd N, Baxter K, Love S. The prognostic importance of peritoneal involvement in colonic cancer: a prospective evaluation. *Gastroenterology* 1997; 112: 1096-1102.
- ⁸⁶ Zeng Z, Cohen AM, Hajdu S, et al. Serosal cytologic study to determine free mesothelial penetration of intraperitoneal colon cancer. *Cancer* 1992; 70: 737-740.
- ⁸⁷ Herrera-Ornelas L, Justiniano J, Castillo N, et al. Metastases in small lymph nodes from colon cancer *Arch Surg* 1987;122:1253-6.
- ⁸⁸ Rivadulla MI, Martinez D, Armengol M, et al. Influencia del número total de ganglios analizados tras cirugía de resección en el cáncer de colon sobre la supervivencia en pacientes sin afectación ganglionar. *Rev esp dig* 2010, v102 n.5.
- ⁸⁹ Yamamoto et al. OSNA-Based Novel Molecular Testing for lymph node metastases in colorectal cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2011, 8:1891-1898.
- ⁹⁰ Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, et al. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2001;8:300-4.
- ⁹¹ Tschmelitsch J, Klimstra DS, Cohen AM. Lymph node micrometastases do not predict relapse in stage II colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2000;7:601-8.

-
- ⁹² Wittekind C, Henso DE, Hutter RVP, Sobin LH, editors. TNM supplement. A commentary on uniform use. 2nd ed. New York: Wiley-Liss; 2001.
- ⁹³ Andrew Stewart, National Cancer Data Base of the commission on Cancer, personal communication, 2003.
- ⁹⁴ Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990 Jun, 1:61(5): 759-67.
- ⁹⁵ Kinzler KW, Vogelstein B: lessons from hereditary colorectal cancer. Cell 1996, 87: 159.
- ⁹⁶ Borman FT. Molecular pathology of colorectal cancer. Cytogenet Cell Genet 1999, 86: 112-117.
- ⁹⁷ Kern A, Taubert H, Scheele J, Rudroff C, Mothes H, Kappler M, Bartel F, Richter KK.. Association of p53 mutations, microvessel density and neoangiogenesis in pairs of colorectal cancers and corresponding liver metastases Int J Oncol. 2002 Aug;21(2):243-9.
- ⁹⁸ Jass JR: Pathogenesis of colorectal cancer. Surg Clin N Am 2002, 82: 891.
- ⁹⁹ Knudson AG: Two genetic hits (more o less) to cancer. Nat Rev Cancer 2001, 1: 157.
- ¹⁰⁰ Jansson DS, Radosevich JA, Carney WP, et al. An immunohistochemical análisis of Ras oncogene expression in epithelial neoplasms of the colon. Cancer 1990, 65: 1329-1337.
- ¹⁰¹ Rodrigues NR, Rowan A, Smith MEF, et al. p53 mutations in colorectal cancer. Proc Natk Acad Sci USA 1990, 87: 7555-7559.

-
- ¹⁰² Connelly JH, Bruner JM, Robey-Cafferty SS, et al. p53 protein expression in transitional mucosa and adenocarcinomas of the colorectum. *Mod Pathol* 1992, 5: 537-539.
- ¹⁰³ Paya Roma A, Alenda González, Jover Martínez R, Aranda López FI. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Rev Esp Patol* 2006;39(4):201-208.
- ¹⁰⁴ Jimenez JJ, Blanes A, Diaz-Cano SJ. Microsatellite instability in colon cancer. *N Engl J Med*. 2003, 349(18):1774-6.
- ¹⁰⁵ Gafa R, Maestri I, Matteuxxi M. Sporadic colorectal adenocarcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer* 2000, 89: 2025-2037.
- ¹⁰⁶ Edmonston TB, Cuesta KH, Burkholder S, et al. Colorectal carcinomas with high microsatellite instability: defined a distinct immunologic and molecular entity with respect to prognostic markers. *Hum Pathol* 2000, 31: 1506-1514.
- ¹⁰⁷ Blanes A, Diaz Cano SJ. Complementary analysis of microsatellite tumor profile and mismatch repair defects in colorectal carcinomas. *World J gastroenterol* 2006,12(37):5932-40.
- ¹⁰⁸ Bommer GT, Fearon ER. Molecular abnormalities in colon and rectal cancer. In Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Gray JW, Thompson CB (eds): *The molecular basis of cancer*, ed. 3. Philadelphia, 2008, Saunders, pp. 409–421.
- ¹⁰⁹ Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond ME, Henson DE, Hutter RV, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Taylor CR, Welton M, Willett C. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 979–94.

-
- ¹¹⁰ Vicioso L, Matilla A. Factores patobiológicos de valor pronóstico en el carcinoma colo-rectal. *Rev And dig* 1994,17:114-122.
- ¹¹¹ Compton C, Fenoglio Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP: American Joint Committe on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: colorrectal working Group. *Cancer* 2000;88:1739-1757.
- ¹¹² Glenn F, McSherry CK. Carcinoma ofthe distal large bowel-32-year review of 1026 cases. *Ann surg* 1966, 163:338-349.
- ¹¹³ Dukes CE. The surgical pathology of rectal cancer. *J clin Patohl* 1949, 2: 95-98.
- ¹¹⁴ Newland RC, Chapuis PH, Pheils MT, et al. The rationship of survival to staging and grading of colorectal carcinoma. A prospective study of 503 cases. *Cancer* 1981, 47: 1424-1429.
- ¹¹⁵ Purdie CA, Piris J. Histopathological grade, mucinous differentiation and DNA ploidy in relation to prognosis in colorectal carcinoma. *Histopathology* 2000, 36: 121-126.
- ¹¹⁶ Belluco C, Guillem JG, Kemeny N, et al. p53 nuclear protein overexpression in colorectal cancer: a dominant predictor of survival in patients with advanced hepatic metastases. *J Clin Oncol* 1996, 14: 2696-2701.
- ¹¹⁷ Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;342:69-77.
- ¹¹⁸ Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with and improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:917-23.

-
- ¹¹⁹ Bauer KD, Lincoln ST, Vera-Roman, et al. Prognostic implications of proliferative activity and DNA aneuploidy in colonic adenocarcinomas. *Lab Invest* 1987, 57: 329-335.
- ¹²⁰ Foley EF, Gaffey MJ, Frierson HF Jr. The frequency and clinical significance of neuroendocrine cells within stage III adenocarcinomas of the colon. *Arch Pathol Lab Med* 1998, 122: 912-914.
- ¹²¹ DeBruine A, Wiggers T, Beek C, et al. Endocrine cells in colorectal adenocarcinomas: incidence, hormone profile and prognostic relevance. *Int J Cancer* 1993;54:765-71.
- ¹²² Leahy DT, Mulcahy HE, O'Donoghue DP, et al. Bcl-2 protein expresión is associated with better prognosis in colorrectal cancer. *Histopathology* 1999, 35: 360-367.
- ¹²³ Jass JR, Do KA, Simms LA, et al. Morphology of sporadic colorrectal cancer with DNA replication errors. *Gut* 1998;42:673-9.
- ¹²⁴ Yamachika T, Nakanishi H, Inada K, Tsukamoto T, et al. A new prognostic factor for colorectal carcinoma, thymidylate synthase, and its therapeutic significance. *Cancer* 1998;82:70-7.
- ¹²⁵ Johnston PG, Liang CM, Henry S, et al. Production and characterization of monoclonal antibodies that localize human thymidylate synthase in the cytoplasm of human cells and tissue. *Cancer Res* 1991;51:6668-76.
- ¹²⁶ Halvorsen TB, Seim E. Association between invasiveness, inflammatory reaction, desmoplasia and survival in colorrectal cancer. *J Clin Pathol* 1989;42:162-6.

-
- ¹²⁷ Liefers GJ, Cleton-Janses AM, Van de Velde CJ, Hermanas J, et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. *N Engl J Med* 1998;339:223-228.
- ¹²⁸ Compton CC. The Pathology report in colon cancer: what's prognostically important? *Dig Dis* 1999;17:67-79.
- ¹²⁹ Blenkinsopp WK, Stewart-Brown S, Blesovsky L, et al. Histopathology reporting in large bowel cancer. *J Clin Pathol* 1981;34:509-13.
- ¹³⁰ Quierke P, Scott N. The pathologist's role in the assessment of local recurrence in rectal carcinoma. *Surg Oncol Clin N Am* 1992;3:1-17.
- ¹³¹ Petersen VC, Baxter KJ, Love SB, et al. Identification of objective pathologic prognostic determinants and models of prognosis in Dukes' B colon cancer. *Gut* 2002;51:65-69
- ¹³² Griffin MP, Bergstralh EJ, Coffey RJ. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987;60:2318-2324.
- ¹³³ Odone V, Chang L, Caces J. The natural history of colorectal carcinoma in adolescents. *Cancer* 1982;49:1716-1720.
- ¹³⁴ Harrison LE, Guillem JG, Paty P. Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. *J M Coll Surg* 1997;25:498-505.
- ¹³⁵ Compton CC. Colorectal cancer. In: Gospodarowicz MK, O'Sullivan B, Sobin LH, eds. *Prognostic Factors in Cancer*. New York, NY: Wiley-Liss; 2006:133-137.
- ¹³⁶ Stewart FW, Spies JW. Biopsy histology in the grading of rectal carcinoma. *American Journal of Pathology*. 1929;5:109-115.

-
- ¹³⁷ MacCarthy WC. Principles of prognosis in cancer. *Journal of the American Medical Association*. 1931,96:30-33.
- ¹³⁸ Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *Journal of Pathology and Bacteriology*. 1932,35:323-332.
- ¹³⁹ Wood WQ, Wikie DPD. Carcinoma of the rectum. An anatomico-pathological study. *Edinburgh Medical Journal*. 1933,40:321-343.
- ¹⁴⁰ Raiford TS. Carcinomas of the large bowel. *Annals of Surgery*. 1935,101:863-885.
- ¹⁴¹ Grinnell RS. The grading and prognosis of carcinoma of the colon and rectum. *Annals of Surgery*. 1939,109:500-533.
- ¹⁴² Dukes CE, Bussey HJR. The spread of rectal cancer and its effect on prognosis. *British Journal of Cancer*. 1958,12:309-320.
- ¹⁴³ Blenkinsopp WK, Stewart-Brown S, Blesovsky L, et al. Histopathology reporting in large bowel cancer. *Journal of Clinical Pathology* 1981,34:509-513.
- ¹⁴⁴ Chung CK, Zaino RJ, Stryker JA. Colorectal carcinoma: evaluation of histologic grade and factors influencing prognosis. *J Surg Oncol*. 1982;21:143-148.
- ¹⁴⁵ Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer* 1977, 39:2475-2485.
- ¹⁴⁶ Nabi U, Nagi AH, Riaz S. Morphological evaluation of colorectal carcinoma with Trading staging and histological types. *J Pak Med Assoc*. 2010;60(12):998-1001.

-
- ¹⁴⁷ Ueno H, Kajiwara Y, Shimazaki H, et al. New criteria for histologic grading of colorectal cancer. *Am J Surg Pathol.* 2012, 36: 139-201.
- ¹⁴⁸ Nozoe T, Kohno M, Iguchi T. Five-point scoring system based on clinicopathological data: A convenient criterion to determine prognosis of patients with colorectal carcinoma. *Oncol Lett.* 2013; 3(3): 978-982.
- ¹⁴⁹ College of American Pathologist (CAP) net [Internet]. USA; 2012. Jun2012;citado16Oct2012]. Disponible en: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2012/Colon_12protocol_3200.pdf.
- ¹⁵⁰ Vicioso Recio L. Análisis multifactorial en el pronóstico del carcinoma colorectal. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. Facultad de Medicina. 1988.
- ¹⁵¹ Rapponene K, Eskelinen M, Kosma VM, Lipponen P, et al. Comparison of classic and quantitative prognostic factors in colorectal cancer. *Anticancer res* 1996;16(6B):3875-82.
- ¹⁵² Hase K, Shatney C, Johnson D, et al. Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1993;36:627-35.
- ¹⁵³ Diez M, Enriquez JM, Camunas J, Gonzalez A, et al. Prediction of recurrence in B-C stages of colorectal cancer by p53 nuclear overexpression in comparison with standard pathological features. *Eur J Surg Oncol* 1995;21:635-9.
- ¹⁵⁴ Zeng ZS, Sarkis AS, Zhang ZF, et al. p53 nuclear overexpression: an independent predictor of survival in lymph node-positive colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 1994;12:2043-50.
- ¹⁵⁵ Ahnen DJ, Feigl P, Quan C, Fenoglio-Preiser, et al. K-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Cancer Res* 1998;58:1449-58.

-
- ¹⁵⁶ Kullmann F, Fadaie M, Gross V, et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and ki-67 in dysplasia in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996;8:371-9.
- ¹⁵⁷ Noffsinger AE, Miller MA, Cusi MV, et al. The pattern of cell proliferation in neoplastic and nonneoplastic lesions of ulcerative colitis. *Cancer* 1996;78:2307-12.
- ¹⁵⁸ Fdez-Aceñero MJ, Galindo M, Aljama A. Influencia pronóstica del p53 en carcinoma colorrectal. *IV-CVHAP 2001; CE-050*.
- ¹⁵⁹ Ishida H, Sadahiro S, Suzuki T, Ishidawa K, Kamijo A, et al. Proliferative, infiltrative and metastático activities in colorrectal tumours assessed by MIB-1 antibody. *Concology*.2003;10:1745-5.
- ¹⁶⁰ Georgescu CV, Saftoiu A, Georgescu CC, et al. Correlations of proliferation markers, p53 expresión and histological findings in colorrectal carcinoma. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007;16(2):133-139.
- ¹⁶¹ Padilla D, Cubo t, Villarejo P, et al. Perfil molecular del cáncer colorrectal sin afectación ganglionar de mal pronóstico mediante la determinación inmunohistoquímica de p53, ki67, VEGF y metaloproteinasa 9. ¿es útil como modelo pronóstico de recidiva? *Rev Esp Enferm Dig*, 2007;99(7):421-429.
- ¹⁶² Petirisor O, Giusca SE, Sajin M. Ki-67 and p53 expressions versus differentiation negrees of colon adenocarcinoma. *Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi*. 2008;112(1):183-90.
- ¹⁶³ Petrisor O, Giusca SE, Sajin M. ki67, p53 y bcl-2 analysis in colonic versus rectal adenocarcinoma. *Rom Jour Of Morphology and Embryology*. 2008;49(2):163-171.

-
- ¹⁶⁴ Salminen E, Palmu S, Vahlberg T. Increased proliferation activity measured by immunoreactive ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer, *World J Gastroenterol* 2005;11(21):3245-3249.
- ¹⁶⁵ Nabi U, Nagi AH, Sami W. Ki-67 proliferatins index and histological grade, type and stage of colorrectal carcinoma. *J Ayud Med Coll Abbottabad*. 2008;20(4):44-8.
- ¹⁶⁶ Wang J, Shen S, Bu X. Expression of p53, Ki-67 and c-Myc proteus is predictive of the surgical molecular margin in colorectal carcinoma. *Pathol Oncol Research* 2011, 17(3): 479-487.
- ¹⁶⁷ Murad JC, Ribeiro JrU, Kleber, et al. Prognostic predictive factors in colorectal adenocarcinoma with liver metastasis. 2012;1:459.
- ¹⁶⁸ Palmqvist R, Sellberg P, Oberg A, et al. Low tumour cell proliferation at the invasive margin is associated with a poor prognosis in Dukes' stage B colorectal cancers *British Journal of Cancer* (1999) 79(3/4), 577–581.
- ¹⁶⁹ Pozo L, Sanchez-Carrillo JJ, Martinez A, et al. Differential kinetic features by tumour topography in cutaneous small-cell neuroendocrine (Merkel cell) carcinomas. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007,21(9):1220-8.
- ¹⁷⁰ Diaz-Cano SJ. Kinetic topographical heterogeneity in follicular thyroid neoplasms and growth patterns. *Histopathology*, 2007;51(3):416-8).
- ¹⁷¹ Blanes A, Rubio J, Martinez A, et al. Kinetic profiles by topographic compartments in muscle-invasive transicional cell carcinomas of the bladder: role of TP53 and NF1 genes. *Am J Clin Pathol*. 2002;80(3):279-289.

-
- ¹⁷² Matilla A: Papel relevante del patólogo en los registros hospitalarios de tumores (RHTs). Rev Esp Patología 2005; 38:199-200.
- ¹⁷³ Matilla A, Ramírez I, Alvarez M et al. Manual de procedimientos en los RHTs. SEAP, 2007 Publicación(ISBN 84-611-2332-8) de consenso del grupo integrante de la red nacional de RHTs de la Sociedad Española de Anatomía Patológica, para la normalización metodológica en los registros hospitalarios de tumores.
- ¹⁷⁴ Algaba F, Arce Y, Fernández S. ¿Qué son y qué se les puede pedir a los “tissue microarrays?”. En: Alcaraz A, Ribal MJ, Villavicencio H (eds). Aplicabilidad de la Biología Molecular en la Urología, 2004. Madrid. pp 168-176.
- ¹⁷⁵ M van de Rijn, C B Gilks. Applications of microarrays to histopathology. Histopathology 2004, 44:2 p. 97.
- ¹⁷⁶ Kallioniemi OP, Wagner U, Kononen J, et al. Tissue microarray technology for high-throughput molecular profiling of cancer. Hum Mol Genet 2001; 10, 657-662.
- ¹⁷⁷ Nocito A, Bubendor L, Tinner EM, et al. Microarrays of bladder cancer tissue are highly representative of proliferation index and histological grade. J Pathol 2001,194(3):349-357.
- ¹⁷⁸ Prioleaur J, Scnitt SJ. P53 antigen loss in stored paraffin slides. N Engl J Med 1995;22:1521-1522.