



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Clasificación de subtipos moleculares específicos y su
correlación con características clínico-patológicas en
cáncer colorrectal

Autor:

D. Eduardo Feliciangeli Moreno

Directores:

Dra. Teresa García García

Dr. Ginés Luengo Gil

Dr. José García Solano

Murcia, julio de 2025



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Clasificación de subtipos moleculares específicos y su
correlación con características clínico-patológicas en
cáncer colorrectal

Autor:

D. Eduardo Feliciangeli Moreno

Directores:

Dra. Teresa García García

Dr. Ginés Luengo Gil

Dr. José García Solano

Murcia, julio de 2025

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

La Dra. Dña. Teresa García García, el Dr. Dr. D. Ginés Luengo Gil y el Dr. D. José García Solano, como directores de la Tesis Doctoral titulada “Clasificación de subtipos moleculares específicos y su correlación con características clínico-patológicas en cáncer colorrectal”, realizada por D. Eduardo Feliciangeli Moreno en el Programa de Doctorado Ciencias de la Salud, autorizan su presentación a trámite dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmamos, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Cartagena, a 6 de julio de 2025.

Firmado electrónicamente por la Dra M^a TERESA GARCÍA GARCÍA, jefa del S^o de Oncología Médica del Hospital Santa Lucía de Cartagena, DNI N^o 27483670C, en Murcia, el día 8 de julio de 2025 con un certificado emitido por CAMERFIRMA-SMS



Dra. Dña. Teresa García García



Dr. D. Ginés Luengo Gil



Dr. D. José García Solano

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias malignas más prevalentes a nivel mundial, y a pesar de los avances en los métodos de detección y tratamientos, la mortalidad asociada al CCR continúa representando un importante desafío para la salud pública. La tasa de supervivencia a cinco años varía considerablemente según el estadio de la enfermedad, siendo del 91% en casos localizados y descendiendo al 13% en enfermedad metastásica.

Hasta la fecha, no se han realizado estudios que investiguen de manera explícita la relación entre los subtipos moleculares del cáncer de colon y la histología, el tumor budding, el inmunoscore, la infiltración de macrófagos y la microbiota. La exploración de estas variables podría contribuir significativamente a una comprensión más profunda de esta patología compleja, no solo en términos pronósticos, sino también en la predicción de la respuesta terapéutica.

OBJETIVOS

El presente estudio tiene como objetivo clasificar el cáncer colorrectal en subtipos moleculares específicos mediante técnicas avanzadas de inmunohistoquímica, y correlacionarlos con características clínico-patológicas relevantes. Se busca analizar la relación entre dichos subtipos, el inmunoscore y el grado de infiltración tumoral por macrófagos, así como explorar posibles asociaciones con la composición de la microbiota intestinal. Esta investigación pretende aportar una visión integral de los factores moleculares e inmunológicos implicados en la evolución del cáncer colorrectal, con el fin de mejorar la estratificación pronóstica y orientar estrategias terapéuticas más personalizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio de cohorte retrospectivo y observacional incluyó a 255 pacientes con cáncer colorrectal (CCR), seleccionados a partir de una base de datos del servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario Santa Lucía, en Cartagena. La mayoría de los pacientes se encontraban en estadios localizados, aunque también se incluyeron casos metastásicos. Las muestras tumorales fueron obtenidas de piezas quirúrgicas mediante cilindros de

microarrays de tejidos (TMA). Se recopilaron variables demográficas, clínicas e histopatológicas. Los subtipos moleculares de consenso (CMS), el inmunoscore, el tumor budding y la infiltración macrofágica fueron evaluados mediante técnicas de inmunohistoquímica. La clasificación CMS se realizó siguiendo la metodología de Conesa-Zamora *et al.*¹⁹⁰, utilizando un clasificador en línea basado en IHQ. El inmunoscore se calculó en función de la densidad de linfocitos T CD3+ y CD8+, y se agrupó en dos categorías: bajo (I0–I1) e intermedio-alto (I2–I4). El tumor budding se clasificó en tres niveles: bajo (<10 focos), intermedio (10–19) y alto (≥ 20). La infiltración por macrófagos fue evaluada mediante tinción CD163+ y clasificada morfológicamente. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS v21. Se utilizaron pruebas de chi-cuadrado para comparar variables categóricas y curvas de Kaplan-Meier con prueba de Breslow para el análisis de supervivencia. El análisis multivariado se llevó a cabo mediante modelos de regresión de Cox, incluyendo variables clínicamente relevantes con implicancias pronósticas en CCR

RESULTADOS

De los 255 pacientes con cáncer colorrectal incluidos en el estudio, el 34,9% presentaba enfermedad en estadio III. La clasificación molecular reveló un predominio de los subtipos CMS2/3 (69,4%), con recurrencias observadas en todos los subtipos. Se detectó un inmunoscore bajo con mayor frecuencia en los adenocarcinomas convencionales y serrados, así como en los tumores CMS2/3, mientras que la inestabilidad de microsatélites alta (MSI-H) se asoció con inmunoscore intermedio a alto. El tumor budding (TB) fue más prevalente entre los pacientes que presentaron recaída, especialmente en los subtipos CMS2/3 y CMS4, y se relacionó con histología serrada. La presencia de ≥ 20 focos de TB se correlacionó significativamente con metástasis hepáticas. La infiltración por macrófagos CD163+ fue frecuente en los subtipos CMS1 y CMS2/3, y se asoció a inmunoscores elevados. El tumor budding mostró impacto tanto en la supervivencia global como en la supervivencia libre de recaída, mientras que la clasificación CMS se asoció con la supervivencia global. No se encontró una relación significativa entre el inmunoscore y la supervivencia. No se observaron correlaciones con la microbiota.

CONCLUSIONES

Los subtipos moleculares de consenso (CMS) muestran patrones metastásicos diferenciados: el CMS1 se asocia predominantemente con diseminación peritoneal, el CMS2/3 con metástasis hepáticas, y el CMS4 con afectación combinada hepática y peritoneal. Los casos correspondientes al subtipo CMS2/3 que presentaron recaída se caracterizaron por un inmunoscore bajo, mientras que la infiltración por macrófagos CD163+ se correlacionó con inmunoscores elevados en los subtipos CMS1 y CMS2/3. Estos hallazgos evidencian la existencia de interacciones complejas entre la respuesta inmune del huésped y el comportamiento biológico del tumor, lo que refuerza la relevancia de considerar el microambiente tumoral en la evaluación pronóstica y terapéutica del cáncer colorrectal.

PALABRAS CLAVE

Subtipos moleculares de consenso (CMS)
Tumor budding (TB)
Cáncer colorrectal (CRC)
Inestabilidad de microsatélites alta (MSI-H)

PALABRAS TESAURO

Oncología
Biología Molecular
Inmunología

ABSTRACT

INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is one of the most prevalent malignant neoplasms worldwide, and despite advances in screening methods and treatment strategies, CRC-related mortality remains a major public health challenge. The five-year survival rate varies considerably depending on the stage of the disease, ranging from 91% in localized cases to 13% in metastatic disease.

To date, no studies have explicitly investigated the relationship between molecular subtypes of colon cancer, histology, tumor budding, immunoscore, macrophage infiltration, and microbiota. Exploring these variables could significantly enhance our understanding of this complex disease, not only in terms of prognosis but also in predicting treatment response

OBJECTIVES

This study aims to classify colorectal cancer into specific molecular subtypes using advanced immunohistochemical techniques and correlate them with relevant clinicopathological features. The relationship between these subtypes, the immunoscore, and the degree of tumor-associated macrophage infiltration will be analyzed, along with potential associations with the composition of the intestinal microbiota. This research seeks to provide an integrated understanding of the molecular and immunological factors involved in colorectal cancer progression, aiming to improve prognostic stratification and guide more personalized therapeutic strategies.

MATERIALS AND METHODS

This retrospective observational cohort study included 255 patients with colorectal cancer (CRC), selected from a pathology database at Hospital General Universitario Santa Lucía in Cartagena. Patients were mainly in localized stages, though metastatic cases were also included. Tumor samples were obtained from surgical resections using tissue microarray (TMA) cores. Demographic, clinical, and histopathological variables were collected. Molecular subtypes (CMS), immunoscore, tumor budding, and macrophage infiltration were assessed using immunohistochemistry. CMS classification was performed according to the methodology of Conesa-Zamora *et al.*¹⁹⁰ using an online IHC-based classifier.

Immunoscore was calculated based on CD3+ and CD8+ T-cell densities and grouped into low (I0–I1) and intermediate-to-high (I2–I4) categories. Tumor budding was stratified into three groups: low (<10 foci), intermediate (10–19), and high (≥ 20). Macrophage infiltration was evaluated through CD163+ staining and classified morphologically. Statistical analyses were conducted using SPSS v21. Categorical comparisons employed chi-square tests, while survival analyses used Kaplan-Meier curves with Breslow tests. Multivariate analysis was performed using Cox regression models, including clinically relevant variables with prognostic significance in CRC.

RESULTS

Among 255 CRC patients, 34.9% had stage III disease. CMS classification showed a predominance of CMS2/3 (69.4%), with relapse occurring across all subtypes. Low immunoscore was frequent in conventional and serrated adenocarcinomas, as well as CMS2/3, while MSI-H correlated with intermediate-high immunoscore. TB was prevalent in relapsed patients, particularly in CMS2/3 and CMS4, and was linked to serrated histology. TB ≥ 20 foci correlated with hepatic metastases. CD163+ macrophage infiltration was common in CMS1 and CMS2/3 and associated with high immune scores. TB influenced overall and relapse-free survival, while CMS impacted overall survival. Immunoscore showed no survival association.

CONCLUSIONS

CMS subtypes exhibit distinct metastatic patterns: CMS1 to peritoneum, CMS2/3 to liver, and CMS4 to both. Relapsed CMS2/3 cases had low immunoscore, whereas CD163+ macrophages correlated with higher immune scores in CMS1 and CMS2/3, underscoring complex interactions between immune responses and tumor behavior.

KEYWORDS

Consensus molecular subtypes (CMS)
Tumor budding (TB)
Colorectal cancer (CRC)
High microsatellite instability (MSI-H)
Immunoscore

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de tesis todo el tiempo y el esfuerzo que han dedicado en la elaboración de este proyecto de investigación. Me han apoyado en cada paso que he dado en el abordaje de esta tesis, y aunque fuera a saltos y los tiempos entre ellos se hicieran largos, agradezco la comprensión y confianza en saber, que al final llegaríamos a este momento.

A mi padre, por ser un ejemplo de rectitud, honestidad, trabajo y dedicación, siempre con humildad, para encontrar la excelencia en lo que uno hace. A mi madre, que en paz descanses, que me diste todo el amor del mundo, fuiste para mí y para otros una fuente de luz, cariño y ejemplo de lo que es ser una buena persona. A mis hermanas, por siempre impulsarme a ser mejor, gracias por siempre estar ahí cuando lo necesito. A mi familia en general, siempre agradeceré el amor y los valores que me han acompañado estando a su lado.

Cómo no agradecer a Joaquín Herraiz, que, gracias a su apoyo, interés, cariño y motivación, este proyecto salió adelante. Gracias por ser el mejor compañero que se puede tener.

A Gines Luengo, por la inconmensurable ayuda y aportación a este trabajo, agradezco la amistad, confianza, alegría y apoyo.

A los compañeros que han trabajado conmigo y que me han ayudado siempre que lo he necesitado, en especial a Ana Albaladejo y Antonio Lázaro, doy gracias por tener la suerte de no haberme encontrado solo en el arduo camino que suponen los retos de la oncología.

En especial cómo no agradecer a la persona que hizo que hoy en día esté embarcado en este mundo de la investigación y la ciencia. A ti Teresa García, por ser fuente de inspiración y motor en mi desarrollo científico. Gracias por tu acompañamiento y el poder tenerte como referente del buen hacer médico, y la inspiración para perseguir cada día ser mejor médico, así como persona. Gracias por el entusiasmo que transmites a todos nosotros.

A los pacientes, la motivación y el avance de la ciencia no tendría sentido sin ustedes.

Por último y no menos importante quiero agradecer a SEOM, no solo por haberme dado la gran oportunidad de participar en este proyecto gracias a la beca, sino por haber podido colaborar en un estudio de investigación científica, tan difícil de poder realizar en estos días.

*"Research is to see what everybody else has seen, and to think
what nobody else has thought."*

Albert Szent-Györgyi (1893-1986).

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE LO/S DIRECTOR/ES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT	10
AGRADECIMIENTOS	12
ÍNDICE GENERAL.....	16
SIGLAS Y ABREVIATURAS	21
ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS.....	25
ÍNDICE DE FIGURAS	25
ÍNDICE DE TABLAS.....	27
ÍNDICE DE GRÁFICAS	31
I - INTRODUCCIÓN	35
1.1 Epidemiología.....	35
1.1.1 Incidencia	35
1.1.2 Mortalidad.....	39
1.2 Cribado	41
1.2.1 Colonoscopia.....	41
1.2.2 Colonografía por tomografía computarizada	41
1.2.3 Sangre oculta en heces.....	42
1.2.4 Programa de cribado en España	42
1.3 Factores de riesgo.....	43
1.3.1 Síndromes familiares de CCR.....	43
1.3.2 Antecedentes de CCR y/o pólipos	44
1.3.3 Enfermedad inflamatoria intestinal.....	45
1.3.4 Edad	45
1.3.5 Otros factores	45
1.4 Síntomas de presentación.....	45
1.4.1 Síntomas locales.....	46
1.4.2 Síntomas en enfermedad metastásica.....	47
1.5 Diagnóstico.....	47
1.5.1 Colonoscopia.....	48
1.5.2 Colonografía por tomografía computarizada	48

1.5.3 Cápsula endoscópica	49
1.5.4 Marcadores tumorales	50
1.6 Estadificación	50
1.6.1 Tomografía computarizada	52
1.6.2 Tomografía por emisión de positrones con fluorodesoxiglucosa	52
1.6.3 Resonancia magnética	53
1.7 carcinogénesis	54
1.7.1 Secuencia adenoma-carcinoma	54
1.7.2 Vía supresora o de inestabilidad cromosómica	56
1.7.3 Vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites	57
1.7.4 Vía serrada o del fenotipo metilador	58
1.8 Tipos de pólipos	58
1.9 Clasificación del CCR	59
1.9.1 Clasificación por estadio TNM.....	59
1.9.2 Clasificación por lateralidad	60
1.9.3 Clasificación histológica	60
1.10 Correlación clínico-patológica-molecular	62
1.11 Clasificación molecular del cáncer de colon.....	64
1.12 biomarcadores en CCR.....	69
1.13 Tratamiento del cáncer de colon	70
1.13.1 Cirugía	70
1.13.2 Quimioterapia.....	72
1.13.3 Radioterapia.....	76
1.14 Implicaciones Clínicas de los subtipos moleculares del cáncer de colon....	76
1.15 Microambiente inmune tumoral	78
1.15.1 Macrófagos	78
1.15.2 Infiltración tumoral por linfocitos T	83
1.15.3 Inmunoscore	85
1.16 microbiota.....	86
II - JUSTIFICACIÓN	92
2.1. Precisión en el Tratamiento y Medicina Personalizada	92
2.2. Valor Pronóstico y Optimización de la Gestión Clínica	92
2.3. Microentorno Tumoral e Inmunidad	93
2.4. Microbiota Intestinal y su Impacto en el CCR	93
2.5. Descubrimiento de Biomarcadores para Diagnóstico y Seguimiento	93
2.6. Avanzando en el Conocimiento Científico.....	93
III – HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	97
3.1 Hipótesis.....	97
3.2 Objetivo primario	97

3.3 Objetivos secundarios.....	97
IV - MATERIALES Y MÉTODOS	101
4.1 Diseño:	101
4.2 Lugar del Estudio:.....	101
4.3 Muestra:.....	101
4.3.1 Construcción de <i>microarrays</i> tisulares.....	101
4.4 Variables:	102
4.4.1 Variables demográficas:	102
4.4.2 Variables histopatológicas	102
4.4.3 Variables Clínicas	103
4.5 Método de estudio:	103
4.5.1 Método de análisis de muestras para el análisis de <i>RAS</i> y <i>BRAF</i> :	104
4.5.2 Análisis de la inestabilidad de microsatélites (MSI):	105
4.5.3 Subtipos moleculares (CMS):.....	105
4.5.4 <i>Tumor Budding</i> :.....	106
4.5.5 Microbiota:	107
4.5.6 Inmunoscore:	108
4.5.7 Macrófagos:.....	109
4.5.8 Evaluación del fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP).....	110
4.6 Consentimiento y consideraciones éticas:	111
4.7 Análisis de Datos:.....	112
4.8 Medios Disponibles:.....	113
4.8.1 Laboratorio 4:.....	113
4.8.2 Laboratorio 6:.....	113
4.8.3 Laboratorio 7:.....	114
4.8.4 Laboratorio 5:.....	114
4.8.5 Laboratorio 9:.....	114
4.9 soporte y financiación:.....	115
V - RESULTADOS.....	118
5.1. Descripción de la muestra de pacientes analizada.....	118
5.1.1 Características demográficas básicas.....	118
5.1.2 Características clínico-patológicas al diagnóstico.....	119
5.1.3 Infiltración tumoral.....	124
5.1.4 Clasificación del subtipo molecular.....	125
5.1.5 Clasificación Inmunoscore	126
5.1.6 Estudio de la microbiota.....	126
5.1.7 Tratamiento recibido.....	127
5.1.8 Supervivencia global.....	129

5.1.9 Supervivencia libre de progresión	130
5.2. Relación con los subtipos moleculares	131
5.2.1. Relación con las características demográficas básicas	132
5.2.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico	133
5.2.3 Relación con la infiltración tumoral.....	138
5.2.4 Relación con la clasificación Inmunoscore	140
5.2.5 Relación con la microbiota	142
5.2.6 Relación con el tratamiento recibido	143
5.2.7 Relación con la supervivencia global	144
5.2.8 Relación con la supervivencia libre de progresión.....	150
5.3. Relación con el tumor budding	156
5.3.1. Relación con las características demográficas básicas	157
5.3.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico	157
5.3.3 Relación con la infiltración tumoral.....	162
5.3.4 Relación con el subtipo molecular	164
5.3.5 Relación con la clasificación Inmunoscore	165
5.3.6 Relación con la microbiota	165
5.3.7 Relación con el tratamiento recibido	166
5.3.8 Relación con la supervivencia global	167
5.3.9 Relación con la supervivencia libre de progresión.....	174
5.4. Relación con la infiltración macrofágica CD163+	180
5.4.1. Relación con las características demográficas básicas	181
5.4.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico	181
5.4.3 Relación con la infiltración tumoral.....	185
5.4.4 Relación con el subtipo molecular	185
5.4.5 Relación con la clasificación Inmunoscore	186
5.4.6 Relación con la microbiota	186
5.4.7 Relación con el tratamiento recibido	187
5.4.8 Relación con la supervivencia global	188
5.4.9 Relación con la supervivencia libre de progresión.....	189
5.5. Relación con la infiltración macrofágica CD14+	190
5.5.1. Relación con las características demográficas básicas	191
5.5.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico	191
5.5.3 Relación con la infiltración tumoral.....	194
5.5.4 Relación con el subtipo molecular	195
5.5.5 Relación con la clasificación Inmunoscore	196
5.5.6 Relación con la microbiota	196
5.5.7 Relación con el tratamiento recibido	197
5.5.8 Relación con la supervivencia global	198

5.5.9 Relación con la supervivencia libre de progresión.....	199
5.6. Relación con la microbiota	200
5.6.1. Relación con las características demográficas básicas	201
5.6.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico	201
5.6.3 Relación con la infiltración tumoral.....	206
5.6.4 Relación con el subtipo molecular	208
5.6.5 Relación con la clasificación Inmunoscore	208
5.6.6 Relación con el tratamiento recibido	209
5.6.7 Relación con la supervivencia global	210
5.6.8 Relación con la supervivencia libre de progresión.....	211
VI - DISCUSIÓN.....	215
6.1 Características demográficas y clínicas	215
6.2 Caracterización Patológica.....	216
6.2.1 Histología	216
6.2.2 Invasión Linfovascular y Perineural	216
6.2.3 Patrón de Crecimiento Tumoral.....	216
6.2.4 Tumor Budding	217
6.3 Caracterización Inmunohistoquímica de los Subtipos Moleculares	220
6.4 Caracterización Inmunológica.....	224
6.4.1 Infiltración por Macrófagos	225
6.4.2 Inmunoscore	230
6.5 Microbiota	232
VII LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	238
VIII – CONCLUSIONES.....	243
IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	246
X – ANEXOS	269

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ACS – American Cancer Society
AJCC – American Joint Committee on Cancer
ANOVA – Analysis of Variance
APC – Adenomatous Polyposis Coli
BRAF - V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1
Ca19.9 – Antígeno de Carbohidrato 19.9
CAFs – Fibroblastos Asociados al Cáncer
CCE – Cápsula Endoscópica de Colon
CCMS – Sistema de Subtipos Moleculares de Cáncer de Colon
CCNPH – Cáncer Colorrectal No Polipósico Hereditario
CCR – Cáncer Colorrectal
CCRm – Cáncer Colorrectal Metastásico
CCS – Colon Cancer Subtypes
CD – Cluster of Differentiation
CEA – Antígeno Carcinoembrionario
CIMP - CpG Island Methylator Phenotype
CIN – Inestabilidad Cromosómica
CMS – Consensus Molecular Subtype
CRC – Colorectal Cancer
CRCA – Sistema de Asignación de Cáncer Colorrectal
CRCSC – Consorcio de Subtipificación del Cáncer Colorrectal
CT – Centro del Tumor
CTC – Colonografía por tomografía Computarizada
CTLs – Linfocitos T Citotóxicos
DC – Células Dendríticas
DFS – Disease Free Survival
ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR – Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico
FDG – Fluorodesoxiglucosa

FDR – False Discovery Rate
FIT – Inmunocromatografía de Sangre en Heces
gFOBT - Guaiac Fecal Occult Blood Test
HER2 – Receptor 2 del Factor de Crecimiento Epidérmico Humano
HR – Hazard Ratio
IC – Intervalo de Confianza
IFN – Interferón
IHC – Immunohistochemistry
IHQ - Inmunohistoquímica
KRAS - Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homologue
LCCRT – Long Course Chemoradiotherapy
MAPK - Mitogen-Activated Protein Kinase
MGMT - O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase
MI – Márgen Invasivo
MMR – Mismatch Repair Deficiency
MSI – Inestabilidad de Microsatélites
MUTHY - MUtation in Y-Box-Containing Protein
NCCN - National Comprehensive Cancer Network
NCI – National Cancer Institute
NGS – Next Generation Sequencing
NKT – Células T Natural Killer
NOS – Not Otherwise Specified
NRAS - Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog
OMS – Organización Mundial de la Salud
PAF – Poliposis Adenomatosa Familiar
PAFA – Poliposis Adenomatosa Familiar Atenuada
PCR – Reacción en Cadena de la Polimerasa
PET – Tomografía por Emisión de Positrones
PFS – Progression Free Survival
PTL – Lateralidad del Tumor Primario
RFS – Relapse Free Survival
RM – Resonancia Magnética
SAR – Survival After Relapse

SBRT – Stereotactic Body Radiotherapy
SCNA - Somatic Copy Number Alterations
SCRT – Short Course Radiotherapy
SG – Supervivencia Global
SMAD4 - Suppressor of Mothers Against Decapentaplegic 4
SLP – Supervivencia Libre de Progresión
SOH – Sangre Oculta en Heces
TAMs – Tumor Associated Macrophages
TB – Tumor Budding
TC – Tomografía Computarizada
TILs - Tumor-Infiltrating Lymphocytes
TMA – Microarray Tisular
TME – Escisión Total del Mesorrecto
TNF – Factor de Necrosis Tumoral
TNM – Tumor-Node-Metastasis
TP53 - Transformation-related Protein 53
TREGS – Células T Reguladoras
TVP – Trombosis Venosa Profunda
UICC – The Union for International Cancer Control
UNESCO - Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Incidencia a nivel mundial en 2020 para hombres y mujeres. 35

Figura 2: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades. 36

Figura 3: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades. 36

Figura 4: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades. 37

Figura 5: Número estimado de nuevos casos a nivel mundial desde el 2020 al 2040, para ambos sexos, en edades comprendidas entre los 0 y 85+ años. 38

Figura 6: Número estimado de nuevos casos en España desde el 2020 al 2040, para ambos sexos, en edades comprendidas entre los 0 y 85+ años. 38

Figura 7: Número estimado de muertes en 2020 a nivel mundial, ambos sexos, todas las edades. 39

Figura 8: Número estimado de muertes en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades. 40

Figura 9: TNM octava edición. 51

Figura 10: Secuencia adenoma-carcinoma. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990 Jun 1;61(5):759-67. doi: 10.1016/0092-8674(90)90186-i. PMID: 2188735. 55

Figura 11: Vías de la carcinogénesis colorrectal. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. Gastroenterology. 2020 Jan;158(2):291-302. doi: 10.1053/j.gastro.2019.08.059. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31622622; PMCID: PMC6981255. 57

Figura 12: World Health Organization Classification of Colorectal Cancer. Niederhuber, J. E., Armitage, J. O., Doroshow, J. H., Kastan, M. B., & Tepper, J. E. (2019). Abeloff's Clinical Oncology (pp. 1–2037). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00124-9>. 61

Figura 13: Derivación de los grupos 1 a 5 del cáncer colorrectal molecular según el estado del CIMP (A, alto; B, bajo; Neg, negativo) y el estado MSI (A, alto; B, bajo; S, estable). Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. Histopathology. 2007 Jan;50(1):113-30. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02549.x. PMID: 17204026. 65

Figura 14: Subtipos Moleculares del CRC. Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reyniès, A., Schlicker, A., Soneson, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G.,

<i>Angelino, P., Bot, B. M., Morris, J. S., Simon, I. M., Gerster, S., Fessler, E., De Sousa E Melo, F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., Homicsko, K., ... Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nature medicine, 21(11), 1350–1356. https://doi.org/10.1038/nm.3967.</i>	69
<i>Figura 15: Diferentes Clasificaciones Propuestas para el CRC. Rodriguez-Salas, N., Dominguez, G., Barderas, R., Mendiola, M., García-Albéniz, X., Maurel, J., & Batlle, J. F. (2017). Clinical relevance of colorectal cancer molecular subtypes. Critical reviews in oncology/hematology, 109, 9–19. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.11.007.</i>	69
<i>Figura 16: Cambios funcionales, morfológicos y funciones de los macrófagos. Mantovani, A., Marchesi, F., Malesci, A., Laghi, L., & Allavena, P. (2017). Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. Nature reviews. Clinical oncology, 14(7), 399–416. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217.</i>	79
<i>Figura 17: Marcadores específicos de los macrófagos. Yao, Y., Xu, X., & Jin, L. (2019). Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. Frontiers in Immunology, 10, 434399. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00792</i>	81
<i>Figura 18: Características de los macrófagos M1 y M2. Anfray, Clément & Ummarino, Aldo & Torres Andón, Fernando & Allavena, Paola. (2019). Current Strategies to Target Tumor-Associated-Macrophages to Improve Anti-Tumor Immune Responses. Cells. 9. 46. 10.3390/cells9010046.....</i>	82
<i>Figura 19: Composición de la microbiota. Cells 9(1):46. December 2019.</i>	86
<i>Figura 20: Fotografía Propia de Tinciones IHQ para HTR2B, ZEB1, FRMD6, KER y CDX-2.....</i>	106
<i>Figura 21: Fotografía Propia de Tinción para CD163.</i>	110

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Características demográficas de los pacientes incluidos en el estudio</i>	118
<i>Tabla 2. Características al diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio</i>	120
<i>Tabla 3. Características del tumor colorrectal diagnosticado en los pacientes incluidos en el estudio</i>	121
<i>Tabla 4. Características del tumor colorrectal diagnosticado según grupo histológico</i> ...	122
<i>Tabla 5. Pruebas de marcadores tumorales en los pacientes incluidos en el estudio</i>	123
<i>Tabla 6. Características de las infiltraciones analizadas en los pacientes incluidos en el estudio</i>	124
<i>Tabla 7. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas</i>	125
<i>Tabla 8. Microbiota de los pacientes incluidos en el estudio con valoración</i>	126
<i>Tabla 9. Tratamiento quirúrgico del cáncer colorrectal en los pacientes incluidos en el estudio</i>	128
<i>Tabla 10. Tratamiento adyuvante en los pacientes incluidos en el estudio</i>	128
<i>Tabla 11. Causa de muerte de los pacientes que fallecen</i>	129
<i>Tabla 12. Características demográficas básicas según clasificación CMS</i>	132
<i>Tabla 13. Características al diagnóstico según clasificación CMS</i>	133
<i>Tabla 14. Características del tumor colorrectal diagnosticado según clasificación CMS</i>	134
<i>Tabla 15. Estadio clínico según clasificación CMS</i>	136
<i>Tabla 16. Mutaciones del Ras y BRAF según clasificación CMS</i>	137
<i>Tabla 17. Características de las infiltraciones analizadas según clasificación CMS</i>	138
<i>Tabla 18. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas según clasificación CMS</i>	139
<i>Tabla 19. Clasificación Inmunoscore según clasificación CMS</i>	141
<i>Tabla 20. Clasificación Inmunoscore según clasificación CMS y tipo histológico</i>	141
<i>Tabla 21. Microbiota de los pacientes según clasificación CMS</i>	142
<i>Tabla 22. Tratamiento quirúrgico y adyuvante según grupo CMS</i>	143
<i>Tabla 23. Tratamiento quirúrgico y adyuvante según grupo CMS</i>	143
<i>Tabla 24. Estado en la última visita según grupo CMS</i>	144
<i>Tabla 25. Modelización univariante de la supervivencia global en pacientes con CMS</i> .	146
<i>Tabla 26. Modelización multivariante de la supervivencia global en pacientes con CMS</i>	149
<i>Tabla 27. Progresión durante el seguimiento según grupo CMS</i>	150
<i>Tabla 28. Modelización univariante de la supervivencia libre de progresión en pacientes con CMS</i>	152

Tabla 29. Modelización multivariante de la supervivencia libre de progresión en pacientes con CMS	155
Tabla 30. Características demográficas básicas según clasificación tumor budding	157
Tabla 31. Características al diagnóstico según clasificación tumor budding	157
Tabla 32. Características del tumor colorrectal diagnosticado según clasificación tumor budding	158
Tabla 33. Estadio clínico según presencia de tumor budding	159
Tabla 34. Pruebas de marcadores tumorales según presencia de tumor budding	161
Tabla 35. Características de las infiltraciones analizadas según presencia de tumor budding	162
Tabla 36. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas según presencia tumor budding	163
Tabla 37. Subtipo molecular según presencia de tumor budding	164
Tabla 38. Clasificación InmunoScore según presencia de tumor budding	165
Tabla 39. Microbiota de los pacientes según presencia de tumor budding	166
Tabla 40. Tratamiento quirúrgico según presencia de tumor budding	166
Tabla 41. Tratamiento quimioterapia adyuvante según presencia de tumor budding	167
Tabla 42. Estado en la última visita según presencia de tumor budding	167
Tabla 43. Modelización univariante de la supervivencia global en pacientes con tumor budding	169
Tabla 44. Modelización multivariante de la supervivencia global en pacientes con tumor budding	173
Tabla 45. Progresión durante el seguimiento según tumor budding.....	174
Tabla 46. Modelización univariante de la SLP en pacientes con tumor budding.....	176
Tabla 47. Modelización multivariante de la SLP en pacientes con tumor budding	179
Tabla 48. Características demográficas básicas según tipo de infiltración macrofágica CD163+	181
Tabla 49. Características al diagnóstico según tipo de infiltración macrofágica CD163+	182
Tabla 50. Características del tumor colorrectal según tipo de infiltración macrofágica CD163+	183
Tabla 51. Estadio clínico según tipo de infiltración macrofágica CD163+	184
Tabla 52. Pruebas de marcadores tumorales según tipo de infiltración macrofágica CD163+	184
Tabla 53. Características de las infiltraciones analizadas según tipo de infiltración macrofágica CD163+.....	185
Tabla 54. Subtipo molecular según tipo de infiltración macrofágica CD163+	186
Tabla 55. Clasificación Inmunoscore según tipo de infiltración macrofágica CD163+ ..	186

<i>Tabla 56. Microbiota de los pacientes según tipo de infiltración macrofágica CD163+ ..</i>	187
<i>Tabla 57. Tratamiento quirúrgico según tipo de infiltración macrofágica CD163+.....</i>	187
<i>Tabla 58. Tratamiento quimioterapia adyuvante según tipo de infiltración macrofágica CD163+.....</i>	188
<i>Tabla 59. Estado en la última visita según tipo de infiltración macrofágica CD163+.....</i>	188
<i>Tabla 60. Progresión durante el seguimiento según tipo de infiltración macrofágica CD163+.....</i>	189
<i>Tabla 61. Características demográficas básicas según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	191
<i>Tabla 62. Características al diagnóstico según tipo de infiltración macrofágica CD14+.</i>	192
<i>Tabla 63. Características del tumor colorrectal según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	193
<i>Tabla 64. Estadio clínico según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	193
<i>Tabla 65. Pruebas de marcadores tumorales según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	194
<i>Tabla 66. Características de las infiltraciones analizadas según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	195
<i>Tabla 67. Subtipo molecular según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	196
<i>Tabla 68. Clasificación Inmunoscore según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	196
<i>Tabla 69. Microbiota de los pacientes según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	197
<i>Tabla 70. Tratamiento quirúrgico según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	197
<i>Tabla 71. Tratamiento quimioterapia adyuvante según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	198
<i>Tabla 72. Estado en la última visita según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	198
<i>Tabla 73. Progresión durante el seguimiento según tipo de infiltración macrofágica CD14+.....</i>	199
<i>Tabla 74. Microbiota de los pacientes según características demográficas básicas.....</i>	201
<i>Tabla 75. Microbiota de los pacientes según características al diagnóstico.....</i>	202
<i>Tabla 76. Microbiota de los pacientes según características del tumor colorrectal.....</i>	203
<i>Tabla 77. Microbiota de los pacientes según estadio clínico.....</i>	204
<i>Tabla 78. Microbiota de los pacientes según resultado de las pruebas de marcadores tumorales.....</i>	206
<i>Tabla 79. Microbiota de los pacientes según infiltraciones analizadas.....</i>	207
<i>Tabla 80. Microbiota de los pacientes según subtipo molecular.....</i>	208
<i>Tabla 81. Microbiota de los pacientes según clasificación Inmunoscore.....</i>	208
<i>Tabla 82. Microbiota de los pacientes según tratamiento quirúrgico recibido.....</i>	209
<i>Tabla 83. Relación entre la microbiota de los pacientes y características quirúrgicas.....</i>	210
<i>Tabla 84. Microbiota de los pacientes según tratamiento quimioterapia adyuvante.....</i>	210
<i>Tabla 85. Supervivencia global según su microbiota.....</i>	210

Tabla 86. Supervivencia libre de progresión según su microbiota..... 211

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Pirámide poblacional de los pacientes incluidos en el estudio 119

Gráfica 2. Distribución del año de diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio.. 119

Gráfica 3. Distribución de la valoración ECOG al diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio 121

Gráfica 4. Estadio clínico de los pacientes incluidos en el estudio 123

Gráfica 5. Subtipo molecular de los pacientes incluidos en el estudio con valoración 125

Gráfica 6. Clasificación InmunoScore de los pacientes incluidos en el estudio con valoración 126

Gráfica 7. Distribución de los índices de diversidad de los pacientes incluidos en el estudio 127

Gráfica 8. Supervivencia global estimada de los pacientes incluidos en el estudio 130

Gráfica 9. Supervivencia libre de progresión estimada de los pacientes incluidos en el estudio 131

Gráfica 10. Distribución de los pacientes por sexo según clasificación CMS 133

Gráfica 11. Distribución de los pacientes por presencia de pólipos según clasificación CMS 134

Gráfica 12. Distribución de las características del tumor colorrectal según clasificación CMS 136

Gráfica 13. Distribución del estadio clínico de los pacientes según clasificación CMS... 137

Gráfica 14. Distribución de la Infiltración macrofágica de los pacientes según clasificación CMS 139

Gráfica 15. Distribución de la clasificación InmunoScore de los pacientes según clasificación CMS 141

Gráfica 16. Supervivencia global estimada según grupo CMS 145

Gráfica 17. Supervivencia libre de progresión estimada según grupo CMS 151

Gráfica 18. Distribución de la presencia de tumor budding según características del tumor colorrectal 159

Gráfica 19. Distribución del estadio clínico según presencia de tumor budding 160

Gráfica 20. Distribución de marcadores tumorales según presencia de tumor budding . 161

Gráfica 21. Distribución de la Infiltración macrofágica según presencia de tumor budding 163

Gráfica 22. Distribución del subtipo molecular según presencia de tumor budding 165

Gráfica 23. Supervivencia global estimada según presencia de tumor budding 169

Gráfica 24. Supervivencia libre de progresión estimada según presencia de tumor budding 175

<i>Gráfica 25. Supervivencia global estimada según tipo de infiltración macrofágica CD163+</i>	189
<i>Gráfica 26. Supervivencia libre de progresión estimada según tipo de infiltración macrofágica CD163+</i>	190
<i>Gráfica 27. Supervivencia global estimada según tipo de infiltración macrofágica CD14+</i>	199
<i>Gráfica 28. Supervivencia libre de progresión estimada según tipo de infiltración macrofágica CD14+</i>	200

I - INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1 EPIDEMIOLOGÍA

1.1.1 Incidencia

El cáncer colorrectal (CCR) es la segunda neoplasia maligna diagnosticada en mujeres y la tercera en hombres con un número estimado de casos incidentes en 2020 a nivel mundial de 865.630 y 1.065.960 respectivamente (fig. 1), y con una incidencia para ambos sexos de 1.931.590 en 2020 ⁽¹⁾.

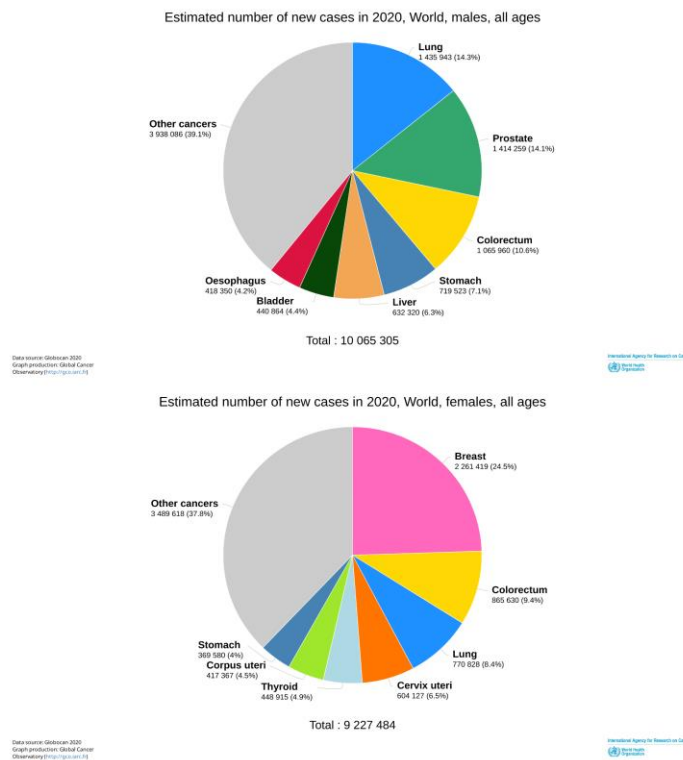


Figura 1: Incidencia a nivel mundial en 2020 para hombres y mujeres.

La incidencia es mayor en los países desarrollados (fig. 2), la más elevada en Hungría (45.3 cada 100.000 habitantes) (fig. 3). España se sitúa en el décimo puesto a nivel europeo con una incidencia de 35.8 cada 100.000 habitantes (fig. 4) (1).

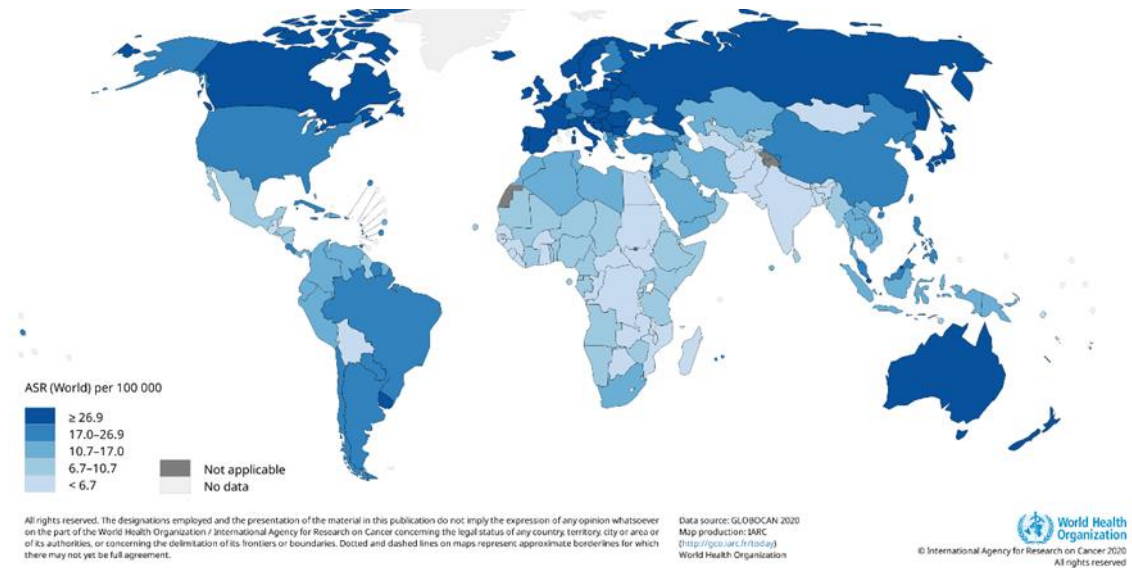


Figura 2: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades.

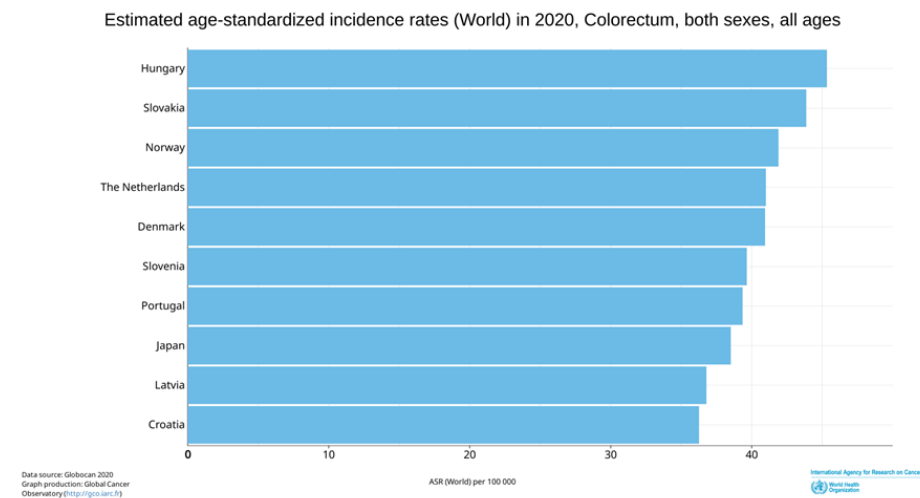


Figura 3: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades.

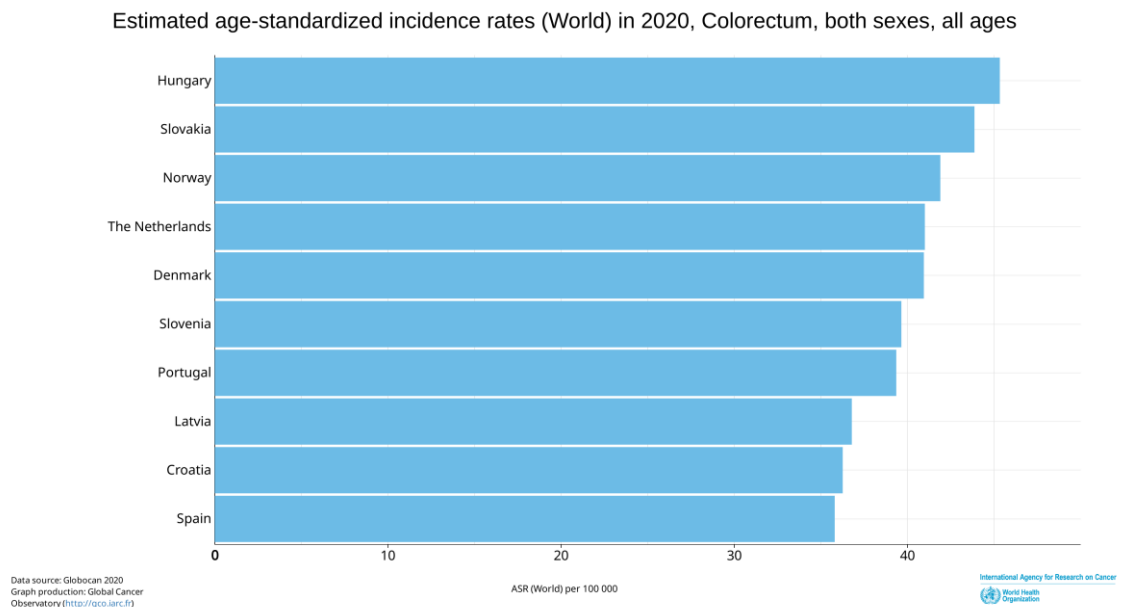


Figura 4: Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad (Mundial) en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades.

Se espera que en 2040 el número de casos nuevos de CCR a nivel mundial ascienda a 3.080.000 (fig. 5) ⁽¹⁾. En España la cifra pasaría de 39.900 en 2020 a 55.100 en 2040 (fig. 6) ⁽¹⁾. Este aumento estimado en la incidencia se debe a que se espera que en las personas con más de 79 años se triplique para el 2050 a nivel mundial, pasando de una cifra de 143 millones en 2019 a 426 millones para el 2050 debido al envejecimiento y crecimiento de la población ⁽²⁾.

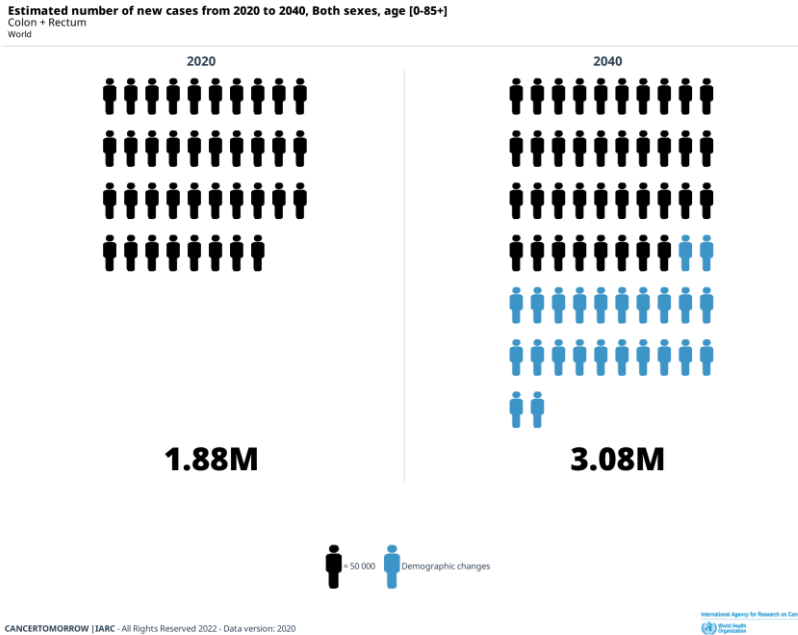


Figura 5: Número estimado de nuevos casos a nivel mundial desde el 2020 al 2040, para ambos sexos, en edades comprendidas entre los 0 y 85+ años.

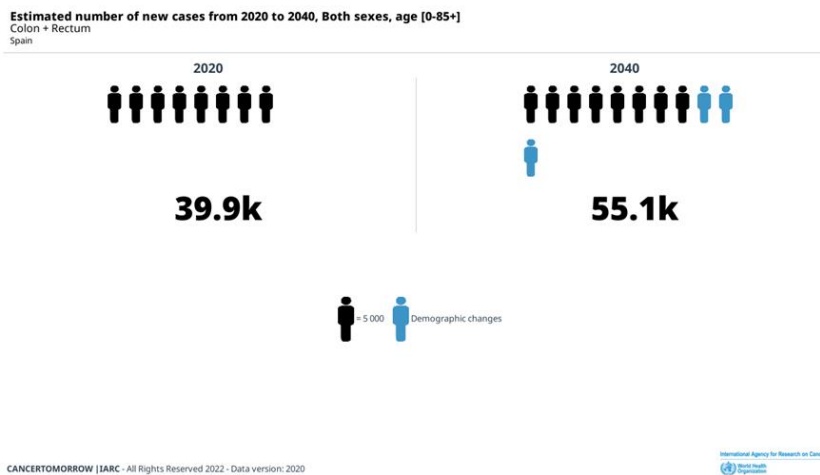


Figura 6: Número estimado de nuevos casos en España desde el 2020 al 2040, para ambos sexos, en edades comprendidas entre los 0 y 85+ años.

1.1.2 Mortalidad

El CCR también es uno de los cánceres que ocasionan una de las mortalidades más elevadas. En 2020 la mortalidad a nivel mundial fue de 935.173 para ambos sexos (fig. 7) por lo tanto es un problema grave de salud a nivel mundial ⁽¹⁾.

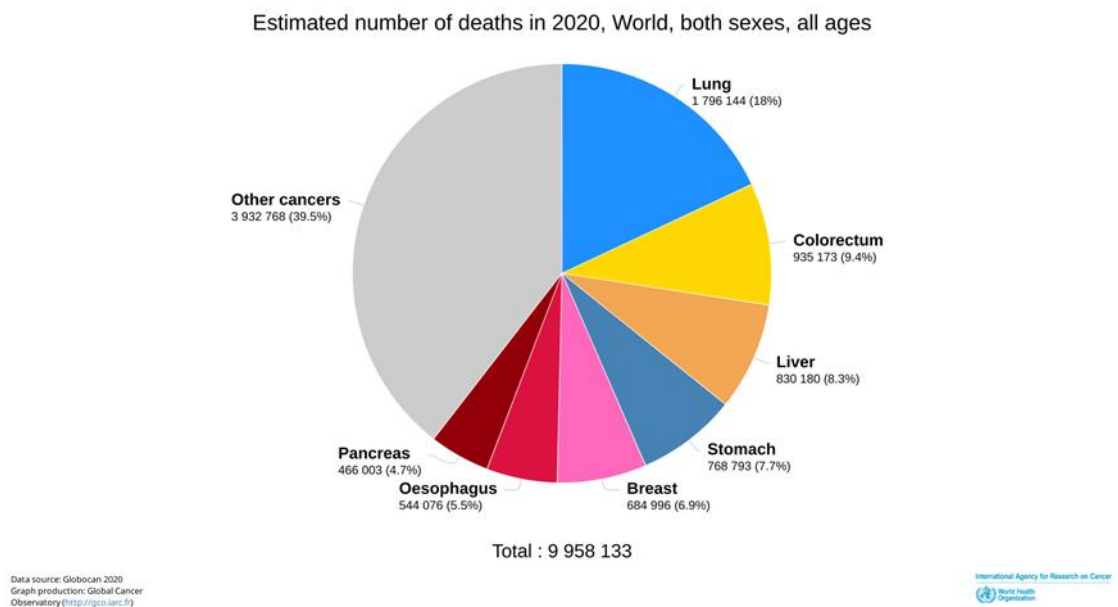


Figura 7: Número estimado de muertes en 2020 a nivel mundial, ambos sexos, todas las edades.

En Europa el número estimado de muertes en 2020 fue del 26.2% (244.824) (fig. 8) y en España de un 6.7% (16.470) (fig. 8) ⁽¹⁾.

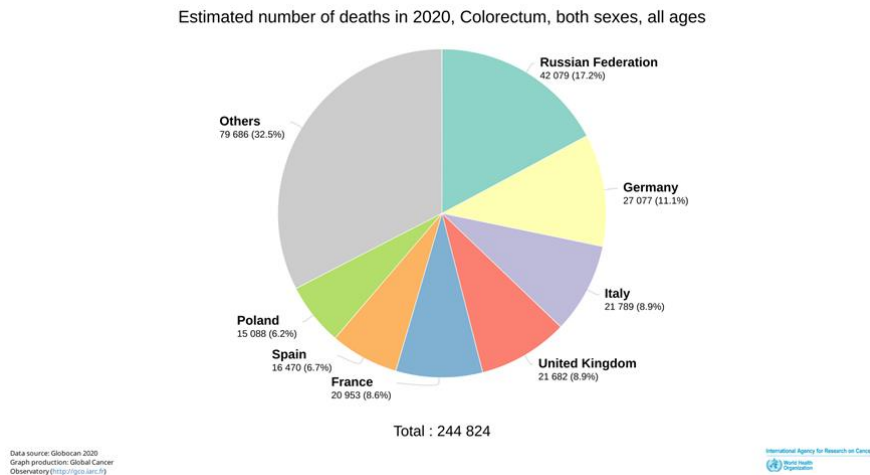


Figura 8: Número estimado de muertes en 2020, colorrectal, ambos sexos, todas las edades.

A pesar del aumento en la incidencia del CCR a nivel mundial, también podemos observar una reducción en la mortalidad especialmente en países desarrollados como se puede objetivar en la figura 10, en la que se observa datos de incidencia y mortalidad en hombres y mujeres en España desde 1943 al 2018 ⁽¹⁾. A pesar de que se evidencia una reducción general en las tasas de mortalidad, se anticipa que la cifra absoluta de decesos aumentará como resultado del crecimiento y envejecimiento de la población ⁽²⁾.

El estadio del cáncer en el momento del diagnóstico está fuertemente relacionado con la supervivencia. De acuerdo a la Sociedad Americana del Cáncer (ACS) la supervivencia a 5 años para todos los estadios es del 65% ⁽³⁾. La supervivencia del CCR en estadios localizados es del 91%, para aquellos con extensión local del 72% y para enfermedad metastásica del 13% ⁽⁴⁾.

En Europa, de acuerdo a los datos del EURO CARE-5, la supervivencia estandarizada para 5 años es del 57% para cáncer de colon y 55.8% para cáncer de recto con datos similares para España (57.1% y 56.4% respectivamente) ⁽⁵⁾. Llama

la atención en los datos del EUROCORE-5 el aumento en supervivencia a los 5 años con el paso del tiempo, pasando de un 54.2% en 1999-2001 al 58.1% en el periodo del 2005-2007 para cáncer de colon con un aumento similar de aproximadamente un 4% para cáncer de recto ⁽⁵⁾. Esta modesta mejora en la supervivencia no solo parece estar relacionada con los avances en las técnicas quirúrgicas y tratamiento adyuvante, sino que también puede ser reflejo del beneficio de la implantación de programas de cribado para la detección precoz del CCR,^(3,6,7) como son la colonoscopia y la sangre oculta en heces (SOH), ya que ambas han demostrado una reducción de la incidencia y mortalidad ⁽⁷⁾.

1.2 CRIBADO

Una variedad de estrategias están actualmente disponibles para la detección en la población de riesgo, es decir, personas asintomáticas de 50 años o más sin otros factores de riesgo conocidos para el desarrollo de CCR. En términos generales, y como previamente se ha mencionado, las pruebas utilizadas para la detección de CCR se pueden clasificar en pruebas invasivas, como la colonoscopia, y pruebas no invasivas, como la SOH. Todos éstos métodos tienen sus ventajas y desventajas en cuanto a su sensibilidad, especificidad, riesgo, accesibilidad, aceptación y costo, pero también, todos han demostrado su utilidad para reducir la incidencia y mortalidad del CCR ⁽⁸⁾.

1.2.1 Colonoscopia

La colonoscopia es considerada la prueba de referencia para la detección de cáncer y lesiones precancerosas como los pólipos, por lo que se considera la prueba definitiva a realizar cuando otra prueba de detección es positiva (como la SOH) ⁽⁹⁾.

1.2.2 Colonografía por tomografía computarizada

Esta técnica fue introducida en 1994 e implica el uso de datos de tomografía computarizada (TC) helicoidal en combinación con software gráfico que genera imágenes del colon en dos y tres dimensiones. La prueba es solo diagnóstica y, así como la colonoscopia, requiere una buena preparación previa del colon. Aunque

la persona está expuesta a radiación, la dosis es mucho menor que la utilizada en otras tomografías computarizadas ⁽¹⁰⁾.

En cuanto a la comparación entre la colonoscopia y la CTC, una revisión reciente y un metaanálisis informaron tasas de participación del 20% para la primera y del 29% para la segunda. Las tasas de detección de neoplasias colorrectales avanzadas fueron del 5.7% para la CTC y del 8.5% para la colonoscopia, por lo que los autores concluyen que la colonoscopia virtual no debería reemplazar a la colonoscopia ⁽¹¹⁾.

1.2.3 Sangre oculta en heces

La efectividad de una prueba de detección depende no solo de su rendimiento diagnóstico, sino también en gran medida de la aceptación de la prueba por parte de la población ⁽¹²⁾. La prueba clínica no invasiva más comúnmente utilizada es la de SOH. Ésta se basa en el hecho de que pólipos y tumores sangran, estimando que aproximadamente un tercio de las lesiones sangran y que la pérdida de sangre aumenta con el tamaño de la lesión ⁽¹³⁾. Sin embargo, el sangrado es intermitente y se distribuye de manera desigual en las heces. Además, la presencia de sangre en las heces no necesariamente indica la presencia de un pólipo o tumor, y puede deberse a otras patologías como hemorroides o procesos inflamatorios.

La hemoglobina en las heces puede ser detectada mediante pruebas químicas basadas en guayaco (gFOBT) o inmunocromatográficas (FIT, prueba inmunocromatográfica de sangre en heces). De todos los métodos recomendados en las pautas clínicas, la prueba inmunocromatográfica de sangre en heces (FIT) constituye la prueba de detección no invasiva con menos riesgo, más económica y más accesible. Sin embargo, aunque su sensibilidad es adecuada para el diagnóstico de CCR (73-88%) , no es adecuada para lesiones premalignas (22-56%) ^(14,15).

1.2.4 Programa de cribado en España

Ya en 2003, el Consejo Europeo recomendó a todos los estados miembros de la Unión Europea (UE) la detección del cáncer colorrectal a través de la prueba de SOH (Recomendación 2003/878/CE, Diario Oficial de la Unión Europea, 2003). En España, se establecieron diferentes programas piloto (Cataluña en 2000, Comunidad Valenciana en 2005 y Región de Murcia en 2006), que sirvieron como base para que el Ministerio de Sanidad de España elaborara en 2006 un Plan Estratégico Nacional para el Cáncer Colorrectal (Estrategia en Cáncer del Sistema Nacional de Salud) ⁽¹⁶⁾. Actualmente, las 17 comunidades autónomas cuentan con programas de detección, y desde finales del 2019, 10 de ellas tienen cobertura completa en su territorio.

1.3 FACTORES DE RIESGO

Tanto factores ambientales como genéticos pueden aumentar la probabilidad de desarrollar CCR. A pesar de que la predisposición genética conlleva a incrementos más notables en el riesgo, la mayoría de los casos de CCR son esporádicos en lugar de tener un componente hereditario predominante.

1.3.1 Síndromes familiares de CCR

1.3.1.1 *Poliposis adenomatosa familiar*

Menos del 1 por ciento de los casos de CCR están representados por la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y sus variantes, como el síndrome de Gardner, síndrome de Turcot y la poliposis adenomatosa familiar atenuada (PAFA) ⁽¹⁷⁾. La PAF se origina por mutaciones germinales en el gen de la poliposis adenomatosa del colon o *adenomatous polyposis coli* (*APC*), ubicado en el cromosoma 5 ⁽¹⁸⁾. Se ha asociado una variante del gen *APC* que ocurre en aproximadamente el 6 al 8 por ciento de la población judía ashkenazí con un riesgo de cáncer de colon aumentado de 1.5 a 2 veces sin una poliposis asociada ⁽¹⁹⁾.

1.3.1.2 *Poliposis asociada a MUTYH*

Una minoría de individuos con antecedentes familiares de CCR y la presencia de múltiples adenomas colorrectales presentan mutaciones germinales

(frecuentemente bialélicas) en el gen homólogo de reparación por escisión de bases mutY (*MUTYH*), en ocasiones combinadas con mutaciones somáticas en el gen *APC* ⁽²⁰⁾. Estas mutaciones predisponen a los pacientes a la herencia recesiva de múltiples adenomas colónicos y a una forma variante de PAF, conocida comúnmente como poliposis asociada a *MUTYH* (MAP).

1.3.1.3 Síndrome de Lynch

El síndrome de Lynch, también conocido como cáncer colorrectal no polipósico hereditario (CCNPH), es una condición autosómica dominante más frecuente que la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y constituye alrededor del 3 por ciento de todos los adenocarcinomas colorrectales ⁽²¹⁾. Generalmente, en pacientes con síndrome de Lynch, se observa una mutación germinal en un alelo de un gen de reparación de errores de emparejamiento o *MMR* (por lo general, en *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* o *PMS2*). La inactivación del segundo alelo ocurre somáticamente en los adenocarcinomas colorrectales a través de mutación, pérdida de heterocigosis o, en casos menos frecuentes, silenciamiento epigenético mediante hipermetilación del promotor ^(21,22). Como resultado, los CCR del síndrome de Lynch tienen un sistema de reparación de ADN *MMR* deficiente, son hipermutables e inestables en microsatélites. Los cánceres extracolónicos son muy comunes en el síndrome de Lynch, especialmente el carcinoma endometrial, que puede ocurrir en hasta el 60 por ciento de las portadoras de mutaciones en algunas familias ⁽²³⁾.

1.3.2 Antecedentes de CCR y/o pólipos

Los pacientes con antecedentes personales de CCR o pólipos adenomatosos del colon tienen riesgo de desarrollar CCR. En pacientes sometidos a la resección de un solo CCR, se desarrollan cánceres primarios metacrónicos en el 1.5 al 3 por ciento de los casos en los primeros cinco años después de la cirugía ⁽²⁴⁾. Un historial personal de pólipos adenomatosos grandes (>1 cm) y pólipos con histología vellosa o tubulovellosa o con displasia de alto grado también aumenta el riesgo de CCR, especialmente si hay múltiples pólipos ⁽²⁵⁾. El riesgo relativo (RR) oscila aproximadamente entre 3.5 y 6.5 en estos pacientes. Por otro lado, como grupo, los pacientes con uno o dos adenomas tubulares pequeños (<1 cm)

con displasia solo de bajo grado no parecen tener un riesgo sustancialmente aumentado de CCR posterior ⁽²⁵⁾. El historial familiar también es un factor de riesgo importante ya que el tener un único familiar afectado en primer grado (padre, hermano o hijo) con CCR aumenta el riesgo aproximadamente al doble en comparación con la población general ⁽²⁶⁾.

1.3.3 Enfermedad inflamatoria intestinal

Una asociación bien registrada es la existente entre la colitis ulcerosa crónica y el desarrollo de neoplasias colónicas, siendo la extensión duración y actividad de la enfermedad factores determinantes clave. La pancolitis, en particular, se asocia con un aumento de 5 a 15 veces en el riesgo, en comparación con la incidencia esperada en la población general ⁽²⁷⁾. Aunque existe menos información disponible, se observa que la pancolitis relacionada con la enfermedad de Crohn parece estar asociada con un riesgo relativo similar de malignidad que la colitis ulcerosa extensa, aunque los datos son menos consistentes ⁽²⁸⁾.

1.3.4 Edad

La edad se destaca como un factor de riesgo crucial para el cáncer colorrectal esporádico. Este tipo de cáncer es poco frecuente antes de los 40 años; sin embargo, su incidencia comienza a aumentar significativamente entre los 40 y 50 años, experimentando tasas de incidencia específicas por edad que se elevan en cada década subsiguiente ⁽²⁹⁾.

1.3.5 Otros factores

Otros elementos de riesgo incluyen la raza, acromegalia (aumentando el riesgo de poliposis), el trasplante renal (por inmunosupresión), la obesidad, diabetes mellitus y resistencia a la insulina, dieta pobre en fibra y rica en carnes procesadas, el consumo de tabaco y alcohol entre otros.

1.4 SÍNTOMAS DE PRESENTACIÓN

El CCR puede presentarse de tres maneras, con síntomas y/o signos de sospecha, de forma asintomática descubriendo la enfermedad mediante cribado rutinario o tras síntomas de urgencia como son la obstrucción intestinal, perforación o, raramente, una hemorragia aguda.

Es relevante considerar que la mayoría de los pacientes en las primeras etapas del cáncer de colon no presentan síntomas, siendo diagnosticados principalmente a través de programas de detección. Aunque el aumento en la participación del cribado ha llevado a que se diagnostiquen más casos en una etapa asintomática, la mayoría de los CCR (70 a 90 por ciento) se diagnostican después del inicio de los síntomas ⁽³⁰⁾. Se debe tener en consideración que los síntomas del CCR son típicamente debidos al crecimiento tumoral endoluminal o en estructuras adyacentes, por lo que la presentación sintomática suele reflejar un CCR relativamente avanzado.

1.4.1 Síntomas locales

Las manifestaciones comunes relacionadas con el cáncer colorrectal abarcan la presencia de sangre en las heces o deposiciones oscuras, molestias abdominales, anemia por deficiencia de hierro y/o alteraciones en los patrones intestinales. Síntomas menos frecuentes de presentación involucran distensión abdominal y/o náuseas y vómitos, los cuales podrían sugerir posible cuadro obstructivo. ⁽³¹⁾ Aunque en el pasado se consideraba que las modificaciones en los patrones o hábitos intestinales eran el síntoma más prevalente del CCR, investigaciones recientes sugieren que la anemia podría ser un síntoma más habitual que los cambios en los hábitos intestinales ⁽³⁰⁾. En dicha serie, en una compilación de los síntomas y hallazgos más frecuentes que motivaron la colonoscopia diagnóstica en una serie de 388 pacientes consecutivos diagnosticados con un CCR entre 2011 y 2014, se observó que los síntomas más frecuentes fueron rectorragia (37 por ciento), dolor abdominal (34 por ciento), anemia (23 por ciento), actividad hipermetabólica en una tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/CT) realizada por otro motivo y cambio en hábitos intestinales (1.3 por ciento).

Las manifestaciones clínicas varían según la ubicación del tumor. En los cánceres colorrectales del lado izquierdo, el cambio en los hábitos intestinales es

el síntoma más frecuente, mientras que en los del lado derecho, la anemia es más común. La hematoquecia se observa con mayor frecuencia en tumores rectosigmoideos. El dolor abdominal puede surgir independientemente de la ubicación y estar asociado con obstrucción intestinal, diseminación peritoneal o infiltración de estructuras cercanas. En el cáncer de recto, pueden presentarse síntomas como tenesmo, dolor rectal y reducción del calibre de las heces ^(31,32).

1.4.2 Síntomas en enfermedad metastásica

Aproximadamente un 20 por ciento de los pacientes con diagnóstico de CCR tienen enfermedad metastásica ⁽³⁾. La diseminación del cáncer colorrectal puede ocurrir a través de vías linfáticas, hematógenas, contiguas y transperitoneales. Con mayor frecuencia, se observa metástasis en los ganglios linfáticos locales, el hígado, los pulmones y el peritoneo. Los pacientes pueden experimentar signos o síntomas relacionados con estas áreas afectadas ^(33,34). La presencia de adenopatía supraclavicular, nódulos periumbilicales, distensión abdominal, saciedad temprana o dolor en el cuadrante superior derecho generalmente sugiere una enfermedad avanzada, a menudo en un estado metastásico.

Debido a que la circulación venosa del tracto intestinal se realiza mediante el sistema portal, el hígado suele ser el primer lugar de diseminación hematógena, seguido de los pulmones, los huesos y diversas áreas, como el cerebro, aunque las metástasis cerebrales son extremadamente raras ^(34,35). Los tumores que se originan en el recto distal pueden inicialmente diseminarse a los pulmones en lugar del hígado, ya que la vena rectal inferior drena en la vena cava inferior en lugar de hacerlo en el sistema venoso portal.

1.5 DIAGNÓSTICO

Se podría plantear la sospecha de cáncer colorrectal en un paciente que exhiba uno o varios de los síntomas y signos previamente mencionados. Además, se tiene la opción de diagnosticar la enfermedad en pacientes que no presenten síntomas a través del cribado. Una vez que se sospecha un CCR, la siguiente prueba debe ser la colonoscopia, colonografía por tomografía computarizada

(CTC) o capsula endoscópica. Se hará mención del papel de los marcadores tumorales en el contexto del diagnóstico.

1.5.1 Colonoscopia

Los CCR sincrónicos, que se definen como dos o más tumores primarios distintos diagnosticados en un lapso de seis meses desde un CCR inicial, representan entre el 3% y el 5% de los casos ⁽³⁶⁾. La colonoscopia se posiciona como la prueba de diagnóstico más precisa y versátil para el cáncer colorrectal (CCR). Esta técnica tiene la capacidad de identificar y tomar muestras de lesiones en todo el intestino grueso, así como de detectar neoplasias sincrónicas y extirpar pólipos, logrando una sensibilidad y especificidad que oscilan entre el 92% y el 97% ⁽³⁷⁾.

Cuando se examinan mediante endoscopia, la mayoría de los cánceres de colon y recto se presentan como masas endoluminales que se originan en la mucosa y se proyectan hacia el lumen. Estas masas pueden tener características exofíticas o polipoides. En algunos casos, se puede observar sangrado en lesiones que son friables, necróticas o ulceradas.

Para aquellas lesiones visibles, los métodos para el posterior análisis de las muestras incluyen biopsias y polipectomías. Para las lesiones que se eliminan de forme completa endoscópicamente (polipectomía o mucosectomía), es importante tatuar la zona, para su localización subsiguiente si se encuentra un cáncer que precise de un tratamiento local adicional, como puede ser la cirugía. Si una obstrucción maligna impide la realización de una colonoscopia completa, es mandatorio su realización de forma completa para examinar todo el colon residual poco después de la resección quirúrgica.

En ausencia de una obstrucción, cuando la colonoscopia es incompleta, las opciones adicionales incluyen la CYC o la cápsula de endoscopia Pill Cam colon 2, aprobada para el cribado de CCR, aunque su uso en pacientes con síntomas sugestivos de CCR es controvertido.

1.5.2 Colonografía por tomografía computarizada

La CTC proporciona una perspectiva endoluminal simulada utilizando imágenes de TC convencionales adquiridas como un volumen ininterrumpido de datos y emplea un software de procesamiento posterior sofisticado para generar imágenes que permiten al operador evaluar un colon limpio en cualquier dirección elegida ⁽³⁸⁾.

La CTC se ha evaluado en pacientes con colonoscopia incompleta y como prueba diagnóstica inicial en pacientes con síntomas sugestivos de CCR. Las tasas de no finalización de la colonoscopia diagnóstica en pacientes sintomáticos son aproximadamente del 11 al 12 por ciento, siendo las razones de la falta de finalización, la incapacidad del colonoscopio para llegar al tumor o visualizar la mucosa proximal al tumor por razones técnicas e intolerancia del paciente ⁽³⁹⁾. En este contexto, la CTC es útil para la detección de CCR y puede proporcionar un diagnóstico radiográfico aunque carece de la capacidad para realizar biopsias o extirpar pólipos.

Se debe tener en cuenta que los resultados anormales en una CTC deben confirmarse con una colonoscopia para la extirpación y/o diagnóstico del tejido.

1.5.3 Cápsula endoscópica

Se trata de un dispositivo que, una vez ingerido, es capaz de tomar múltiples imágenes durante varias horas mientras atraviesa el tracto digestivo y transmitir las a un grabador externo. El CCE Pillcam COLON 2 es una cápsula de doble cabeza que puede tomar hasta 17.5 imágenes por segundo en cada cámara, es decir, 35 imágenes por segundo en total. Estas imágenes se transmiten al receptor/transmisor que el paciente lleva durante toda la duración del estudio, donde se almacenarán. Una vez finalizado el estudio, los datos almacenados en el transmisor/receptor deben transmitirse desde una base conectada a una computadora equipada con el software que permitirá la visualización de las imágenes obtenidas ⁽⁴⁰⁾.

Como se ha descrito anteriormente, una de las técnicas utilizadas para la evaluación del colon es la CTC. Spada *et al.* ⁽⁴¹⁾ realizaron un estudio comparativo entre ambas y no encontraron diferencias en la tasa de examinación completa del colon (98%) y en cuanto a la detección de pólipos de 6 a 10 mm, la CCE fue superior al CTC, mostrando una mayor capacidad diagnóstica para lesiones

planas/sésiles. Rondonotti et al. ⁽⁴²⁾ no encontraron diferencias entre las dos técnicas en la tasa de detección de pólipos mayores de 6 a 10 mm.

1.5.4 Marcadores tumorales

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es uno de los muchos marcadores séricos que se han relacionado con el CRC. Sin embargo, debido a la alta superposición con enfermedades benignas y la baja sensibilidad para tumores en estadios iniciales, todos estos marcadores, incluido el CEA, tienen una baja capacidad diagnóstica para detectar un CRC ^(43,44). Un metaanálisis encontró que la sensibilidad CEA agrupada para el diagnóstico de CRC era solo del 46% ⁽⁴⁵⁾. Ningún otro marcador tumoral convencional, incluido el antígeno de carbohidratos 19-9 (CA 19-9), mostró una sensibilidad diagnóstica más alta en el mismo metaanálisis.

Además, el CEA es poco específico. La especificidad del CEA para el diagnóstico de CRC fue del 89%, según el metaanálisis mencionado anteriormente. Las causas no relacionadas con el cáncer que pueden aumentar el CEA incluyen gastritis, enfermedad ulcerosa péptica, diverticulitis, enfermedad hepática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes y cualquier tipo de inflamación aguda o crónica. Los fumadores tienen niveles de CEA significativamente más altos que los no fumadores ⁽⁴⁶⁾.

Dadas estas limitaciones, ni el antígeno carcinoembrionario (CEA) en suero ni ningún otro marcador, incluyendo el CA 19-9, deben emplearse como prueba para la detección o diagnóstico del cáncer colorrectal (CRC).

1.6 ESTADIFICACIÓN

El sistema de clasificación TNM, desarrollado por la *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* y la *Union for International Cancer Control (UICC)*, es la metodología preferida para determinar el estadio del cáncer colorrectal (CRC). En la octava edición de este sistema, introducida en 2017, se realizaron pocos cambios con respecto a la séptima edición de 2010. En esta última edición (fig.9), se incorporó la categoría M1c para reflejar la carcinomatosis peritoneal como un indicador pronóstico desfavorable. Además, las micrometástasis ganglionares

(agrupaciones tumorales >0,2 mm de diámetro) ahora se consideran positivas, basándose en la evidencia de un metaanálisis que respalda un pronóstico desfavorable en estos casos ^(47,48).

0	Tis	N0	M0
I	T1-T2		
IIA	T3		
IIB	T4a		
IIC	T4b		
IIIA	T1-T2	N1/N1c	
	T1	N2a	
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	
	T2-T3	N2a	
	T1-T2	N2b	
IIIC	T4a	N2a	
	T3-T4a	N2b	
	T4b	N1-N2	
IVA	Any T	Any N	M1a
IVB			M1b
IVC			M1c

Source: *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. Springer International Publishing, 2017.

Figura 9: TNM octava edición.

En la toma de decisiones sobre el tratamiento del cáncer colorrectal (CRC), es importante considerar factores adicionales reconocidos en la última versión del sistema TNM. Aunque estos factores aún no se han incorporado formalmente a los criterios de estadificación, desempeñan un papel crucial. Estos incluyen los niveles séricos preoperatorios del antígeno carcinoembrionario (CEA), la puntuación de regresión tumoral que refleja la respuesta patológica a tratamientos previos como la radioterapia preoperatoria, quimiorradioterapia o quimioterapia. Asimismo, se considera el margen de resección circunferencial en casos de cáncer de recto, la presencia de invasión linfovascular y perineural, la inestabilidad de microsátélites, un factor pronóstico positivo que predice la falta de respuesta al tratamiento con fluoropirimidinas, y el estado mutacional de los

genes *KRAS*, *NRAS* y *BRAF*. Las mutaciones en estos genes se asocian con la falta de respuesta a los agentes dirigidos al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

La estadificación clínica preoperatoria se logra mediante el examen físico, tomografía computarizada (TC) del tórax, abdomen y pelvis, y resonancia magnética (RM) pélvica en caso de presentar el paciente un cáncer de recto.

1.6.1 Tomografía computarizada

En la mayoría de las instituciones, la práctica estándar es realizar una tomografía computarizada (TC) de tórax, abdomen y pelvis a todos los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal (CCR). Esta evaluación puede llevarse a cabo ya sea antes o después de la resección, y este enfoque cuenta con el respaldo de la Red Nacional Integral del Cáncer (NCCN) ⁽⁴⁹⁾.

En términos generales, es preferible realizar la tomografía computarizada (TC) antes de la cirugía, ya que los resultados a veces pueden influir en la planificación quirúrgica. En pacientes recién diagnosticados con cáncer colorrectal (CCR), las exploraciones preoperatorias con TC de tórax, abdomen y pelvis pueden revelar la extensión tumoral regional, la afectación ganglionar locoregional, así como la presencia de enfermedad a distancia. Además, la TC puede identificar complicaciones relacionadas con el tumor, como obstrucción intestinal, perforación, formación de fístulas, entre otras ⁽⁵⁰⁾.

La capacidad de la tomografía computarizada (TC) para detectar metástasis a distancia es más alta (75 a 87 por ciento) en comparación con su capacidad para identificar la afectación ganglionar (45 a 73 por ciento) o la invasión transmural (aproximadamente 50 por ciento) ^(51,52). En el caso de los cánceres de recto, la TC muestra una mayor sensibilidad para la detección de ganglios linfáticos malignos en comparación con los cánceres de colon. Se presume que la adenopatía perirrectal es maligna, ya que la adenopatía benigna generalmente no se observa en esta área en ausencia de un proceso inflamatorio demostrable ⁽⁵³⁾.

1.6.2 Tomografía por emisión de positrones con fluorodesoxiglucosa

La tomografía por emisión de positrones con fluorodesoxiglucosa (FDG), también conocida como tomografía por emisión de positrones (PET/TC), tiene la capacidad de proporcionar una estadificación TNM adecuada. Dado que el 95 % al 100 % de los cánceres intraluminales primarios conocidos son visibles, la PET-TC con FDG ha demostrado una alta sensibilidad al evaluar tumores primarios. Sin embargo, tiene limitaciones, como la existencia de falsos positivos que pueden aparecer en pacientes con tumores mucinosos y en adenomas tubulovelloso con pequeños focos tumorales, así como falsos positivos condicionados por pólipos benignos, lesiones precancerosas, polipectomías anteriores y procesos inflamatorios intestinales ⁽⁵⁴⁾.

En individuos con CCR, la implicación linfática emerge como un marcador pronóstico relevante. La PET/TC tiene la capacidad de identificar enfermedad ganglionar incluso cuando los ganglios son de tamaño normal, gracias a que los cambios metabólicos preceden a los morfológicos. La TC y la RM exhiben sensibilidades que oscilan entre el 55% y el 66% en la detección de enfermedad ganglionar ⁽⁵⁵⁾. Un metaanálisis reveló que los estudios de PET/TC con [18F] FDG muestran una sensibilidad del 42.9% y una especificidad del 87.9% en la detección preterapéutica de ganglios linfáticos en pacientes con CCR ⁽⁵⁶⁾.

La PET/TC con [18F] FDG muestra una sensibilidad del 81% en la detección de metástasis hepáticas y una especificidad del 91%, así como en la detección de enfermedad extrahepática del 84% y el 70%, respectivamente ⁽⁵⁷⁾.

Definitivamente el PET/TC es una técnica de imagen sensible y específica para la estadificación del CCR pero solo se debería utilizar en enfermedad localmente avanzada o resultados no concluyentes con otras técnicas de imagen debido a su coste/efectividad ^(58,59) y la no disposición del mismo en todos los centros a pesar de llevar a un cambio en el manejo de pacientes en hasta el 24% de los casos ⁽⁶⁰⁾, demostrando metástasis inesperadas o aclarando la naturaleza de lesiones indeterminadas ⁽⁶¹⁾.

1.6.3 Resonancia magnética

La resonancia magnética (RM) se destaca como una de las técnicas preferidas para llevar a cabo la estadificación local del cáncer de recto, así como

para abordar la incertidumbre en cuanto a la presencia de enfermedad metastásica hepática.

En cuanto al cáncer de recto, una determinación precisa de la ubicación del tumor dentro del recto y la magnitud de la extensión de enfermedad es necesaria antes del tratamiento para seleccionar el enfoque quirúrgico e identificar a aquellos pacientes que son candidatos para la quimiorradioterapia neoadyuvante. La RM puede determinar la ubicación del tumor (recto alto, medio o bajo), dar una correcta información sobre la infiltración tumoral (estadificación T), valorar la afectación de la fascia mesorrectal, objetivar afectación ganglionar y depósitos tumorales en el mesorrecto y permite la reestadificación tumoral tras un tratamiento neoadyuvante ⁽⁶²⁻⁶⁵⁾.

La RM con contraste del hígado puede identificar más lesiones hepáticas que las visualizadas por tomografía computarizada (TC) y es especialmente valiosa en pacientes con cambios de hígado graso previos ⁽⁶⁶⁾. Un metaanálisis concluyó que la RM es el estudio de imágenes preferido en primera línea para evaluar las metástasis hepáticas del cáncer colorrectal en pacientes que no han recibido previamente tratamiento ⁽⁶⁷⁾. En la práctica actual, la RM hepática generalmente se reserva para pacientes con hallazgos sospechosos pero no definitivos en la tomografía computarizada, especialmente si se necesita una mejor definición de la carga de enfermedad hepática para tomar decisiones sobre una posible resección hepática.

1.7 CARCINOGENÉISIS

En la actualidad, se reconoce que el cambio gradual del epitelio colónico normal a una lesión precancerosa y, finalmente, a un carcinoma infiltrante, depende de la acumulación de mutaciones genéticas somáticas en los CCR de origen esporádico, es decir, aquellos que se originan a partir de pólipos, o mutaciones de la línea germinal en los CCR que se originan de síndromes hereditarios ^(68,69). La patogénesis es multifacética e implica una cascada de eventos genéticos y moleculares.

1.7.1 Secuencia adenoma-carcinoma

La mayoría de los tumores colorrectales tienen su origen en lesiones precancerosas, las cuales son comúnmente clasificadas como adenomas tubulares o pólipos serrados. Los adenomas se desarrollan cuando los mecanismos normales que regulan la reparación del ADN y la proliferación celular se alteran. Debido a la proliferación que se produce exclusivamente en la base de las criptas, a medida que las células alteradas avanzan hacia la luz del colon, se interrumpe el proceso de diferenciación terminal y apoptosis, dando lugar a la formación de los adenomas. Con el tiempo, los pólipos adenomatosos aumentan de tamaño, desarrollan características cada vez más displásicas y pueden adquirir eventualmente un potencial invasivo (Fig. 10).

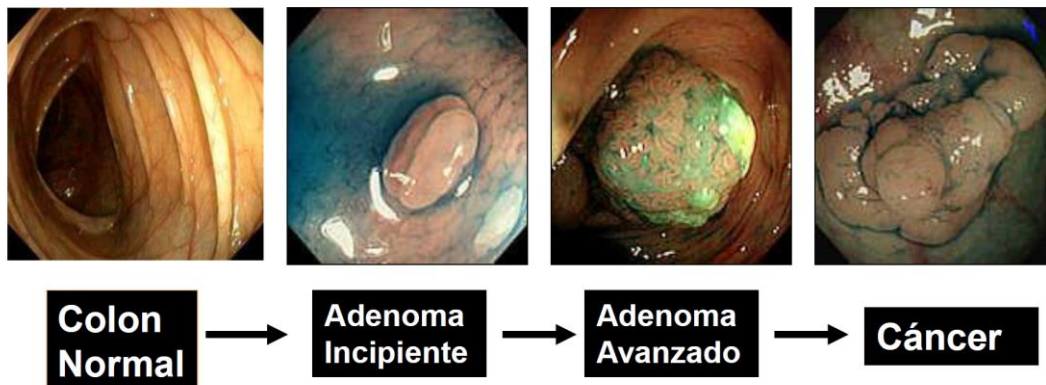


Figura 10: Secuencia adenoma-carcinoma. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun 1;61(5):759-67. doi: 10.1016/0092-8674(90)90186-i. PMID: 2188735.

En el epitelio colónico normal, la vía de señalización Wnt desempeña una función fundamental en la regulación de la proliferación celular y su diferenciación. El gen *APC* actúa como un supresor tumoral al inhibir la acumulación de β -catenina, bloqueando así la activación de la vía Wnt ⁽⁷⁰⁾. En el inicio de la carcinogénesis colorrectal, las mutaciones en el gen *APC* son comunes. Estas mutaciones conducen a la pérdida de la función supresora tumoral de *APC*, permitiendo la acumulación de β -catenina en el núcleo celular ⁽⁷¹⁾. Esto activa la vía de señalización Wnt de manera descontrolada, estimulando la proliferación celular y la formación de adenomas.

Como se ha descrito anteriormente, alteraciones secuenciales en genes clave en la regulación del crecimiento marcan la transición desde un epitelio normal a

uno hiperproliferativo, y las mutaciones en el gen *APC*, o en el oncogén *BRAF*, son eventos iniciadores que dan origen a adenomas tradicionales o pólipos serrados, respectivamente ^(72,73).

Es importante considerar que las modificaciones genéticas adicionales son las que determinan la transición de pólipos con displasia de alto grado a tumores invasivos. No obstante, no todos los adenomas evolucionan hacia el cáncer; la acumulación de mutaciones específicas en un orden determinado es crucial para la progresión a la malignidad y depende de la vía específica de la carcinogénesis, de las cuales se han identificado tres ⁽⁷³⁾.

1.7.2 Vía supresora o de inestabilidad cromosómica

La vía de la inestabilidad cromosómica (CIN) desempeña un papel crucial en la carcinogénesis del cáncer colorrectal (CCR) (Fig. 11). La inestabilidad cromosómica implica alteraciones estructurales en el número de cromosomas, así como la pérdida y ganancia de fragmentos cromosómicos. Este fenómeno conlleva a una variabilidad genómica considerable en las células tumorales.

Esta vía, observada en el 70% al 80% de los CCR esporádicos, se caracteriza por cambios cromosómicos que incluyen cambios en el número de copias somáticas (SCNA) causadas por aneuploidía, deleciones, inserciones, amplificaciones o pérdida de heterocigosidad en un número pequeño de genes como son *APC*, *SMAD4*, *KRAS*, *BRAF* y *TP53* ⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾. Los tumores que se desarrollan por medio de esta vía se consideran no hipermutados debido a la relativa escasez de mutaciones de pares de bases en secuencias codificantes ⁽⁷³⁾. Los mecanismos que conducen a la CIN suelen caracterizarse por defectos en la segregación cromosómica, la senescencia celular desordenada, el mal funcionamiento de la maquinaria de respuesta al daño del ADN y la pérdida de heterocigosidad en un gen supresor de tumores. Es importante recordar que la vía Wnt se activa en casi todos los tumores con inestabilidad cromosómica, y las mutaciones en *APC* se han identificado en aproximadamente el 80% de estos tumores ⁽⁷³⁾.

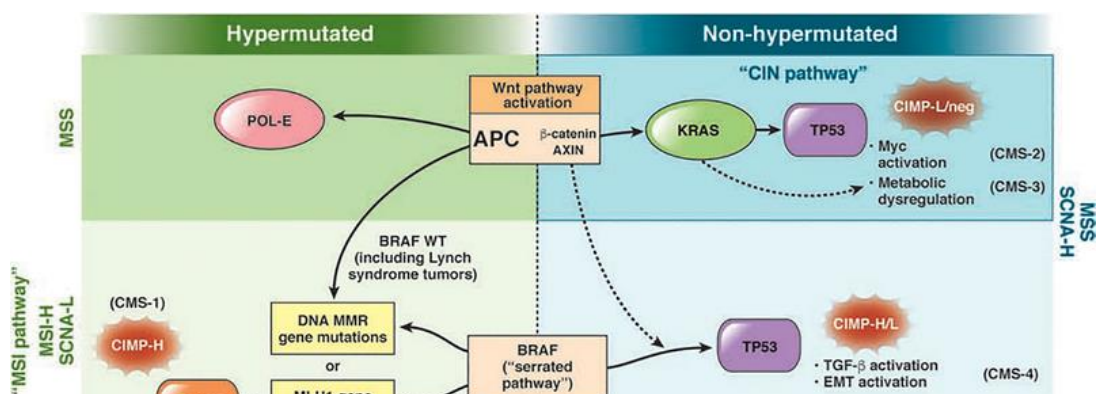


Figura 11: Vías de la carcinogénesis colorrectal. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. Gastroenterology. 2020 Jan;158(2):291-302. doi: 10.1053/j.gastro.2019.08.059. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31622622; PMCID: PMC6981255.

1.7.3 Vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites

A diferencia de la vía de inestabilidad cromosómica (CIN), que se caracteriza por una alta frecuencia de cambios en el número de copias genómicas, los tumores colorrectales también pueden originarse a través de vías hipermutables. Estas últimas se distinguen por mutaciones frecuentes en las bases del ADN en el ámbito somático. El mecanismo principal para este fenotipo hipermutable es la vía de inestabilidad de microsatélites (MSI). En tumores con el fenotipo MSI, las células no detectan ni reparan adecuadamente el ADN, lo que les permite mantener y replicar sus mutaciones, adquirir mutaciones adicionales y desarrollar así un fenotipo hipermutable ⁽⁷⁴⁾. Estas alteraciones suelen manifestarse principalmente en los genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2*.

El fenotipo MSI se detecta en aproximadamente del 5 % al 15% de los tumores colorrectales esporádicos y en prácticamente todos los tumores colorrectales que se originan en pacientes con síndrome de Lynch ^(73,77,78). No obstante, la mayoría de los tumores colorrectales con MSI son de naturaleza esporádica. El silenciamiento epigenético del gen *MLH1*, mediante hipermetilación del promotor, es la causa más frecuente del fenotipo MSI. Es relevante señalar que aquellos con fenotipo MSI suelen exhibir niveles elevados de metilación en regiones regulatorias en todo el genoma, incluido el fenotipo de

metilador de islas CpG (CIMP) ^(73,74,79). También cabe destacar que con frecuencia presentan mutaciones en el gen *BRAF* específicamente en aquellos que modifican una sustitución de V a E en el aminoácido 600 (en *BRAFV600E*) y a su vez presentan una baja frecuencia de mutaciones en *APC* y *TP53*, en comparación con los CCR que se desarrollan a través de la vía CIN ^(73,80).

Las mutaciones en *APC* se encuentran en el 35% al 50% de los tumores MSI, por lo que el mecanismo formador de adenomas podría ser compartido por los tumores MSI y CIN ^(81,82). Una vez que ocurre la MSI, los tumores colorrectales se desarrollan más rápidamente que a través de la vía de inestabilidad cromosómica (CIN) ⁽⁸³⁾.

1.7.4 Vía serrada o del fenotipo metilador

Se han detectado otro tipo de pólipos en forma de sierra denominados pólipos serrados y se cree que los pólipos serrados dan origen a casi el 15% de los CRC por medio de la vía serrada ⁽⁸⁴⁾. La vía serrada es un mecanismo distinto de la carcinogénesis colorrectal. Una característica distintiva de la vía serrada es la mutación activadora V600E en *BRAF*, un componente de la vía de la MAPK ⁽⁸⁵⁾. *RAF* está mutado en la mayoría de los adenomas serrados sésiles, pero raramente en adenomas convencionales, por lo que la vía serrada es una ruta alternativa hacia el CRC ⁽⁸⁶⁾. Aunque las mutaciones en *BRAF* son el primer evento detectado en la vía serrada, no es infrecuente que la vía de Wnt también se active ⁽⁸⁷⁾. El fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP) se puede observar en etapas tempranas de la carcinogénesis. Los tumores que se desarrollan por medio de cualquiera de las ramas de la vía de neoplasia serrada también suelen mostrar niveles altos de metilación de islas CpG ^(79,88). Las islas CpG son grupos densos de dinucleótidos citosina/guanina (CpG) unidos por un enlace fosfodiéster que están particularmente enriquecidos en regiones promotoras de genes ^(81,89). La metilación excesiva de estos promotores inhibe la transcripción de los genes supresores de tumores, lo que conduce a la inactivación genética y, finalmente, al desarrollo de tumores.

1.8 TIPOS DE PÓLIPOS

Como se ha descrito previamente, la mayoría de los CCR se desarrollan lentamente a los largo de los años y por medio de alguna de las vías de carcinogénesis, empezando este desarrollo como pólipos o pequeñas tumoraciones circunscritas, pedunculadas o sésiles que protruyen desde la mucosa intestinal. Aproximadamente uno de cada 20 pólipos evoluciona a los largo de los años a carcinoma invasivo ⁽⁹⁰⁾.

Éstos pólipos se pueden clasificar de acuerdo a su histología en tres subtipos ^(90,91):

- Pólipos adenomatosos: el precursor más reconocido del CCR. Se puede subdividir en tres subtipos, adenoma tubular (85%), adenoma túbulo-velloso (10%) y adenoma velloso (5%).
- Pólipos serrados: existen dos subtipos, el pólipo serrado hiperplásico sin potencial maligno y el adenoma serrado con una elevada tasa de malignización.
- Pólipos inflamatorios: Sin potencial de malignización.

1.9 CLASIFICACIÓN DEL CCR

Podemos clasificar al CCR por estadio en localizado o metastásico, por su lateralidad en colon derecho o izquierdo y por el subtipo histológico.

1.9.1 Clasificación por estadio TNM

En lo que respecta a la estadificación y como está descrito anteriormente, la AJCC ha desarrollado un sistema de clasificación estándar y universal idénticos para el cáncer de colon como para el cáncer de recto. Este sistema denominado TNM ⁽⁴⁷⁾ por las siglas en ingles de *tumour-node-metastasis*, donde la T indica profundidad de invasión del tumor en las diferentes capas de la pared intestinal, la N el número de ganglios linfáticos afectos a nivel loco-regional y la M se refiere a la presencia o no de metástasis a distancia. La profundidad, afectación o no a nivel ganglionar y la presencia o ausencia de enfermedad metastásica se combinan para dar lugar a diferentes estadios que van del 0 al IV ^(47,92) como se pudo ver en la figura 10.

1.9.2 Clasificación por lateralidad

Desde hace varios años se puede categorizar al CCR de acuerdo a su ubicación en derecho, aquel que nace en el territorio comprendido por el ciego, colon ascendente y trasverso o izquierdo, aquel que se origina en ángulo esplénico, colon descendente, sigma y recto ⁽⁹³⁾. La importancia clínica de la lateralidad radica en el hecho de que presentan orígenes embriológicos distintos, vascularización diferente así como expresión génica distinta. El colon derecho expresa con mayor frecuencia mutaciones en los genes *KRAS* o *BRAF* e inestabilidad de microsatélites alta (MSI-H), mientras que el colon izquierdo presenta con mayor frecuencia sobreexpresión del factor de crecimiento epidérmico humano (Her2) ⁽⁹⁴⁾.

La lateralidad también está influida por la diferente exposición ambiental, así como densidad del microbioma, y tanto el colon derecho como el izquierdo presentan diferentes características epidemiológicas, histológicas y clínicas ya que podemos observar que aquellos que se originan en el colon derecho son más frecuentes en mujeres, la histología más frecuente es la mucinosa y presentan peor pronóstico, mientras que el colon izquierdo, es más frecuente en varones y más típicamente relacionado con la poliposis adenomatosa familiar ⁽⁹⁵⁾.

1.9.3 Clasificación histológica

La clasificación histológica aceptada a nivel internacional es la propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁽⁹⁶⁾ como se puede ver en la Figura 12.

- Adenocarcinoma
- Cribriform comedo-type adenocarcinoma
- Medullary carcinoma
- Micropapillary carcinoma
- Mucinous adenocarcinoma
- Serrated adenocarcinoma
- Signet ring cell carcinoma
- Adenosquamous carcinoma
- Spindle cell carcinoma
- Squamous cell carcinoma
- Undifferentiated carcinoma
- Neuroendocrine carcinoma (NEC)
 - Large NEC
 - Small NEC
- Mixed adenoneuroendocrine carcinoma

Figura 12: World Health Organization Classification of Colorectal Cancer. Niederhuber, J. E., Armitage, J. O., Doroshow, J. H., Kastan, M. B., & Tepper, J. E. (2019). *Abeloff's Clinical Oncology* (pp. 1–2037). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00124-9>.

La mayoría de los CCRs son adenocarcinomas convencionales, aunque hay un grupo de subtipos de menor frecuencia pero con gran relevancia por asociarse a genotipos y pronósticos específicos como son el subtipo mucinoso, medular y con células en anillo de sello, éste último frecuentemente asociado a MSI-H ⁽⁹⁷⁾. Los subtipos cribriforme-comedo y los serrados se asocian al genotipo metilador en islas CpG y el adenocarcinoma serrado también suele presentar mutaciones en *BRAF* como se menciona previamente en el apartado carcinogénesis.

Los adenocarcinomas clásicamente se estratifican en tres grados de diferenciación; grado 1 o bien diferenciados, grado 2 o moderadamente diferenciados y grado 3 pobremente diferenciados; aunque en la actualidad se los estratifica en un sistema de dos niveles o grados en bien diferenciado (grados 1 y 2) y pobremente diferenciado (grado 3) ⁽⁹⁶⁾. Esta nueva forma de estratificar se realiza en la actualidad debido a la falta de reproducibilidad y pronóstico similar de los tumores bien y moderadamente diferenciados ⁽⁹⁸⁾.

Un dato importante independientemente del subtipo histológico es el *tumor budding* (TB), definido por la presencia de pequeñas agrupaciones de células tumorales en el frente invasivo, es un conocido factor histopatológico de agresividad en CCR. La presencia de TB indica un fenotipo invasivo con pérdida de cohesión celular, asociándose típicamente a transición epitelio-mesénquima

parcial y mayor potencial metastásico. El TB es un predictor independiente de metástasis, tasas de recaídas y una menor supervivencia en CCR.

El margen de crecimiento, que puede ser infiltrativo como expansivo, también es un factor importante independientemente del subtipo histológico y que marca el pronóstico de los pacientes, siendo un crecimiento expansivo de mejor pronóstico como ocurre en un alto porcentaje de los tumores MSI.

1.10 CORRELACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA-MOLECULAR

Se debe tener en cuenta que la clasificación de una enfermedad no es solo una denominación basada en la recopilación de características diagnósticas particulares, sino que también explica la correlación clínico-patológica de la enfermedad que pueda ayudar a comprender no solo el origen e historia natural de la enfermedad, también pueda aclarar los mecanismos subyacentes para poder así lograr un manejo clínico y terapéutico adecuados ⁽⁹⁹⁾.

Un ejemplo de ello es el cáncer de mama cuando ya hace años se pudo comprender que se trataba de una enfermedad heterogénea con un comportamiento tumoral y respuesta terapéutica determinadas por las características biológicas subyacentes, influenciadas por la expresión o no de receptores de estrógeno y progesterona así como del receptor del Her2 ⁽¹⁰⁰⁾. Esto no solo permitió prever la respuesta a tratamientos, determinar la biología del tumor y clasificar su morfología molecular y pronóstico, sino que también logró categorizar el cáncer de mama en cuatro subtipos distintos (luminal A, luminal B, Her2 positivo y triple negativo) ^(101,102).

En relación con el CCR, que en principio se pensaba que era una enfermedad homogénea, actualmente se sabe que los subtipos morfológicos tienen características clínicas que difieren según el sitio anatómico del que surgen y también se empieza a conocer y detallar la secuencia de eventos para su desarrollo, como son la inactivación de *APC*, mutación del *KRAS*, la inactivación de *TP53* y la inestabilidad génica, ésta última se conoce actualmente opera en dos niveles, uno afectando a secuencias de ADN (MSI-H) y otro que afecta a cromosomas completos o parte de ellos denominado inestabilidad cromosómica o como se mencionó previamente, CIN ^(99,103,104).

Las dos formas de inestabilidad genómica (MSI-H y CIN) son mutuamente excluyentes por lo cual los CCRs con CIN tendrán estabilidad de microsatélites MSS⁽⁹⁹⁾. Teniendo esto en cuenta surge la pregunta de que sucede con aquellos CCRs esporádicos que también son MSI-H. Se han publicado estudios que pudieron distinguir entre los CCR MSI-H y los del síndrome de Lynch, observando que en los esporádicos era muy poco frecuente o rara la mutación en *KRAS* así como mutaciones en *APC* o pérdida de su locus en el cromosoma 5q⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁸⁾. Se conoce también que los CCRs esporádicos con MSI-H se caracterizan por presentar metilación extensa del ADN y mutaciones en *BRAF*, que no se objetivan en el síndrome de Lynch^(106,107). Si se tiene en cuenta que el CIMP y mutaciones en *BRAF* están fuertemente asociados en CCR, se podría comprender como la metilación del promotor *MLH1* (principal vía de silenciamiento de *MSLH1* y pérdida de expresión de enzimas reparadoras) demuestra la existencia de la vía serrada en el desarrollo del CCR MSI-H como se ha comentado en el apartado de las vías moleculares de la carcinogénesis^(88,109,110).

Se sabe actualmente que los CCRs son en su mayoría MSS y éste subgrupo que se suponía es homogéneo a nivel molecular, no lo es, ya que solo un 10% presentan el genotipo clásico con mutación en *APC*, *KRAS* y *TP53*^(99,111). Como se ha descrito previamente, algunos de los CCRs MSS comparten características moleculares con el subgrupo MSI-H esporádico, sobre todo, en cuanto a mutaciones en *BRAF*, metilación extensa del ADN o fenotipo metilador (CIMP)⁽⁸⁶⁾. Los CCRs MSS con expresión alta de CIMP no solo comparten similitudes moleculares sino también características clínicas y patológicas con los CCR MSI-H esporádicos como son la mayor frecuencia de afectación en mujeres, edad más avanzada al diagnóstico, predilección por el colon proximal y diferenciación mucinosa⁽¹¹²⁻¹¹⁴⁾. Así mismo, presentan diferencias significativas como son el presentar un crecimiento infiltrativo, ausencia de infiltración linfocitaria tumoral (TILs), mal pronóstico y una adecuada respuesta a tratamiento con 5-fluoracilo^(114,115).

Para comprender mejor los tipos diferentes de CCRs MSS es importante conocer las diferentes expresiones de CIMP. Ya en 2006, Weisenberger *et al*⁽¹⁰⁹⁾ clasificaron al CCR en dos grupos, aquellos CIMP positivos y aquellos CIMP negativos. Un año más tarde, Shen *et al*⁽¹¹⁶⁾ sugirieron la división del CIMP en tres grupos diferentes según el número de marcadores de metilación positivos

encontrados en las ubicaciones de 5 genes (*MINT1*, *MINT2*, *MINT31*, *CDKN2A* y *hMLH1*) ⁽¹¹⁷⁾: CIMP-High (CIMP1), CIMP-Low (CIMP2) y CIMP-negativo, donde tumores CIMP1 en un 80% son MSI y en el 20% MSS, así como en un 53% presentan mutaciones en *BRAF*, se presentan como tumores pobremente diferenciados y un peor pronóstico, y aquellos con CIMP2 en el que 92% presentan mutaciones en *KRAS* y son casi exclusivos del CCR MSS ^(116,118,119).

Resumiendo podemos clasificar al cáncer colorrectal en dos grupos principales, aquellos con inestabilidad de microsatélites alta y aquellos con estabilidad de microsatélites, el cual de nuevo se puede subdividir en 3 grupos de acuerdo a la expresión de CIMP; MSS CIMP-H, MSS CIMP-L y MSS CIMP-negativo.

1.11 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE COLON

En 2007 Jass *et al* ⁽⁹⁹⁾ propusieron una clasificación molecular basada en cinco características: CIMP, MSI, *KRAS*, *BRAF* y el estatus de metilación del O-6-metilguanina ADN metiltransferasa (MGMT) componiendo así cinco subtipos moleculares que serían (Fig. 13):

- i. Cáncer colorrectal esporádico MSI-H (12%) con CIMP-H y mutaciones en *BRAF*.
- ii. CCR MSS con CIMP-H y mutación del *BRAF* (8%).
- iii. CCR MSS con CIMP-L, mutación del *KRAS* y metilación *MGMT* (20%).
- iv. CCR MSS con CIMP-negativo asociado con frecuencia a PAF (57%)
- v. CCR MSI-H con CIMP-negativo asociado al síndrome de Lynch.

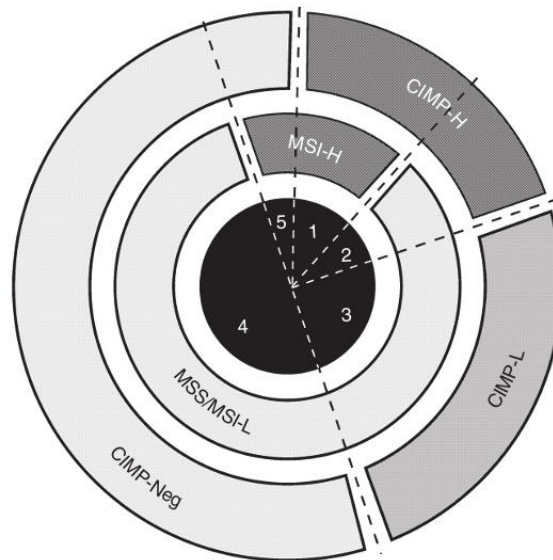


Figura 13: Derivación de los grupos 1 a 5 del cáncer colorrectal molecular según el estado del CIMP (A, alto; B, bajo; Neg, negativo) y el estado MSI (A, alto; B, bajo; S, estable). Jass JR. *Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. Histopathology.* 2007 Jan;50(1):113-30. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02549.x. PMID: 17204026.

Ésta clasificación fue evaluada por Zlobec *et al* ⁽¹²⁰⁾ en 2012 con la finalidad de probar su valor pronóstico. Sus resultados sugirieron que el modelo de Jass no puede clasificar de manera efectiva en dichos subgrupos debido a la definición de CIMP en alto y bajo obstaculiza la clasificación por su baja reproducibilidad cuando se tiene en cuenta la selección de regiones promotoras, así como el método de análisis y valores de corte del número de CpG encontrados.

Se han publicado diversas clasificaciones moleculares desde 2011 hasta 2014, fundamentadas en el perfil de expresión génica del tumor, sin embargo, hay algunas diferencias entre ellas a tener en cuenta, especialmente en cuanto al número de subtipos propuestos, que varía de 3 a 6 ⁽¹²¹⁾. Las principales clasificaciones moleculares propuestas para el cáncer colorrectal son:

- a. Sistema de subtipos de cáncer de colon (CCS): De Sousa E Melo *et al.* ⁽¹²²⁾
 - a. CCS1 (49%): tumores que presentan mutaciones en *KRAS* y *TP53*, muestran una CIN (inestabilidad cromosómica) fuerte y presentan una alta actividad de la cascada de señalización Wnt.

- b. CCS2 (24%): tumores fuertemente enriquecidos para la fenotipo MSI/CIMP. Presentan una abundante infiltración de células inflamatorias y suelen ubicarse en el colon derecho.
 - c. CCS3 (27%): tumores con la posibilidad de presentar tanto MSI como CIN, pero se distinguen por la elevada expresión de genes vinculados a la transición epitelial-mesenquimal (EMT), reestructuración de la matriz y desplazamiento celular. Son comunes las mutaciones en *BRAF* y *PI3CA*. Este tipo de neoplasia se define por un pronóstico desfavorable, evidenciándose una tasa de recurrencia que supera el 50% en los pacientes a los dos años.
- b. Sistema de Asignación de Cáncer Colorrectal (CRCA): Sadanandam *et al.* ⁽¹²³⁾.
- a. Tipo Células Madre: caracterizado por una sobreexpresión de genes de la vía de señalización Wnt y mostrando características de células madre mioepiteliales y mesenquimales, con baja expresión de marcadores de diferenciación.
 - b. Tipo Células Caliciformes: definido por una alta expresión de ARNm de genes específicos de células caliciformes, como *MUC2* y *TFF3*.
 - c. Tipo Amplificación Transitiva: es un grupo heterogéneo con una expresión variable de genes relacionados con células madre y la vía Wnt.
 - d. Tipo Inflamatorio: este grupo muestra una alta expresión de genes relacionados con interferones y citocinas.
 - e. Tipo Enterocito: se caracteriza por una alta expresión de genes específicos de las células enterocíticas.
- c. Sistema de Subtipos Moleculares de Cáncer de Colon (CCMS): Marisa *et al.* ⁽¹²⁴⁾.
- a. C1 (21%): se caracteriza por inestabilidad cromosómica, mutaciones frecuentes en *KRAS* y *TP53*, y supresión de vías asociadas con la activación del sistema inmunológico y EMT.
 - b. C2 (19%): presenta inestabilidad de microsatélites, (CIMP), mutaciones frecuentes en *BRAF* y supresión de la vía Wnt.

- c. C3 (13%): se caracteriza por estabilidad de microsatélites (MSS), mutación en *KRAS* y delección de vías asociadas con la activación del sistema inmunológico y EMT.
 - d. C4 (10%): a menudo muestra tanto CIN como CIMP, con mutaciones frecuentes en *KRAS*, *BRAF* y *TP53*. Presenta características relacionadas con genes de células madre y el fenotipo de neoplasia serrada. También hay una sobreexpresión de vías asociadas con el proceso de EMT.
 - e. C5 (27%): exhibe una pronunciada inestabilidad cromosómica, mutaciones recurrentes en *KRAS* y *TP53*, y la elevación en la expresión de genes pertenecientes a la vía Wnt.
 - f. C6 (10%): presenta inestabilidad cromosómica, mutaciones frecuentes en *KRAS* y *TP53*, y expresión frecuente de genes relacionados con EMT y asociados con la activación de la vía de neoplasia serrada.
- d. Subtipos intrínsecos del CRC: Roepman *et al.* ⁽¹²⁵⁾.
- a. Tipo A (subtipo epitelial con deficiencia de MMR): representa el 22–35% de los casos y se asocia con una mayor proporción de pacientes con MSI y una alta tasa de mutación, incluyendo *BRAF*. Este grupo se considera de buen pronóstico.
 - b. Tipo B (subtipo proliferativo epitelial): representa el 52–62% de los casos. Muestra un fenotipo epitelial, con un índice de proliferación elevado, y casi todos son MSS y carecen de mutaciones en *BRAF*. Los pacientes de este grupo tienen un pronóstico intermedio, pero podrían beneficiarse de tratamiento con quimioterapia adyuvante.
 - c. Tipo C: representa el 13–17% de los casos y se caracteriza por la expresión de la transición epitelial-mesenquimal (EMT). Los pacientes en este grupo tienen un mal pronóstico y no se benefician de la terapia adyuvante. Curiosamente, el 36% de ellos tenía un fenotipo dMMR basado en la firma MSI/dMMR.

En resumen, todas estas clasificaciones descritas pueden generar cierta confusión y parecer incongruentes, ya que se pueden considerar de 3 a 6 subtipos moleculares con diferentes características y basándose en la expresión génica, las

similitudes son solo superficiales, mostrando inconsistencias en la interpretación de los subtipos de CCR. El Consorcio de Subtipificación del CRC (CRCSC) se formó con la finalidad de evaluar la presencia o ausencia de patrones centrales de subtipos entre los algoritmos existentes de subtipificación del CRC basados en la expresión génica ⁽⁸²⁾. La clasificación propuesta por el CRSC se detalla a continuación:

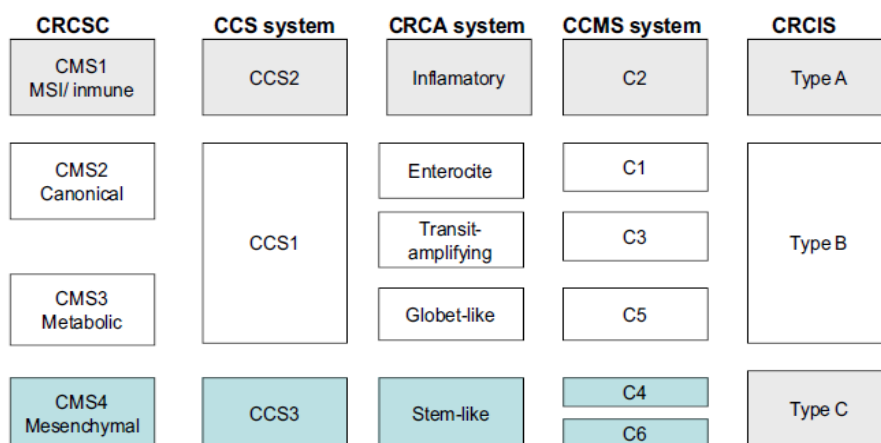
- a. Consorcio de Subtipificación del Cáncer Colorrectal (CRCSC)(Fig. 14):
Guinney *et al.* ⁽⁸²⁾
 - a. CMS1 (MSI-inmune, 14%): neoplasias con alta tasa de mutación, presentando una baja incidencia de modificaciones en el número de copias somáticas (SCNAs), que exhiben MSI/CIMP, infiltración inmunológica y, con frecuencia, mutaciones en *BRAF*. Se evidencia una supervivencia deficiente después de la recaída.
 - b. CMS2 (Canónico, 37%): tumores MSS, pero también CIN, con una fuerte activación de la vía WNT/MYC, mutación en TP53 y amplificación y sobreexpresión de EGFR. Mejor supervivencia tras la recaída en comparación con los otros subtipos.
 - c. CMS3 (Metabólico, 13%): neoplasias con baja inestabilidad cromosómica (CIN), aproximadamente el 30% de los tumores son hipermutados, y con una mayor presencia de CIMP. Presentan activación moderada de la vía WNT/MYC, enriquecimiento de diversas firmas metabólicas, mutaciones en *KRAS* y *PI3K*, así como sobreexpresión de la proteína 2 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina (IGBP2).
 - d. CMS4 (Mesenquimal, 23%): Neoplasias CIN heterogéneas, que manifiestan atributos mesenquimales, con activación del factor de crecimiento transformante (TGF-beta) y signos de vías activas como angiogénesis, reestructuración de la matriz e inflamación mediada por el complemento. Suelen ser diagnosticadas en etapas avanzadas de la enfermedad (III y IV) y muestran el pronóstico más desfavorable en comparación con los otros subtipos.

CMS1 MSI immune	CMS2 Canonical	CMS3 Metabolic	CMS4 Mesenchymal
14%	37%	13%	23%
MSI, CIMP high, hypermutation	SCNA high	Mixed MSI status, SCNA low, CIMP low	SCNA high
<i>BRAF</i> mutations		<i>KRAS</i> mutations	
Immune infiltration and activation	WNT and MYC activation	Metabolic deregulation	Stromal infiltration, TGF-β activation, angiogenesis

Figura 14: Subtipos Moleculares del CRC. Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reyniès, A., Schlicker, A., Sonesson, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G., Angelino, P., Bot, B. M., Morris, J. S., Simon, I. M., Gerster, S., Fessler, E., De Sousa E Melo, F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., Homicsko, K., ... Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature medicine*, 21(11), 1350–1356. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>.

Guinney *et al.* identificaron cuatro subtipos moleculares y pudieron clasificar correctamente el 78% de las muestras (4000 muestras de CRC, principalmente estadios II y III). El estudio también informó sobre un quinto subgrupo (13%) sin asignación clara y que posiblemente representen un fenotipo de transición o heterogeneidad intratumoral.

Se puede observar una comparativa entre todas las clasificaciones propuestas en la Figura 15.



CR CSC: Colorectal Cancer Subtyping Consortium; CCS: Colon Cancer Subtype system; CRCA: Colorectal Cancer Assigner system; CCMS: Colon Cancer Molecular Subtype system; CR CIS: Colorectal Cancer Intrinsic Subtypes

Figura 15: Diferentes Clasificaciones Propuestas para el CRC. Rodríguez-Salas, N., Domínguez, G., Barderas, R., Mendiola, M., García-Albéniz, X., Maurel, J., & Batlle, J. F. (2017). Clinical relevance of colorectal cancer molecular subtypes. *Critical reviews in oncology/hematology*, 109, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.11.007>.

Los biomarcadores son patrones moleculares que no solo se pueden utilizar como herramienta para la detección precoz del cáncer sino también en la individualización del tratamiento en pacientes con CCR, por lo que podemos clasificarlos en tres categorías: biomarcadores diagnósticos, pronósticos o predictivos ⁽¹²⁶⁾.

En CCR los biomarcadores pronósticos se pueden utilizar para predecir progresión de enfermedad, así como predecir recurrencia temprana y mortalidad ^(126,127). Entre los biomarcadores pronósticos están *KRAS*, que forma parte de la familia de protooncogenes *RAS* de GTPasas que actúa para desactivar la proliferación celular. Mutaciones en este protooncogen se asocian con un mayor riesgo recaída a distancia tras cirugía con intención curativa, así como también con una peor supervivencia general después del tratamiento local de enfermedad metastásica ⁽¹²⁸⁾. Otro protooncogén pronóstico en CCR es *BRAF*, que funciona a través de la vía *RAS-RAF-MEK-ERK* que regula la transcripción celular y cuya mutación en V600E se asocia con una peor supervivencia global ⁽¹²⁹⁾.

Entre los biomarcadores predictivos, que son aquellos que van a ser predictores de respuesta a un tratamiento específico, son *RAS* (*KRAS* y *NRAS*), *BRAF*, el status MSI y Her2 como se verá a continuación.

1.13 TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE COLON

El tratamiento del cáncer colorrectal está marcado por el estadio de enfermedad al diagnóstico. En general, las modalidades estándar de tratamiento del cáncer son la quimioterapia, la cirugía y la radioterapia, y la elección de la modalidad o combinación de éstas dependerá de las características relacionadas con el tumor, como la ubicación, el tamaño, la extensión de la enfermedad, así como del estado funcional del paciente ⁽¹³⁰⁾.

1.13.1 Cirugía

La resección quirúrgica es la modalidad principal para los pacientes con CCR en estadios iniciales. El tratamiento con intención curativa para el cáncer de colon consiste en la resección en bloque de todo el tumor, con márgenes histológicamente libres y ausencia de metástasis ganglionares residuales o

metástasis en órganos a distancia; de lo contrario, sería una resección paliativa del primario (por clínica obstructiva o perforación en pacientes con enfermedad avanzada) o la realización de una colostomía de descarga para evitar la clínica obstructiva ⁽¹³¹⁾. La cirugía se puede realizar por laparotomía o laparoscopia y la resección del cáncer debe cumplir con los principios de la cirugía oncológica: manipulación atraumática del tumor; resección completa con márgenes proximales, distales y radiales adecuados, extracción en bloque del tumor y, si es necesario, de órganos adyacentes afectados, sin abrir ni penetrar el tumor y linfadenectomía regional completa con resección de al menos 12 ganglios ⁽⁴⁹⁾. En cuanto al cáncer de recto es importante destacar que la escisión adecuada del mesorrecto es el tratamiento de elección. En tumores del tercio superior, se indica la excisión parcial, incluyendo 5 cm distales al tumor, mientras que en tumores del tercio inferior y medio, se indica la escisión total del mesorrecto (TME) ⁽¹³²⁾.

La designación "R" indica la presencia o ausencia de tejido tumoral residual posterior al tratamiento quirúrgico. Se emplea la expresión "resección R0" cuando el tumor ha sido extirpado completamente, con márgenes histológicos libres de enfermedad; "resección R1" cuando los márgenes histológicos son positivos; y "resección R2" cuando persiste tejido tumoral macroscópico. En situaciones donde no es posible proporcionar todos estos datos, se utiliza el término "resección Rx". La evaluación pronóstica según la clasificación TNM se basa en la premisa de una extirpación completa del tumor, siendo esencial una resección R0 para que el tratamiento adyuvante sea curativo ⁽¹³³⁾.

En el manejo quirúrgico de pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm), el tratamiento estándar implica la resección quirúrgica combinada con terapia sistémica. A diferencia de otros cánceres en estadio IV, la resección quirúrgica del CCRm puede tener un impacto significativo en la prolongación de la supervivencia. En algunos casos, la extirpación de metástasis hepáticas y pulmonares incluso puede llevar a una curación ^(134,135). Se ha evidenciado una mejora en la supervivencia, incluso en presencia de metástasis peritoneales, en comparación con el enfoque sintomático ^(136,137). Además, los avances en la terapia sistémica han contribuido a mejorar la supervivencia en casos de CCRm, permitiendo la conversión de lesiones inicialmente no reseables a reseables ⁽¹³⁸⁾.

1.13.2 Quimioterapia

1.13.2.1 Enfermedad localizada

La quimioterapia adyuvante a nivel colorrectal se administra con el objetivo de erradicar cualquier enfermedad micrometastásica que pueda persistir después de la cirugía, con el consiguiente aumento en la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global del paciente ⁽¹³⁹⁾. Los fármacos que se han estudiado en el marco del tratamiento adyuvante del cáncer de colon con beneficios observados son el 5-fluorouracilo (5-FU), fluoropirimidina oral (capecitabina) y oxaliplatino ⁽¹³⁰⁾.

La eficacia del tratamiento adyuvante dependerá de la estadificación del tumor. Dado su excelente pronóstico, los pacientes con enfermedad en estadio I no requieren tratamiento adyuvante. En pacientes con enfermedad en estadio II, el tratamiento adyuvante con 5-FU como monoterapia reduce el riesgo de muerte por cáncer de colon después de la resección del tumor primario en un 3%–5% ⁽¹³⁰⁾. En pacientes con enfermedad en estadio III, los regímenes de quimioterapia que combinan 5-FU y oxaliplatino reducen el riesgo de muerte en un 10%–25% ⁽¹³⁰⁾.

La decisión de tratamiento adyuvante en pacientes diagnosticados con cáncer de colon debería basarse en factores dependientes del paciente, como el estado funcional (PS), la edad, las comorbilidades y las preferencias, así como en factores relacionados con el tumor, como la estadificación y el grado tumoral, que contribuyen al riesgo general de recurrencia.

El tratamiento adyuvante solo debería recomendarse para pacientes con enfermedad en estadio II considerados de alto riesgo, para los cuales debe estar presente uno de los siguientes factores ⁽¹³⁰⁾:

- Número de ganglios linfáticos resecados: <12
- Tumor poco diferenciado
- Presencia de invasión vascular, linfática o perineural
- Estadio pT4
- Presentación clínica con obstrucción intestinal o perforación

En estos casos, se debería considerar el tratamiento adyuvante con quimioterapia basada en 5-FU, ya sea o por vía oral (capecitabina). El beneficio de agregar oxaliplatino al tratamiento adyuvante en estadios II es más controvertido, ya que varios estudios han mostrado resultados negativos (MOSAIC ⁽¹⁴⁰⁾, C-07

⁽¹⁴¹⁾). En pacientes de muy alto riesgo (T4 o más de un factor pronóstico desfavorable), podría considerarse el uso de 5-FU con oxaliplatino ⁽¹³⁰⁾. Como comentado en el apartado de biomarcadores, el MSI podría ser un biomarcador predictivo de ausencia de respuesta a fluoropirimidinas en monoterapia por lo que en pacientes estadios II no está indicada la adyuvancia ⁽¹³⁰⁾.

El tratamiento adyuvante estándar en el cáncer de colon estadios III es una combinación de fluoropirimidinas y oxaliplatino. Después de los resultados del ensayo MOSAIC en 2004 ⁽¹⁴⁰⁾, que confirmó una disminución del 23% en el riesgo de recurrencia, una mejora del 6% en la supervivencia libre de eventos (EFS) y una mejora del 2.6% en la supervivencia global en el grupo de combinación después de más de 6 años de seguimiento, se agregó oxaliplatino a la combinación de 5-FU+LV en infusión continua en el esquema FOLFOX como tratamiento estándar. Otros ensayos significativos, como el ensayo NSABP C-07 ⁽¹⁴¹⁾ y el ensayo XELOXA ⁽¹⁴²⁾, han demostrado el beneficio de estas combinaciones sobre la monoterapia con fluoropirimidina, el estándar de cuidado previo.

La principal toxicidad acumulativa de un esquema doble de fluoropirimidina/oxaliplatino es la neuropatía periférica sensorial, para ello se han realizado estudios para reducir el tiempo de exposición al oxaliplatino, como el de la *International Duration Evaluation of Adjuvant Chemotherapy* (IDEA) ⁽¹⁴³⁾. El estudio IDEA tuvo como objetivo llevar a cabo un metaanálisis de seis ensayos clínicos internacionales (CALGB/SWOG 80702, IDEA FRANCE, SCOT, ACHIEVE, TOSCA y HORG) sobre la duración de la quimioterapia adyuvante en el cáncer de colon. El objetivo era evaluar si 3 meses de tratamiento con oxaliplatino y fluoropirimidinas (CAPOX/XELOX o FOLFOX) no era inferior a 6 meses de tratamiento para el cáncer de colon estadio III. Aunque la hipótesis de no inferioridad no se confirmó en el análisis general, el estudio contenía análisis de subgrupos preespecificados basados en el tipo de tratamiento (CAPOX/XELOX o FOLFOX) y las los estadios tumorales T y N. Los pacientes que recibieron FOLFOX durante 3 meses tuvieron un mayor riesgo de recurrencia en comparación con aquellos que recibieron tratamiento durante 6 meses; sin embargo, en el subgrupo tratado con CAPOX/XELOX, se cumplió el criterio de no inferioridad para la terapia de 3 meses en comparación con la de 6 meses. En cuanto a la interpretación de los análisis de subgrupos basados en el estadio tumoral, la duración de 3 meses tuvo una eficacia inferior en los tumores T4 en

comparación con la duración de 6 meses. Finalmente, se realizó un análisis exploratorio combinando de los estadios T1-3N1 (riesgo bajo) y T4 o N2 (riesgo alto); el criterio de no inferioridad se cumplió en los tumores de bajo riesgo, pero no en los tumores de alto riesgo. Los autores del estudio propusieron una estrategia de tratamiento adyuvante basada en el riesgo. Para los tumores T1-3N1, sugirieron que 3 meses de tratamiento pueden ser suficientes, especialmente cuando se utiliza CAPOX/XELOX. En contraste, para los tumores T4 o N2, sugirieron un tratamiento adyuvante más prolongado (6 meses), especialmente si se va a utilizar FOLFOX.

1.13.2.2 Enfermedad metastásica

En el CCR metastásico, el uso de quimioterapia suele combinarse con anticuerpos monoclonales tales como los dirigidos contra el EGFR (cetuximab y panitumumab), VEGF (bevacizumab, aflibercept y ramucirumab), HER2 (trastuzumab y lapatinib), fármacos dirigidos contra mutaciones en *BRAF* (encorafenib, binimetinib) así como inmunoterapia (anti-CTLA4 y antiPD-1) con la finalidad de inhibir el crecimiento tumoral, aumentar las tasas de respuesta y prolongar la supervivencia ^(130,144).

El tratamiento del CCRm se basa en el 5-FU, y la adición de oxaliplatino y/o irinotecán mejora la tasa de respuesta y la supervivencia ⁽¹³⁰⁾. FOLFOX y FOLFIRI se consideran igualmente efectivos, y varios agentes dirigidos contra el EGFR (cetuximab y panitumumab) o contra la vía del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (bevacizumab y ramucirumab, o el aflibercept) han demostrado un mayor beneficio cuando se combinan con quimioterapia o en monoterapia, como en el caso de los anti-EGFR ⁽¹³⁰⁾. Un análisis retrospectivo exploratorio del ensayo CALGB/SWOG 80405 ⁽¹⁴⁵⁾ se realizó en pacientes con CCRm con *RAS* no mutado para evaluar el impacto de la lateralidad del tumor primario (PTL). Se descubrió que los pacientes con tumores *KRAS* no mutados del lado izquierdo tratados con cetuximab experimentaron un aumento en la supervivencia global (OS) y la supervivencia libre de progresión (PFS), mientras que los pacientes con tumores del lado derecho tratados con bevacizumab tuvieron un aumento en la OS, confirmando el beneficio limitado de las terapias anti-EGFR en los tumores del lado derecho.

En casos seleccionados, cuando el objetivo es la reducción del estadio (en una terapia de conversión de no resecable a resecable) o en el cáncer de colon del lado derecho con mutaciones *BRAF* V600E, se debe considerar un esquema triple (FOLFOXIRI), que puede combinarse con bevacizumab ^(130,146).

En pacientes con enfermedad dMMR/MSI-H, el pembrolizumab en primera línea demostró una mejora en cuanto a supervivencia libre de progresión (PFS), su objetivo principal ⁽¹⁴⁷⁾.

La segunda línea de tratamiento dependerá principalmente del tratamiento recibido en una primera línea, en aquellos que recibieron una primera línea basada en oxaliplatino (FOLFOX o CAPOX/XELOX), sería aconsejable el tratamiento de segunda línea con irinotecán en combinación con una fluoropirimidina o en monoterapia. Por otro lado, aquellos tratados en una primera línea con irinotecán (FOLFIRI) podrían recibir tratamiento de segunda línea basada en oxaliplatino (FOLFOX o CAPOX). Independientemente del estado mutacional del Ras, la lateralidad y si se utilizó bevacizumab en primera línea, el tratamiento de segunda línea debe estar basado en quimioterapia combinada con un agente antiangiogénico ⁽¹³⁰⁾. Para pacientes con CCRm tratados previamente y con mutación *BRAF* V600E, se recomienda encorafenib-cetuximab como la mejor opción en segunda línea ⁽¹⁴⁸⁾.

En tercera línea, la utilización de anti-EGFR en monoterapia ha demostrado actividad, especialmente en pacientes con *RAS*-wt. También está aprobado en esta línea el regorafenib, un inhibidor multiquinasa oral que ha mostrado beneficios en la supervivencia según los datos del estudio CORRECT ⁽¹⁴⁹⁾. Además, la combinación de trifluridina–tipiracilo (TAS-102), que incluye trifluridina, un análogo de nucleósido basado en timidina, con clorhidrato de tipiracilo, un inhibidor de la timidina fosforilasa, ha demostrado beneficios en la supervivencia global en su ensayo pivotal ⁽¹⁵⁰⁾. Esta combinación, junto con bevacizumab, ha mejorado aún más estos resultados ⁽¹⁵¹⁾. Para pacientes con amplificación del Her2, los tratamientos dirigidos al bloqueo de Her2, como trastuzumab y lapatinib, han exhibido una actividad antitumoral significativa, como se evidencia en el ensayo HERACLES ⁽¹⁵²⁾.

1.13.3 Radioterapia

La radioterapia desempeña un papel esencial en el enfoque de tratamiento multimodal para el cáncer de recto, en conjunto con la intervención quirúrgica y la quimioterapia. Los objetivos principales incluyen la reducción de la recurrencia local, el mejoramiento de las tasas de preservación del esfínter, la disminución de las tasas de recurrencia local y el aumento de la supervivencia, especialmente cuando se combina con la escisión total del mesorrecto ⁽¹⁵³⁾. La radioterapia neoadyuvante constituye una parte integral del tratamiento estándar para el cáncer de recto en etapas localmente avanzadas. Se distinguen dos modalidades: la radioterapia de corta duración (SCRT), que se completa en 5 fracciones durante una semana, y la quimiorradioterapia de larga duración (LCCRT), la cual se extiende a lo largo de varias semanas, a menudo combinada con quimioterapia concomitante ⁽¹⁵⁴⁾.

Aunque las terapias sistémicas y la cirugía siguen siendo pilares fundamentales en el manejo del cáncer colorrectal metastásico, la radioterapia desempeña un papel distintivo al aliviar síntomas, controlar la enfermedad local y explorar combinaciones innovadoras con tratamientos sistémicos. Comúnmente, se recurre a la radioterapia paliativa para mitigar síntomas, especialmente cuando las metástasis afectan los huesos o generan complicaciones obstructivas. Su objetivo primordial es mejorar la calidad de vida al reducir el dolor, controlar el sangrado y aliviar, como se mencionó previamente, los síntomas obstructivos. En casos de enfermedad oligometastásica, la radioterapia puede considerarse con el propósito de lograr el control de la enfermedad y potencialmente prolongar la supervivencia ⁽¹⁵⁵⁾. Cada vez, se emplea más la radioterapia estereotáctica corporal (SBRT) para abordar con precisión las lesiones, presentando una alternativa a la intervención quirúrgica.

1.14 IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LOS SUBTIPOS MOLECULARES DEL CÁNCER DE COLON

Los estudios clínicos llevados a cabo por el Consorcio de Subtipificación del Cáncer Colorrectal revelaron disparidades sustanciales entre los diversos subtipos en lo que respecta a la localización, el género, el grado histopatológico y la etapa

en el momento del diagnóstico. Asimismo, se observaron divergencias significativas en la *Supervivencia Libre de Enfermedad* (DFS), la *Supervivencia Libre de Recaída* (RFS) y la *Supervivencia Después de Recaída* (SAR) ⁽⁸²⁾.

Los pacientes que presentan tumores con inestabilidad de microsatélites (MSI) en estadios iniciales, predominantemente asociados con los cánceres CMS1, exhiben un pronóstico más favorable en comparación con aquellos que presentan tumores microsatelitales estables (MSS) ⁽¹⁵⁶⁾. Los cánceres en estadio II con MSI muestran una baja tasa de recurrencia, lo que generalmente resulta en la no recomendación de quimioterapia adyuvante para estos pacientes ⁽¹⁵⁷⁾. En referencia a la sección de quimioterapia, se destaca que los pacientes con tumores MSI en estadio III no obtienen beneficios del tratamiento exclusivo con fluoracilo, pero responden positivamente al tratamiento adyuvante que combina fluorouracilo con oxaliplatino. Es importante señalar que la detección temprana de los tumores CMS1 se asocia con un mejor pronóstico, en parte debido a la presencia de poblaciones específicas de células T, como linfocitos T citotóxicos CD8+, células T auxiliares tipo 1 CD4+ activadas (Th1) y células asesinas naturales (NK). Estos tumores CMS1 son más prevalentes en el colon derecho y presentan una supervivencia reducida después de la recaída, con una media de 9 meses ⁽⁸²⁾.

Aproximadamente el 39% de los cánceres CMS2 son estadios III en el momento del diagnóstico y la supervivencia global a los cinco años para todos los estadios de CMS2 es la más alta de cualquier subtipo, con un 77%, en comparación con el 73%, 75% y 62%, respectivamente, para CMS1, 3 y 4 ⁽⁸²⁾. Además, los cánceres CMS2 se encuentran de manera más común en el colon izquierdo (59%) y con tasas de supervivencia más altas después de la recaída (35 meses).

Los tumores CMS3 en enfermedad localizada presentan una SG peor que los tumores CMS2, pero mejor que los tumores CMS1, aunque no son estadísticamente significativos ⁽⁸²⁾. La supervivencia libre de recurrencia (RFS) de CMS3 no difirió de CMS1, CMS2 y CMS4, y la SG de los pacientes con tumores de CMS3 y CMS4 fue comparable en pacientes con enfermedad metastásica ⁽⁸²⁾.

En comparación con los otros subtipos moleculares, los cánceres CMS4 tienen un pronóstico desfavorable, con la peor supervivencia global a los 5 años (62%) y la peor supervivencia libre de recurrencia (60%) ⁽⁸²⁾. Los pacientes con CMS4 no muestran beneficios del tratamiento sistémico, a pesar de que se

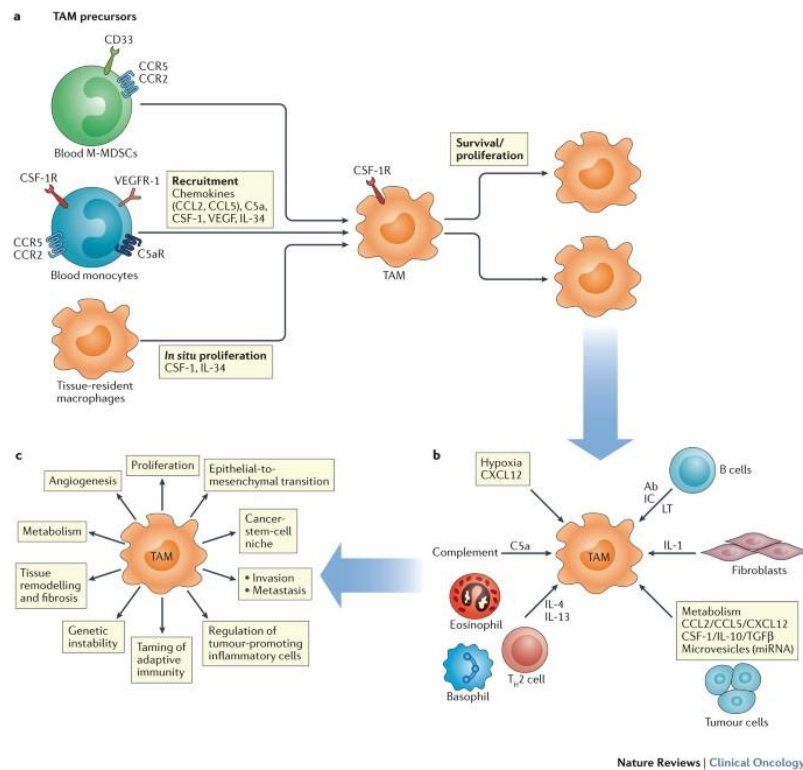
recomienda la adyuvancia para pacientes con estadios III ⁽¹²⁵⁾. Independientemente del estado de mutación de *KRAS* ⁽¹²²⁾, los cánceres de CMS4 son resistentes a la terapia anti-EGFR en la enfermedad metastásica.

1.15 MICROAMBIENTE INMUNE TUMORAL

1.15.1 Macrófagos

Existe una variedad de células estromales no malignas presentes en el microambiente tumoral que podrían influir de forma activa en la progresión del cáncer. Específicamente en tumores sólidos, los macrófagos asociados a tumores (TAMs) son una de las poblaciones más representadas y tienen un papel importante en los procesos invasión, angiogénesis y el desarrollo de metástasis ⁽¹⁵⁸⁾.

Los macrófagos (Fig. 16) son células fagocíticas del sistema inmunitario que desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmunitaria innata y se generan a partir de monocitos circulantes que, al activarse, sufren cambios morfológicos y funcionales para transformarse en macrófagos maduros. Los macrófagos tienen funciones efectoras que les permiten eliminar patógenos invasores de manera eficiente, tales como la fagocitosis, la secreción de péptidos antimicrobianos, la oxidación, la producción de nitrógeno y la secreción de citocinas y quimiocinas ⁽¹⁵⁸⁾. También desempeñan un papel central en la homeostasis y la reparación de los tejidos, promoviendo la angiogénesis y la formación de tejido de granulación durante la cicatrización de heridas y facilitan la regeneración tisular al producir factores de crecimiento e interactuar con células madre ^(158,159).



Nature Reviews | Clinical Oncology

Figura 16: Cambios funcionales, morfológicos y funciones de los macrófagos. Mantovani, A., Marchesi, F., Malesci, A., Laghi, L., & Allavena, P. (2017). Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nature reviews. Clinical oncology*, 14(7), 399–416. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>.

Los macrófagos son una población celular extremadamente diversa que, en respuesta a las señales ambientales locales, puede adoptar diversos fenotipos y funciones. En tejidos normales, estos pueden diferenciarse en células microgliales en el cerebro, células de Kupffer en el hígado y células de Langerhans en la piel. De manera análoga, en los tejidos tumorales, los TAMs también exhiben respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. La inflamación vinculada al tumor representa una de las complejidades distintivas del cáncer, especialmente debido a la infiltración enriquecida por macrófagos derivados de monocitos.

1.15.1.1 Polarización macrofágica, macrófagos M1 y M2

Los macrófagos son células extremadamente plásticas que son capaces de responder y adaptarse a estímulos externos y cuando se activan liberan

numerosos factores que podrían influir en el comportamiento de las células tumorales y otras células del estroma tumoral. La capacidad de los macrófagos para adaptarse a su entorno ha llevado a la identificación de dos fenotipos polarizados principales de macrófagos ⁽¹⁶⁰⁾. Con la presencia de factores como el lipopolisacárido (LPS), el interferón (INF)-gamma o el factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa, los macrófagos adoptan un fenotipo proinflamatorio (M1), con alta capacidad de presentación de antígenos, expresión de óxido nítrico sintasa 2 (NOS2), así como muchas citocinas proinflamatorias (IL1-Beta, IL6, IL12, IL23 y TNF). En el otro extremo se encuentran los macrófagos M2, inducidos por factores como IL4, IL10, IL13 o glucocorticoides, que producen citocinas antiinflamatorias, en concreto factor de crecimiento transformante (TGF)-Beta e IL10, y se caracterizan por su efecto secuestrante, angiogénico, y propiedades pro-invasivas. Muchos factores producidos por los macrófagos M2 actúan a favor de la progresión tumoral, estimulando el crecimiento tumoral y la angiogénesis ^(158,160).

El *clúster* de diferenciación (CD), también conocido como grupo de designación o determinante de clasificación, es utilizado para la identificación e investigación de moléculas de la superficie celular cuyo objetivo es proporcionar información para el inmunofenotipado de células mediante inmunohistoquímica. Los macrófagos, al igual que sus monocitos parentales, expresan CD14, un correceptor de TLR4, que se ha utilizado comúnmente para identificar macrófagos y monocitos de la mucosa intestinal y la sangre periférica respectivamente (161). Los CD14, CD68 y CD11b son marcadores globales de macrófagos. Para poder diferenciar entre sus fenotipos M1 y M2, existen marcadores específicos que se detallan a continuación (Fig. 17). Para los macrófagos M1: CD80, CD86, CD64 y CD32. Y, para los macrófagos M2: CD206, CD163 (altamente específico) y CD68 ⁽¹⁶²⁾.

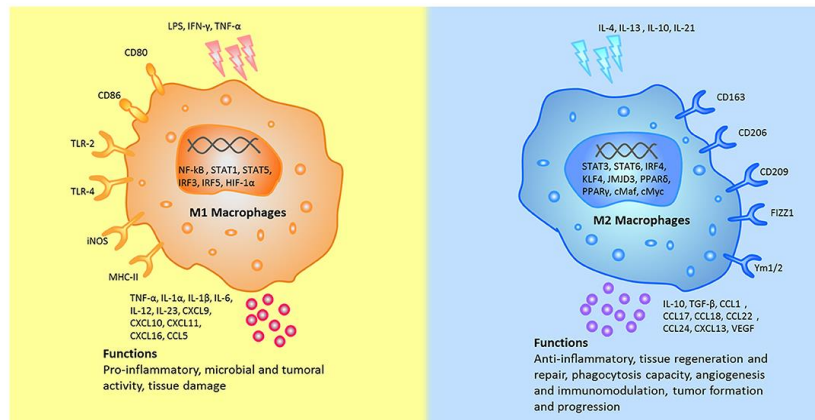


Figura 17: Marcadores específicos de los macrófagos. Yao, Y., Xu, X., & Jin, L. (2019). *Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. Frontiers in Immunology*, 10, 434399. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00792>

1.15.1.2 Rol de los macrófagos en el frente infiltrativo del tumor. Progresión y pronóstico

Varios estudios clínicos y epidemiológicos han destacado una sólida asociación entre la infiltración de TAMs, a menudo con el fenotipo M2, y un pronóstico desfavorable, con una reducción en la supervivencia global en diversos tipos de tumores como melanoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de riñón y cáncer de vejiga. La alta presencia tumoral tanto de macrófagos CD14+ como de CD163+ se asocia con un peor pronóstico en pacientes con cáncer colorrectal, aunque la evidencia es variada ^(158,163). Algunos estudios indican que una mayor infiltración de macrófagos está relacionada con estadios tumorales más avanzados y un pronóstico desfavorable, mientras que otros sugieren que las TAMs se vinculan a una mejor supervivencia en el cáncer colorrectal y a una menor probabilidad de desarrollar metástasis hepáticas. Nagorsen *et al.* ⁽¹⁶⁴⁾ observaron una mejor supervivencia en el cáncer colorrectal con macrófagos CD163+ (M2), pero no evaluaron la presencia de macrófagos M1. Por su parte, Algars *et al.* ⁽¹⁶⁵⁾ encontraron que una baja proporción de M1/M2 resultó en una enfermedad con tasas más elevadas de recurrencia. En base a la literatura y la evidencia contradictoria, se infiere que ambos subtipos de macrófagos en el cáncer colorrectal sugieren que el equilibrio entre los macrófagos M1 y M2 (Fig. 18) podría ser crucial para la evolución del paciente ^(158,160,165). Recientemente,

Braster *et al.* ⁽¹⁶⁶⁾ describió esta relación entre la infiltración de macrófagos en el cáncer colorrectal y su posible papel en el tratamiento de estos tumores.

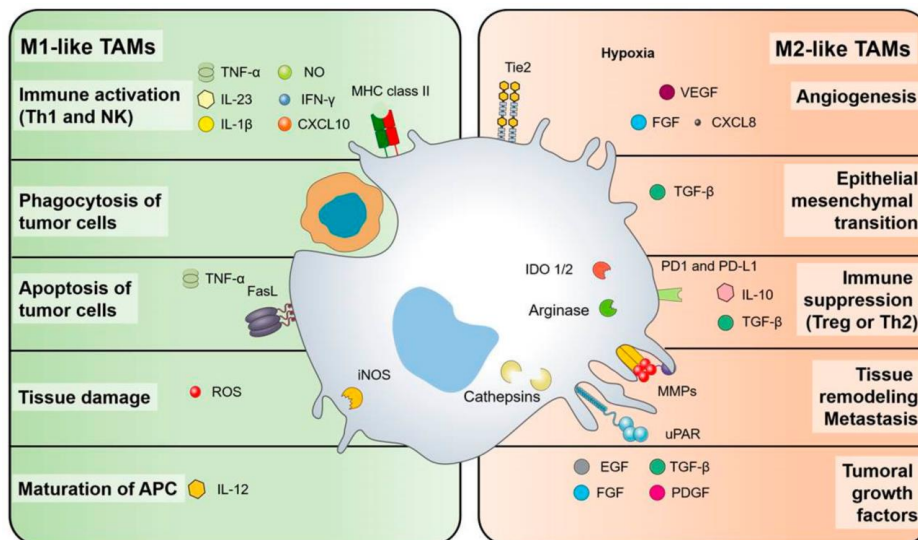


Figura 18: Características de los macrófagos M1 y M2. Anfray, Clément & Ummarino, Aldo & Torres Andón, Fernando & Allavena, Paola. (2019). *Current Strategies to Target Tumor-Associated-Macrophages to Improve Anti-Tumor Immune Responses*. *Cells*. 9. 46. 10.3390/cells9010046.

Se describe en la literatura que los macrófagos M0 o inactivados presentan una morfología ligeramente alargada con un frente bien definido, mientras que los macrófagos proinflamatorios M1 adoptan una forma redonda, y los macrófagos M2 (CD163+) o antiinflamatorios también exhiben una morfología alargada ⁽¹⁶⁷⁾. McWhorter *et al.* ⁽¹⁶⁸⁾ observaron que los macrófagos muestran distintos grados de elongación cuando se estimulan hacia los fenotipos M1 o M2 con citoquinas *in vitro*, lo que indica que el cambio en las formas de los macrófagos es un fenómeno plástico y depende de modificaciones en la matriz extracelular, a su vez condicionada por el estímulo presente en el microambiente circundante. En una investigación realizada por Xu *et al.* ⁽¹⁶⁹⁾, se demostró que el fenotipo M2 con forma redonda promueve la neovascularización, indicando que la isoforma redonda no es exclusiva del fenotipo M1.

1.15.2 Infiltración tumoral por linfocitos T

Los linfocitos T CD3⁺ constituyen aproximadamente el 10-20% de la población de leucocitos deciduales humanos en el primer trimestre del embarazo (Heikkinen *et al.*, 2004) ^(170,171). Estas células juegan un papel fundamental en la respuesta inmunitaria, particularmente en el contexto de la inmunidad tumoral y viral.

Dentro de esta subpoblación CD3⁺, se ha observado que el 40-75% son linfocitos T citotóxicos CD8⁺ (CTLs), los cuales son esenciales para la eliminación de células infectadas por virus y células neoplásicas a través de mecanismos de lisis celular mediada por perforina y granzimas, así como por la inducción de apoptosis vía el ligando Fas/FasL ^(170,172).

Por otro lado, aproximadamente el 30-45% de la subpoblación CD3⁺ corresponde a las células T colaboradoras CD4⁺ (Th) ⁽¹⁷¹⁾. Estas células son cruciales para la coordinación de la respuesta inmunitaria adaptativa, actuando mediante la secreción de citocinas que modulan la actividad de otros linfocitos T, células B y macrófagos, y promoviendo la activación y proliferación de estas células.

Además, una pequeña proporción de esta subpoblación incluye células T mucosas que expresan receptores de células T (TCR)- γ/δ y TCR $\alpha\beta$ ⁺, así como células T natural killer (NKT) ⁽¹⁷¹⁾.

La comprensión detallada de la composición y funciones de estas subpoblaciones de linfocitos T es crucial para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en oncología, especialmente en lo que respecta a la inmunoterapia dirigida y la modulación del microambiente tumoral.

Como se ha comentado previamente, las células T CD8⁺ son un tipo específico de células del sistema inmunológico que desempeñan un papel crucial en la defensa del cuerpo contra patógenos intracelulares, como virus y bacterias, así como en la vigilancia y eliminación de células tumorales.

Estas células, también conocidas como linfocitos T citotóxicos (CTLs), se generan en el timo y expresan el correceptor CD8, que consta de las cadenas CD8 α y CD8 β , y su capacidad de reconocimiento se dirige hacia péptidos que se unen a moléculas MHC de clase I presentes en todas las células nucleadas ⁽¹⁷³⁾.

Al momento en que una célula T CD8+ identifica un antígeno específico y se activa, despliega tres mecanismos para erradicar las células infectadas o malignas ⁽¹⁷³⁾:

- En primer lugar, secreta citocinas como TNF- α e IFN- γ , que tienen efectos antimicrobianos y antitumorales.
- En segundo término, emplea gránulos citotóxicos que albergan perforinas y granzimas. Las perforinas crean poros en la membrana de la célula objetivo, permitiendo que las granzimas ingresen y desencadenen la apoptosis celular.
- La tercera forma de destrucción involucra la interacción de Fas/FasL. Las células T CD8+ activadas expresan FasL en su superficie, lo que se une al receptor Fas en las células diana, desencadenando una cascada de señalización que resulta en la apoptosis de la célula objetivo.

Como se mencionó anteriormente, las CTLs son cruciales para la respuesta inmune contra el cáncer. A lo largo de la progresión del cáncer, las CTLs experimentan disfunción y agotamiento debido a la tolerancia generada, así como a la inmunosupresión dentro del microentorno tumoral (TME), lo que promueve la resistencia inmunológica adaptativa. Las fibroblastos asociados al cáncer (CAFs), los macrófagos M2 y las células T reguladoras (Tregs) podrían crear barreras inmunológicas contra las respuestas inmunitarias antitumorales mediadas por los linfocitos T CD8+ ⁽¹⁷⁴⁾. Por lo tanto, éstas deben ser preparadas y activadas hacia las CTL efectoras en un proceso llamado ciclo de inmunidad tumoral para generar respuestas inmunitarias antitumorales duraderas y eficientes. El proceso de activación de las células CD8+ T se dirige esencialmente como un trabajo de corroboración entre las células de la inmunidad innata, incluidas las células dendríticas (DC) y las células asesinas naturales (NK), con las células CD4+ T en la inmunidad adoptiva ⁽¹⁷⁴⁾. Tras la activación, las CTL efectoras se infiltran en el núcleo o frente invasor del tumor y desempeñan roles esenciales para eliminar las células cancerosas.

Diversos estudios han demostrado que altas densidades de células T CD8+ infiltrantes se asocian con una mejora en la supervivencia libre de enfermedad y en la supervivencia global en el cáncer colorrectal. Naito *et al.* ⁽¹⁷⁵⁾ demostraron que la infiltración de tumores por células T CD8+ mejora el pronóstico en el CCR. Desde entonces, un número sustancial de estudios también ha examinado el papel

de las células T CD8+, y hoy en día, se acepta su impacto pronóstico positivo en el CCR ^(176–179).

1.15.3 Inmunoscore

El inmunoscore ha emergido como una herramienta poderosa para evaluar la respuesta inmunitaria en el microambiente tumoral y proporcionar información pronóstica adicional a la clasificación TNM, para así poder predecir el pronóstico y la respuesta a los tratamientos disponibles.

El inmunoscore se basa en la cuantificación de linfocitos T, específicamente los linfocitos T CD3+ y CD8+, en dos regiones del tumor: el centro del tumor (CT) y en el margen invasivo (MI)⁽¹⁸⁰⁾. Este enfoque se fundamenta en la premisa de que una mayor infiltración de linfocitos T en estas áreas se correlaciona con una mejor respuesta inmunitaria antitumoral y, por ende, un mejor pronóstico.

El inmunoscore se obtiene mediante la identificación de los linfocitos T CD3+ y CD8+ por inmunohistoquímica, y las densidades de estas células en el CT y MI se cuantifican y se combinan para generar una puntuación total que varía de bajo (I0) a alto (I4)⁽¹⁸⁰⁾. Un inmunoscore alto indica una mayor infiltración de linfocitos T y se asocia con una mejor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global⁽¹⁸⁰⁾.

Diversos estudios han validado la utilidad clínica del inmunoscore en CCR. Galon *et al.*⁽¹⁸¹⁾ demostraron que los pacientes con un inmunoscore alto tenían una mayor supervivencia en comparación con aquellos con un inmunoscore bajo. En este estudio, se observó que el inmunoscore tenía un valor pronóstico independiente y superior al de la clasificación TNM, lo que sugiere su potencial para mejorar la estratificación del riesgo en pacientes con CCR.

Pagès *et al.*⁽¹⁸²⁾ llevaron a cabo una validación internacional del inmunoscore en un gran cohorte de pacientes con cáncer de colon. Los resultados confirmaron que el inmunoscore era un predictor independiente de recurrencia y supervivencia, destacando su robustez y aplicabilidad clínica. Este estudio también subrayó la importancia de la estandarización de las técnicas de cuantificación y la necesidad de validación en estudios multicéntricos para asegurar su implementación generalizada.

El impacto del inmunoscore en la práctica clínica es significativo, especialmente en el contexto de la inmunoterapia. Los pacientes con un inmunoscore alto, que indica un microambiente tumoral más inmunogénico, pueden ser más receptivos a terapias basadas en la modulación del sistema inmunitario, como los inhibidores de puntos de control inmunitario⁽¹⁸⁰⁾. Esto abre nuevas vías para la medicina personalizada en CCR, permitiendo la selección de tratamientos basados en el perfil inmunitario del tumor.

Además, el inmunoscore podría integrarse en algoritmos de decisión clínica junto con otros marcadores moleculares y clínicos para proporcionar una evaluación más completa del pronóstico del paciente. La combinación de datos inmunológicos, genéticos y clínicos podría revolucionar la manera de como tratamos al CCR.

1.16 MICROBIOTA

La microbiota intestinal humana consiste aproximadamente en 100 billones de microorganismos, incluyendo bacterias, arqueas, hongos y otros eucariotas unicelulares, y en algunos casos, helmintos, así como familias de virus (Fig. 19)⁽¹⁸³⁾. Todos ellos forman una red altamente compleja de interacciones entre sí y con el huésped, convirtiéndose en un aspecto relevante de la salud humana.

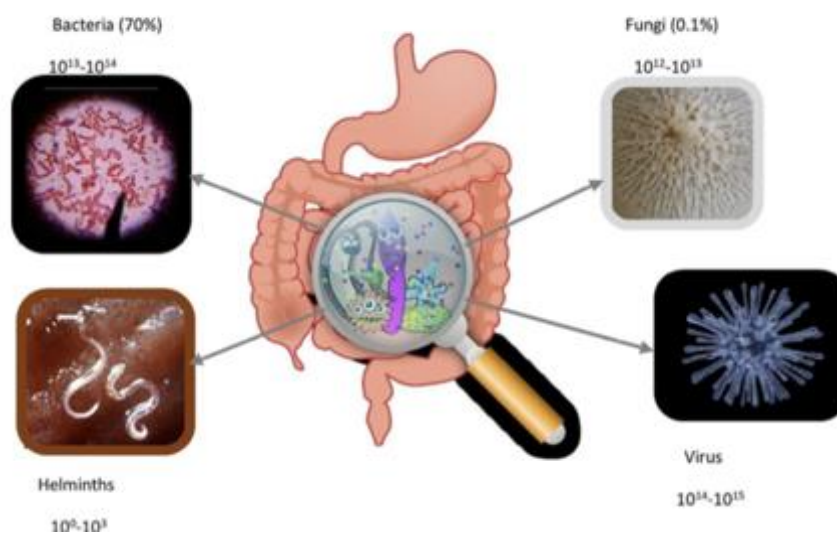


Figura 19: Composición de la microbiota. *Cells* 9(1):46. December 2019.

La microbiota intestinal difiere entre los individuos y el desarrollo de la microbiota es el resultado de las interacciones entre los procesos fisiológicos en el huésped y los microorganismos que se introducen desde el entorno.

La dieta desempeña un papel indispensable en la composición de la microbiota ya que es el punto de entrada para la mayoría de los factores exógenos que acceden al tracto digestivo. La microbiota intestinal es clave para el procesamiento de nutrientes y, en consecuencia, para la síntesis de metabolitos necesarios para los procesos inmunológicos y la generación de señales significativas para la función celular ⁽¹⁸⁴⁾. La microbiota, las células epiteliales mucosas, los componentes probióticos transmitidos por los alimentos y pequeñas moléculas como hormonas, enzimas, mucosidad y sales biliares constituyen un complejo microecosistema intestinal, que desempeña un papel importante en la inmunidad del huésped y puede influir en numerosos procesos biológicos críticos en la carcinogénesis, incluido el equilibrio entre la proliferación y la muerte celular ⁽¹⁸⁴⁾.

En las últimas décadas, se ha prestado una creciente atención al papel de la infección microbiana en la carcinogénesis y se sospecha que están involucrados en aproximadamente el 20% de los cánceres, especialmente el CCR ⁽¹⁸⁵⁾. Se sabe bien que en los cánceres digestivos algunos patógenos, como *Helicobacter pylori*, han estado directa y fuertemente vinculados al cáncer gástrico; sin embargo, el posible papel de la infección en el CCR sigue siendo controvertido ⁽¹⁸⁶⁾.

Cuando se altera el equilibrio de la microbiota, el epitelio intestinal y el moco pueden ser modificados y quedar más expuestos a microorganismos patógenos y otros factores agresivos que pueden dañar el colon y ser el comienzo del desarrollo del CCR ^(184,185). Una vez que se inicia el tumor, su interacción con su microentorno local y sus efectos sistémicos en el huésped son fundamentales para el desarrollo y tratamiento del CCR.

En las dos últimas décadas, se han alcanzado diversos hitos en la exploración de la posible correlación entre la microbiota y el cáncer colorrectal (CCR). Los análisis genómicos han revelado una conexión entre la familia *Fusobacterium* y la aparición del CCR, siendo esta especie detectada con mayor frecuencia en tejidos carcinogénicos que en tejidos saludables ⁽¹⁸⁷⁾.

En 2013, se amplió el entendimiento sobre cómo la microbiota puede modular la tumorigénesis. Científicos de la Universidad de Michigan hicieron un

descubrimiento significativo al extraer muestras de la microbiota intestinal de ratones con CCR y trasplantarlas en ratones libres de gérmenes. Se observó que los ratones que recibieron la microbiota fecal de ratones con CCR experimentaron un mayor desarrollo tumoral en comparación con aquellos que recibieron la microbiota fecal de ratones sanos ⁽¹⁸⁸⁾.

Esta investigación resalta que la pérdida del equilibrio microecológico entre la microbiota intestinal humana y el CCR ha adquirido un papel crucial en el estudio de la patogénesis del CCR. Además, este desequilibrio puede abrir nuevas perspectivas para su tratamiento, complementando así las investigaciones sobre mutaciones genéticas y factores hereditarios ⁽¹⁸⁹⁾.

II - JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) se presenta como una entidad clínica y biológicamente diversa, lo que ha llevado a la necesidad de estrategias más precisas para su caracterización y tratamiento. Una de las áreas de investigación más prometedoras en este sentido es la Clasificación Molecular de Subtipos de Consenso (CMS) del CCR. Este enfoque permite una comprensión más profunda de la heterogeneidad molecular del CCR y su asociación con varios aspectos clínicos y biológicos, como las características clínico-patológicas, la infiltración de macrófagos, el inmunoscore y la microbiota intestinal. A continuación, se explorarán las razones fundamentales por las cuales esta investigación es esencial para avanzar en el conocimiento y tratamiento del CCR.

2.1. PRECISIÓN EN EL TRATAMIENTO Y MEDICINA PERSONALIZADA

La clasificación CMS ofrece una visión única de la heterogeneidad molecular del CCR, lo que permite la identificación de subtipos con perfiles moleculares específicos. Este conocimiento es fundamental para diseñar estrategias de tratamiento más precisas y personalizadas. Al comprender la firma genética de cada subtipo, los oncólogos pueden adaptar los tratamientos para optimizar la eficacia y minimizar los efectos secundarios, abriendo así el camino hacia una medicina personalizada. Investigar esta clasificación es esencial para avanzar hacia una medicina de precisión que se adapte a la diversidad biológica del CCR.

2.2. VALOR PRONÓSTICO Y OPTIMIZACIÓN DE LA GESTIÓN CLÍNICA

La relación entre la clasificación CMS y las características clínico-patológicas ofrece información valiosa para la predicción de resultados y la gestión clínica. Al conocer la asociación entre los subtipos CMS y la progresión de la enfermedad, se pueden tomar decisiones más informadas sobre el manejo clínico de los pacientes. Esto no solo mejora la precisión en la predicción del pronóstico, sino que también

permite una planificación más efectiva del tratamiento y una atención más personalizada.

2.3. MICROENTORNO TUMORAL E INMUNIDAD

La relación entre la clasificación CMS y la infiltración de macrófagos y el *immunoscore* proporciona una visión detallada del microentorno tumoral y la respuesta inmunológica. Esta comprensión es esencial para el desarrollo de terapias inmunomoduladoras. Identificar subtipos asociados con respuestas inmunológicas específicas puede guiar el uso de terapias dirigidas a potenciar la respuesta inmunológica, como la inmunoterapia, mejorando así las opciones terapéuticas para los pacientes.

2.4. MICROBIOTA INTESTINAL Y SU IMPACTO EN EL CCR

La relación entre la clasificación CMS y la microbiota intestinal abre un fascinante campo de investigación sobre la influencia de la flora intestinal en el desarrollo y progresión del CCR. Investigar esta correlación puede revelar cómo la microbiota influye en el desarrollo y la progresión del cáncer. Comprender estas interacciones podría llevar al desarrollo de intervenciones dirigidas a la microbiota, ofreciendo nuevas estrategias para mejorar los resultados del tratamiento y la prevención del CCR.

2.5. DESCUBRIMIENTO DE BIOMARCADORES PARA DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO

La clasificación CMS no solo proporciona información sobre la heterogeneidad molecular, sino que también puede ser un recurso invaluable para el descubrimiento de biomarcadores. Estos biomarcadores pueden tener aplicaciones significativas en el diagnóstico temprano, la estratificación del riesgo y el seguimiento del tratamiento. Este enfoque ofrece la posibilidad de desarrollar herramientas de diagnóstico más precisas y estrategias de seguimiento más efectivas.

2.6. AVANZANDO EN EL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

La investigación de la clasificación CMS y su correlación con diversos aspectos clínicos y biológicos no solo tiene aplicaciones clínicas inmediatas, sino que también contribuye al avance del conocimiento científico en general. A medida que se profundiza en estas asociaciones, se abren nuevas oportunidades para la identificación de dianas terapéuticas, la mejora de la clasificación molecular y la comprensión más profunda de los mecanismos biológicos subyacentes al CCR.

En conclusión, la investigación en la clasificación CMS del CCR y su correlación con aspectos clínicos y biológicos es esencial para avanzar en la comprensión y tratamiento de esta enfermedad. Este enfoque multidisciplinario no solo mejora la precisión del tratamiento y la gestión clínica, sino que también contribuye al conocimiento científico global, llevando consigo el potencial de mejorar significativamente los resultados para los pacientes con cáncer colorrectal.

III – HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

III – HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS

El presente proyecto parte de la hipótesis de que podría haber una relación entre los subtipos moleculares del cáncer colorrectal y la presentación clínica y patológica al diagnóstico, los patrones de diseminación y la supervivencia, así como su relación con la microbiota, el *immunoscore* y la infiltración por macrófagos. De ser así, el conocimiento de esta relación podría facilitar el manejo de la enfermedad en cuanto al diagnóstico, clasificación y tratamiento óptimo de estos pacientes, así como el seguimiento de los mismos.

Se podría llegar a clasificar al cáncer de colon en subtipos moleculares por inmunohistoquímica ya que la clasificación transcriptómica no siempre está disponible en la práctica clínica.

3.2 OBJETIVO PRIMARIO

Clasificar el cáncer colorrectal en subtipos moleculares mediante la aplicación de técnicas avanzadas de inmunohistoquímica y correlacionar los subtipos con las características clínico-patológicas y pronóstico.

3.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS

Investigar la relación existente entre los subtipos moleculares del cáncer de colon, el *immunoscore* y el porcentaje de infiltración tumoral por macrófagos.

Explorar las posibles relaciones de los subtipos moleculares con la composición de la microbiota intestinal.

IV - MATERIALES Y MÉTODOS

IV - MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO:

Estudio de cohorte observacional retrospectivo

4.2 LUGAR DEL ESTUDIO:

Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, Región de Murcia. Es un centro terciario, con 667 camas de Hospitalización. El Servicio de Oncología abarca una población de 390.000 pacientes aproximadamente, correspondiente a dos Áreas Sanitarias (II y VIII).

4.3 MUESTRA:

Sobre una base de datos de pacientes con CRC, ya existente, no publicada previamente, del departamento de Anatomía Patológica, se estratificó en tipos histológicos de la OMS. A partir de ahí se seleccionó una serie de 255 pacientes con representación de todos los tipos histológicos, tanto en enfermedad localizada como metastásica, con material suficiente para estudio y seguidos por el Servicio de Oncología Médica del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena. Un patólogo seleccionó las muestras de resección utilizando núcleos de *microarray* tisular (TMA). Se analizaron variables demográficas, histopatológicas y clínicas. La clasificación molecular, el inmunoscore y la infiltración de macrófagos se determinaron mediante inmunohistoquímica.

4.3.1 Construcción de *microarrays* tisulares

Se extrajeron núcleos de dos regiones por caso, seleccionadas por un patólogo, para construir TMAs utilizando un *microarray* tisular manual (MTA-1, Beecher Instruments, Wisconsin, EE. UU.). Se tomaron dos núcleos (1,5 mm de diámetro, área total muestreada $\approx 3,53 \text{ mm}^2$) por caso en el frente de invasión,

seleccionados por un patólogo experimentado especialista en la sección de tumores gastrointestinal (J.G-S.) tras revisar la sección completa de H&E correspondiente. Para verificar la representatividad, se reevaluó la puntuación inmunológica y el *tumor budding* en secciones completas en un subconjunto aleatorio del 15,0 % (n = 38) y la concordancia entre la sección completa y el TMA fue excelente para la puntuación inmunológica y el *tumor budding*.

4.4 VARIABLES:

4.4.1 Variables demográficas:

Fecha de nacimiento, edad al diagnóstico (en años), sexo (femenino/masculino), etnia (blanca, amarilla, bereber) y calidad de vida del paciente (escala ECOG).

4.4.2 Variables histopatológicas

Histología (convencional / serrado / mucinoso / con inestabilidad de microsatélites-MSI / cribiforme-comedo), grado de diferenciación (G1 / G2 / G3), MSI (si / no), CDX2 (positivo / negativo), CIMP (high / low / no CIMP), KRAS (mutado / nativo), NRAS (mutado / nativo), BRAF (mutado / nativo), patrón de crecimiento tumoral (infiltrativo / expansivo), *tumor budding* (>20 focos / 10-19 focos / <10 focos, no, no disponible), infiltración vascular (si / no), infiltración linfática (si / no), infiltración perineural (si / no), infiltración por macrófagos CD163 fusiformes (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), infiltración por macrófagos CD163 redondos (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), infiltración por macrófagos CD14 fusiformes (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), infiltración por macrófagos CD14 redondos (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), infiltración por células T CD8 (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), tinción para HTR2B (AA / AB / AC / AD / BA / BB / BC / BD / CA / CB / CC / CD / DA / DB / DC / DD / negativa), tinción para HTR2B (positiva / focal / negativa / no disponible), tinción para ZEB1 (0 / 1 / 2 / 3 / no disponible), tinción para ZEB1 (intensa / moderada / escasa / negativa / no disponible), tinción para FRMD6 (AA / AB / AC / AD / BA / BB / BC / BD / CA / CB / CC / CD / DA / DB / DC / DD / negativa / no disponible), tinción para FRMD6 (positiva / focal /

negativa / no disponible), subtipo molecular (CMS1 / CMS2 / CMS3 / CMS4 / mixto / inclasificable) y microbiota (índice de Shannon, Berger-Parker y Simpson).

4.4.3 Variables Clínicas

Fecha del diagnóstico, síntoma clínico que llevó al diagnóstico (anemia, sangrado, dolor, alteración del tránsito, síndrome constitucional, obstrucción intestinal, tenesmo, screening con sangre oculta en heces - SOH, hallazgo casual, trombosis venosa profunda - TVP), fecha de la progresión o recaída, exitus (si / no), causa de exitus, fecha del último seguimiento, poliposis (si / no), cirugía del primario (si / no), fecha de la cirugía, intención de la cirugía (curativa / paliativa), antígeno carcinoembrionario - CEA al diagnóstico (niveles numéricos), clasificación tumor-node-metastasis (TNM) al diagnóstico, estadio al diagnóstico (I-IV), localización del tumor primario (colon derecho, colon izquierdo, recto), número de localizaciones de metástasis al diagnóstico (numérico), localización de metástasis al diagnóstico (pulmonar, hepática, cerebral, ganglionar, ósea, peritoneal), localización de las metástasis a la progresión (pulmonar, hepática, ganglionar, cerebral, ósea, peritoneal), tratamiento local de la metástasis (si/no), intención del tratamiento local de la metástasis (curativa / paliativa / no realizada), tratamiento con quimioterapia intraperitoneal hipertérmica - HIPEC (si / no), tratamiento adyuvante en aquellos pacientes con estadios III sin contraindicaciones o estadio II con al menos un factor de mal pronóstico (si / no), esquema del tratamiento adyuvante (FOLFOX, XELOX, capecitabina en monoterapia, ninguno), tratamiento de primera línea para enfermedad metastásica (XELOX, FOLFOX, TOMOX, FOLFIRI-Bevacizumab, FOLFOX-Bevacizumab, FOLFOX-Panitumumab, FOLFOX-Cetuximab, FOLFIRI-Panitumumab, FOLFIRI-Cetuximab, XELOX-Bevacizumab, 5-FU-Panitumumab, Capecitabina-Bevacizumab, FOLFIRI), quimioterapia con radioterapia neoadyuvante en caso de cáncer de recto (si / no), radioterapia adyuvante en caso de cáncer de recto (si / no), margen circunferencial afecto en caso de cáncer de recto (afecto / negativo / desconocido) y escisión completa del mesorrecto en caso de cáncer de recto (completa / incompleta).

4.5 MÉTODO DE ESTUDIO:

Se estudiaron los subtipos moleculares de cada biopsia y se compararon con las características de los pacientes como edad, sexo, localización, clínica al diagnóstico, patrones de diseminación y supervivencia, así como con las características histológicas tales como tipo histológico, grado de diferenciación, patrón de crecimiento tumoral, *tumor budding*, infiltración linfovascular y perineural, infiltración linfoide para análisis del inmunoscore, infiltración macrofágica, estudio de microbiota etc (ver anexos). Para la clasificación de los subtipos moleculares se determinó el: *status* mutacional de los oncogenes *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, el estado de inestabilidad de microsatélites (MSI) así como el fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP). Se analizó por inmunohistoquímica la expresión de proteínas CDX2, HTR2B, FRMD6, ZEB1 y KER. Así mismo se analizarán por inmunohistoquímica la infiltración macrofágica (CD 14 y CD163) en porcentaje así como la infiltración tumoral por linfocitos T CD8 y CD3 en el borde infiltrativo tumoral y en el centro del tumor, para obtener de esta manera el inmunoscore. La microbiota se analizó de acuerdo a los índices de Berger-Parker, Shannon y Simpson.

4.5.1 Método de análisis de muestras para el análisis de *RAS* y *BRAF*:

De los bloques de parafina, y tras el desparafinado de los mismos, la extracción del ADN se realizó utilizando el minikit QIAampDNA (cat: 51306) y el QiaCube automatic nucleic acid extractor (Qiagen, Hilden, Germany). Para determinaciones *BRAF*, las muestras de ADN se sometieron a discriminación alélica utilizando sondas TaqMan para la detección de *BRAF* V600E y, en aquellos casos sin mutación V600E se secuenciaron directamente para el exón 15 de *BRAF*. Las mutaciones de *KRAS* en los codones 12 y 13 se determinó por dHPLC (*denaturing high-performance liquid chromatography*). Previo al análisis de dHPLC, los productos derivados de PCR se calentaron a 95°C durante 10 min y luego se enfriaron lentamente a temperatura ambiente para permitir la formación de heterodúplex. A continuación, cinco microlitros del producto de la PCR fueron inyectados en una columna de fase inversa precalentada (Helix DVB, *Varian Analytical Instruments*, 2700 Mitchell Drive, CA) equilibrada con acetato de rietilamonio (TEAA) 0,1 M en un instrumento Helix ProStardHPLC (*Varian Analytical Instruments*, 2700 Mitchell Drive, CA). Todos los casos con un perfil de

curva diferente al de *KRAS* nativo se confirmaron mediante secuenciación utilizando el cebador universal M13.

4.5.2 Análisis de la inestabilidad de microsatélites (MSI):

Se evaluó utilizando el kit *MSI Analysis System*, versión 1.2 proporcionado por Promega (MI). El sistema de análisis MSI incluye cebadores marcados con fluorescencia para la coamplificación de siete marcadores, incluidos cinco marcadores de repetición de mononucleótidos (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y MONO-27) y dos pentanucleótidos (Penta C y Penta D). Los marcadores mononucleótidos se utilizan para la determinación de MSI y los pentanucleótidos para detectar posibles mezclas de muestras y / o contaminación. Los casos se categorizaron como MSI-H o microsatélites estables (MSS) / MSI de bajo nivel (MSI-L) según los criterios del *National Cancer Institute* (NCI).

4.5.3 Subtipos moleculares (CMS):

La tinción inmunohistoquímica se realizó sobre *microarrays* tisulares (TMA) según el protocolo descrito previamente por Conesa-Zamora *et al*⁽¹⁹⁰⁾, utilizando el equipo automatizado Window BENCHMARK. Se emplearon anticuerpos dirigidos contra HTR2B (anti-HTR2B [26408-1-AP], 1:100, Fisher Scientific, Madrid, España), FRMD6 (anti-FRMD6, 1:500, Sigma, Madrid, España), ZEB1 (anti-ZEB1, 1:500, Sigma, Madrid, España), pancitoqueratina, CDX-2 (EPR2764Y), CD163 (MRQ-26), CD14 (EPR3653), CD8 (SP57) y CD3 (2GV6), todos suministrados por Roche (Madrid, España) (Fig. 20). Posteriormente, la determinación del subtipo molecular se llevó a cabo mediante el clasificador inmunohistoquímico en línea *IHC-Mini Classifier*, disponible en: <https://crcclassifier.shinyapps.io/appTesting/>. El *IHC-Mini Classifier* ha demostrado previamente una concordancia sustancial con la clasificación de los subtipos moleculares CMS basada en expresión génica ($\kappa = 0,76$; concordancia absoluta del 84,0 %) en una serie multicéntrica independiente⁽¹⁹¹⁾. Aunque en el presente estudio se adoptó exactamente el mismo panel de anticuerpos y reglas de puntuación, no fue posible realizar una validación transcriptómica local, por lo que no puede excluirse la posibilidad de una clasificación errónea. Los umbrales

de clasificación y reglas de decisión para asignar los tumores a CMS1, CMS2/3 o CMS4 están predefinidos en el algoritmo del clasificador en línea y fueron aplicados sin modificaciones. Estos se basan en conjuntos de datos validados previamente publicados, integrando la intensidad de expresión de los marcadores, su localización y características morfológicas, según lo descrito por Anne Trinh *et al.* ⁽¹⁹²⁾ y validado por ten Hoorn *et al.* ⁽¹⁹¹⁾.

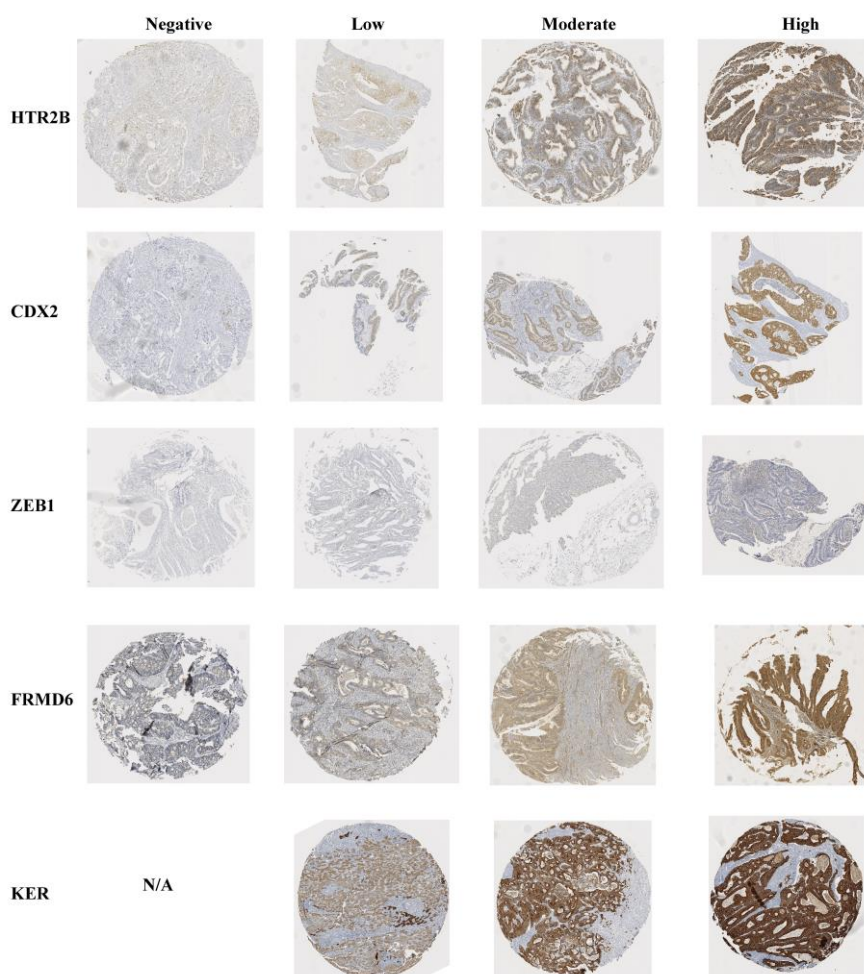


Figura 20: Fotografía Propia de Tinciones IHQ para HTR2B, ZEB1, FRMD6, KER y CDX-2.

4.5.4 Tumor Budding:

El *tumor budding* se clasificó en tres grupos según el número de focos identificados: bajo (<10 focos), intermedio (10–19 focos) y alto (≥ 20 focos). Estos puntos de corte se seleccionaron con el objetivo de permitir una estratificación clínicamente relevante, basada en la distribución observada del *tumor budding* en esta cohorte, de manera similar a lo propuesto por Ueno H. *et al*⁽¹⁹³⁾.

4.5.5 Microbiota:

Las muestras fecales utilizadas para el estudio de la microbiota intestinal se obtuvieron de pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal antes del inicio de cualquier tratamiento oncológico. Cada participante depositó una muestra de heces frescas en un recipiente estéril de boca ancha, sin aditivos, evitando el contacto con orina u otros contaminantes. Las muestras fueron recogidas en el hospital, manteniéndose a una temperatura de 4 °C durante el transporte al laboratorio, que se realizó en menos de 4 horas tras la emisión. Una vez recibidas, las muestras fueron homogeneizadas en condiciones asépticas dentro de una cabina de bioseguridad de clase II y divididas en alícuotas de aproximadamente 200 mg, que se conservaron inmediatamente a -80 °C hasta su procesamiento. Se extremaron las medidas para evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación, a fin de preservar la integridad del ADN bacteriano.

La extracción del ADN total se realizó a partir de las alícuotas fecales mediante un método basado en lisis mecánica y química, siguiendo las instrucciones del kit comercial QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania), con ligeras modificaciones para optimizar el rendimiento en muestras ricas en polisacáridos. El material obtenido se cuantificó mediante espectrofotometría (NanoDrop ND-1000, Thermo Fisher Scientific) y se evaluó su pureza por la relación de absorbancia A260/A280, aceptándose únicamente aquellas muestras con valores comprendidos entre 1.8 y 2.0.

El ADN purificado se empleó para la amplificación de las regiones variables del gen ribosomal 16S, que actúan como marcador filogenético universal. La preparación de las librerías se llevó a cabo siguiendo el protocolo de secuenciación metagenómica 16S de Illumina. En una primera PCR se amplificó la región V3-V4 del gen 16S utilizando cebadores universales adaptados con las secuencias de anclaje a los índices Illumina. Tras la purificación del producto

mediante perlas magnéticas AMPure XP (Beckman Coulter), se realizó una segunda PCR de indexación para incorporar los adaptadores y códigos específicos de cada muestra.

Las librerías obtenidas se cuantificaron mediante fluorometría (Qubit 2.0, Thermo Fisher Scientific), se normalizaron a una concentración equimolar y se verificó el tamaño esperado (~460 pb) mediante electroforesis capilar (Bioanalyzer 2100, Agilent Technologies). Finalmente, las librerías se agruparon en un “pool” único y se cargaron en la plataforma Illumina MiSeq, utilizando el kit MiSeq Reagent v3 (600 cycles) para generar lecturas pareadas (paired-end) de 2 × 300 pb de alta calidad.

El estudio de la microbiota intestinal se realizó a partir de muestras fecales de pacientes con cáncer colorrectal mediante secuenciación del gen ribosomal 16S. Tras la extracción del ADN, se aplicó el protocolo de secuenciación metagenómica 16S de Illumina, que permite identificar y cuantificar las bacterias presentes en cada muestra. La secuenciación se llevó a cabo en plataforma Illumina, generando lecturas pareadas de alta calidad.

Los datos obtenidos se sometieron a control de calidad y posteriormente se analizaron con herramientas bioinformáticas específicas. La clasificación taxonómica de las secuencias se realizó con el programa Kraken2, y la estimación de abundancias relativas con Bracken, utilizando una base de datos de referencia que incluye genomas bacterianos y arqueales completos.

Para evaluar la diversidad microbiana se calcularon los índices de Shannon, Simpson y Berger–Parker, y se representaron los taxones más abundantes en cada muestra mediante herramientas de visualización como Pavian. Todo lo anterior se realizó siguiendo el protocolo descrito previamente por Jennifer Lu et al.⁽¹⁹⁴⁾.

4.5.6 Inmunoscore:

La evaluación inmunohistoquímica de células inmunitarias marcadas con CD3⁺ y CD8⁺ se realizó sobre *microarrays* tisulares (TMA), siguiendo el protocolo descrito por Conesa-Zamora *et al.*⁽¹⁹⁰⁾. Las densidades de linfocitos T CD3⁺ y CD8⁺ fueron evaluadas manualmente por dos patólogos independientes. En cada caso se seleccionó la región con mayor infiltrado linfocitario (*hotspot*) en el margen invasivo, contando las células positivas en cuatro campos microscópicos de gran

aumento ($\times 40$) no superpuestos. Las densidades celulares (células/mm²) se promediaron por compartimento y se convirtieron posteriormente en la escala de cinco niveles del inmunoscore (I0–I4), conforme a los umbrales establecidos por Pagès *et al.*⁽¹⁸²⁾. La reproducibilidad inter-observador, calculada en 25 tumores seleccionados aleatoriamente, mostró una fuerte correlación. El cálculo del inmunoscore se llevó a cabo de acuerdo con el método propuesto por Jiang *et al.*⁽¹⁹⁴⁾, el cual clasifica los casos en cinco categorías (I0–I4) según la densidad de linfocitos T CD3+ y CD8+ presentes tanto en el centro tumoral como en el margen invasivo. Para los fines de este estudio, estas cinco categorías se reagruparon en dos grupos: inmunoscore bajo (I0–I1) e inmunoscore intermedio-alto (I2–I4). Esta categorización binaria fue seleccionada para facilitar la interpretación clínica y se encuentra alineada con enfoques previamente validados en otros estudios, como el de Pagès *et al.*⁽¹⁸²⁾.

4.5.7 Macrófagos:

La evaluación inmunohistoquímica de las células inmunitarias marcadas con CD163+ y CD14+ se llevó a cabo sobre *microarrays* tisulares (TMA), siguiendo el protocolo descrito por Conesa-Zamora *et al.*⁽¹⁹⁰⁾. Posteriormente, los macrófagos se clasificaron morfológicamente en dos subtipos: macrófagos de tipo fusiforme y macrófagos de tipo redondeado (Fig. 21).

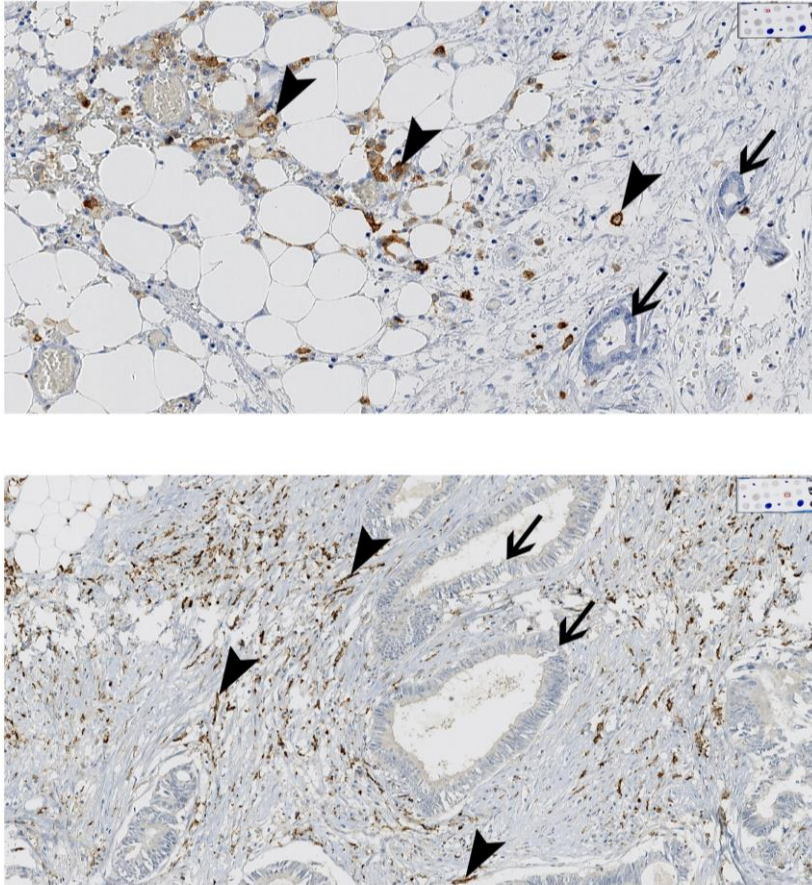


Figura 21: Fotografía Propia de Tinción para CD163.

4.5.8 Evaluación del fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP)

Se empleó la técnica de amplificación específica por ligación múltiple dependiente de sondas para la detección de metilación (MS-MLPA), utilizando la mezcla específica de sondas para CIMP SALSA ME042-C1 (MRC-Holland, Ámsterdam), tal y como se describió previamente en Turpín-Sevilla MC *et al.*⁽¹⁹⁵⁾. La cantidad de ADN tumoral empleada fue de 100 ng por caso, desnaturalizado en 5 μ L de solución amortiguadora Tris-EDTA (TE); el análisis de fragmentos se realizó en un secuenciador capilar ABI 3130. Como referencia normal, se utilizó ADN proveniente de mucosa colónica normal agrupada (*pool*). El procesamiento de los datos se llevó a cabo mediante el software Coffalyser.netTM (configuración por defecto), con normalización inter-muestra frente a múltiples corridas del

ADN de referencia, y normalización intra-muestra respecto a las sondas de referencia del kit. Para valorar cada sonda se utilizaron los cocientes de altura de los picos obtenidos (ADN digerido frente a ADN no digerido). Siguiendo las recomendaciones del fabricante, los genes con metilación parcial fueron considerados como «metilados». Los criterios de clasificación aplicados siguieron el esquema estándar establecido previamente por Weisenberger *et al.*⁽¹⁰⁹⁾ (panel de 5 genes, CIMP-W), categorizándose como CIMP-Alto aquellos casos con más de 3 loci metilados (*CACNA1G*, *IGF2*, *NEUROG1*, *RUNX3*, *SOCS1*), y como CIMP-Negativo aquellos con 3 o menos loci metilados.

4.6 CONSENTIMIENTO Y CONSIDERACIONES ÉTICAS:

El protocolo de investigación fue evaluado por el Comité de Ética del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, con fecha del 28 de mayo del 2019 y por el Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia el 26 de julio del durante su inclusión en los estudios de doctorado, obteniéndose su aprobación por ambos organismos.

El tratamiento de los datos sobre la información sociodemográfica, clínica y radiológica de los sujetos del estudio se realizó de forma anónima y confidencial, cumpliendo la ley de Protección de Datos (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales).

La manipulación de las muestras biológicas empleadas en este estudio se realizó atendiendo a los principios éticos en investigación con muestras biológicas según lo establecido en la ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica; la ley 41/2002, de 14 de noviembre, reguladora de la Autonomía del Paciente; y la ley 14/1986, Ley General de Sanidad.

Este estudio cumple todos los principios éticos de investigación biomédica recogidos en la Declaración de Helsinki y en la Declaración Universal de los Derechos Humanos de la UNESCO.

Asimismo, todos los sujetos incluidos en el estudio firmaron el consentimiento informado que autoriza al Hospital General Universitario Santa Lucía a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado como parte del proceso asistencial sean incorporadas en el Biobanc-Mur Nodo

Área II, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente.

4.7 ANÁLISIS DE DATOS:

En primer lugar, se ha llevado a cabo un análisis descriptivo de las variables de interés en el estudio, utilizando para ello tanto herramientas gráficas como analíticas. Para las variables cualitativas se han utilizado tablas de frecuencias, gráficos de sectores y gráficos de barras. Para las variables cuantitativas se han utilizado estimadores tanto de localización (medias como estimadores no robustos y medianas como estimadores robustos) como de dispersión (desviaciones típicas como estimadores no robustos y rangos intercuartílicos como estimadores robustos), así como histogramas y diagramas de cajas. También se ha analizado la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión de estos pacientes desde el diagnóstico, estimando la curva de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier.

A continuación, se ha llevado a cabo un estudio comparativo de los pacientes según su clasificación del subtipo molecular (CMS) del cáncer colorrectal a partir de la información transcriptómica, según su clasificación respecto al *tumor budding*, según su clasificación a partir de la infiltración macrofágica CD163+, según su clasificación a partir de la infiltración macrofágica CD14+ y según su relación con los índices de diversidad microbianos. Para cada una de las comparaciones se ha seleccionado la prueba más adecuada según la naturaleza de la variable a comparar. Para la comparación de variables cualitativas se han utilizado pruebas chi-cuadrado con el estadístico exacto de Fischer cuando teníamos tablas de contingencia 2x2. Para la comparación de variables cuantitativas entre dos grupos se han utilizado pruebas t de Student de comparación de medias de dos muestras independientes en aquellas situaciones en las que la normalidad de la distribución de la variable podía ser asumida en ambos grupos de pacientes, mientras que se han utilizado pruebas de Mann-Whitney en caso de que esta hipótesis no pudiese ser asumida en alguno de los dos grupos de pacientes. Para la comparación de variables cuantitativas entre tres o más grupos se han utilizado pruebas ANOVA (pruebas de Welch cuando la

homogeneidad de varianzas entre los grupos no podía ser asumida) en aquellas situaciones en las que la normalidad de la distribución de la variable podía ser asumida en todos los grupos de pacientes, mientras que se han utilizado pruebas de Kruskal-Wallis en caso de que esta hipótesis no pudiese ser asumida en alguno de los grupos de pacientes. Para la evaluación de la normalidad se han utilizado herramientas analíticas (prueba de Shapiro-Wilk) y gráficas (gráficos probabilísticos normales). Para la comparación de la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión se han utilizado pruebas de comparación de curvas de supervivencia (Breslow, Log-Rank y Tarone-Ware). Se ha estimado el el impacto de cada uno de los factores considerados en la supervivencia (global o libre de progresión) ajustando modelos de regresión de Cox univariante, estimando el cociente de riesgo asociado y su significatividad estadística. También se ha estudiado el efecto conjunto de estos factores mediante el ajuste de modelos de regresión de Cox multivariantes.

Para los análisis estadísticos se han utilizado los programas IBM SPSS Statistics versión 21 y R versión 4.2.1. En todos los casos se han aplicado pruebas bilaterales utilizando un nivel de significación del 5%

4.8 MEDIOS DISPONIBLES:

Historia Clínica Electrónica.

Servicio de Anatomía Patológica: cuatro laboratorios (140 m² en total) situados adyacentes a la sala de macrodissección en el Servicio de Anatomía Patológica en la primera planta del Hospital General Universitario Santa Lucía junto a los quirófanos. Distribución de espacios:

4.8.1 Laboratorio 4:

Recepción de muestras. Dos neveras/congeladores para cada tipo de muestra. Poyata con microtomo para toma de muestras de tejido parafinado.

4.8.2 Laboratorio 6:

Preparación de muestras. Centrífuga y poyata para separación elementos sanguíneos (tipo I; en rojo en el plano). Campana y centrífuga para desparafinización de tejidos fijados (tipo II; en azul en el plano)

4.8.3 Laboratorio 7:

Extracción de ácidos nucleicos. Equipo automatizado QiaSymphony (tipo I). Equipo automatizado Qiacube (tipo II). Espectrofotómetro para cuantificación de ácidos nucleicos NanoDrop de Thermo. Fluorímetro para cuantificación de ácidos nucleicos Qubit de Thermo. Alicuotador automático Qiagility de Qiagen. Dos equipos de análisis por qPCR microfuidica Idylla de Biocartis

4.8.4 Laboratorio 5:

Campanas de preparación de cócteles de PCR. Campana Telstar MH-100 para muestra tipo I. Campana Noxair Bioseguridad 2 para muestra tipo II. Sala de termocicladores y pirosecuenciación. Termocicladores a tiempo real: 7500F de Applied Biosystems, CFX96 de Bio-Rad, Cobas z480 y RotorGene de Qiagen. Termocicladores convencionales: Veriti (2Ud) de Applied Biosystems, C1000 Touch de Bio-Rad, Mastercycler de Eppendorf. Pirosecuenciador PyroMark Q24 (tipo II). Generador de gotas para PCR digital (Automated Droplet Generator) de Bio-Rad. Selladora de placas PX1 de Bio-Rad

4.8.5 Laboratorio 9:

Sala post-PCR. Equipo de electroforesis de alta resolución Qiaxcel (tipo I). Equipo de extracción cobas x 480 y termociclador a tiempo real Cobas z480 para genotipado VPH y termociclador a tiempo real OSNA de Sysmex para ganglio centinela (tipo II). Equipo de lectura de gotas para PCR digital QX200 de Bio-Rad. Equipo de electroforesis en geles de agarosa y transiluminador. Poyata para la realización de hibridación in situ fluorescente con equipo semiautomatizado ThermoBrite de Leica (tipo II). Confeccionador de micromatrices de tejido (MTA-2) de Beecher (uso investigación mayoritariamente). Otros equipos disponibles en el Servicio de Anatomía Patológica. Tres inmunoteñidores automáticos MenchMark Ultra de Ventana. Microscopia de fluorescencia CTR6 de Leica.

Microdisector láser LMD con módulo de fluorescencia de Leica. Digitalizador microscópico de portas con módulo de cuantificación automática de tinciones inmunohistoquímicas. Sala de cultivos celulares con campana de flujo, incubadora de CO₂ y microscopio invertido. Sala de criopreservación con biobanco de muestras (banco de tumores, genoteca, seroteca y plasmateca).

4.9 SOPORTE Y FINANCIACIÓN:

Este estudio fue financiado parcialmente por la Sociedad Española de Oncología Médica (Beca SEOM/MSD para proyectos de investigación año 2021), el instituto Carlos III a través del proyecto "ICI20/00044" y cofinanciada por la Unión Europea y el programa H2020 de la Comisión Europea con arreglo al *SOCIETAL CHALLENGES - Health, demographic change and well-being* (proyecto REVERT: *taRgeted thErapy for adVanced colorEctal canceR paTients*; Identificador del acuerdo de subvención: 848098).

V - RESULTADOS

V - RESULTADOS

En este estudio se dispone de información de una muestra de 255 pacientes seguidos por el Servicio de Oncología Médica del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena con diagnóstico de cáncer colorrectal.

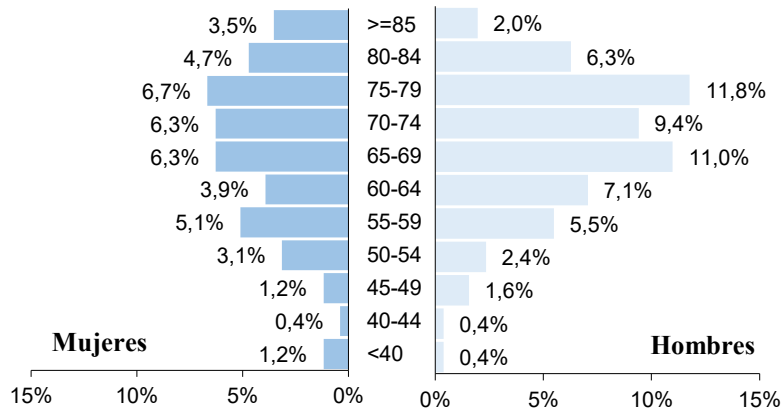
5.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA DE PACIENTES ANALIZADA

5.1.1 Características demográficas básicas

La Tabla 1 muestra un resumen de las principales características demográficas de los pacientes incluidos en el estudio. Se puede ver que la mayoría de los pacientes incluidos son hombres (57,6%), con una edad media al diagnóstico de 68,7 años. La Figura 1 muestra la pirámide poblacional de los pacientes incluidos en el estudio, donde se observa que excepto en la primera y última categoría, en el resto predomina la presencia de pacientes de sexo masculino.

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes incluidos en el estudio

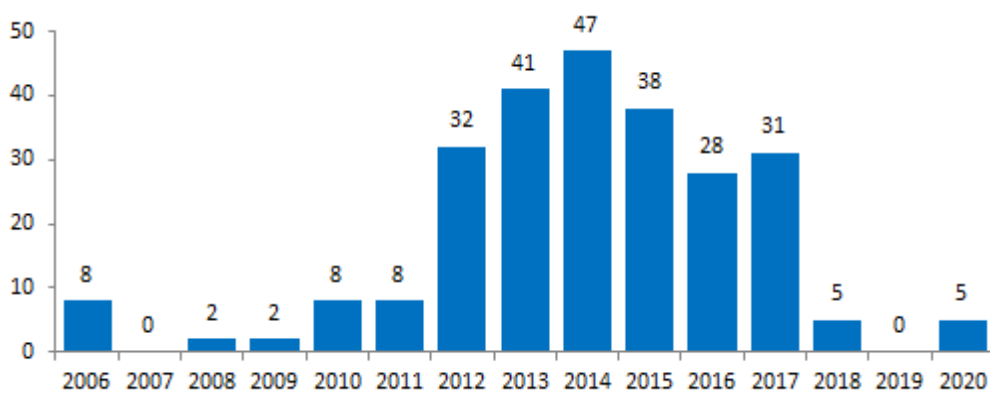
	N	%
Total	255	100,0%
Sexo		
Hombres	147	57,6%
Mujeres	108	42,4%
Edad al diagnóstico		
Media (DT)	68,7 (11,5)	
Mediana (Mín.-Máx.)	70 (18-92)	
Menos de 65 años	82	32,2%
65-74 años	84	32,9%
75 años o más	89	34,9%
Raza		
Caucásica	251	98,4%
Otra	4	1,6%



Gráfica 1. Pirámide poblacional de los pacientes incluidos en el estudio

5.1.2 Características clínico-patológicas al diagnóstico

Los pacientes incluidos en el estudio fueron diagnosticados de cáncer de colon o recto entre 2006 y 2020. En la Figura 2 se observa un diagrama de barras con la distribución del año de diagnóstico, donde se puede ver que la gran mayoría de pacientes incluidos en el estudio fueron diagnosticados en el periodo 2012-2017.

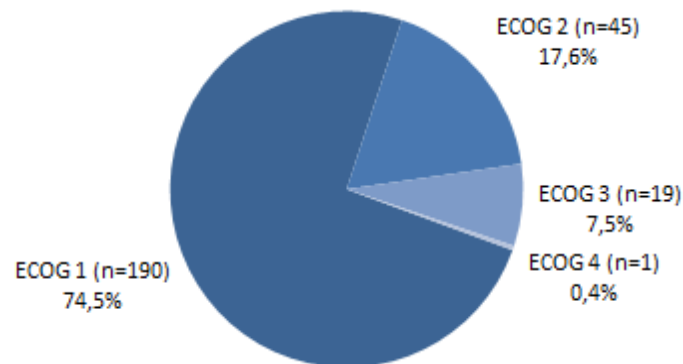


Gráfica 2. Distribución del año de diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio

La Tabla 2 muestra un resumen de las principales características diagnósticas de estos pacientes. Respecto a la valoración de la situación funcional de los pacientes oncológicos según la escala ECOG, la Figura 3 destaca que la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio presentan un valor igual a 1, con únicamente un paciente con una valoración al diagnóstico igual a 4. En la Tabla 2 se observa que más de la mitad de los pacientes presentaban pólipos al diagnóstico, y prácticamente el 90% presentaban síntomas clínicos relacionados con el cáncer colorrectal, donde el sangrado, la anemia, el dolor y la obstrucción intestinal fueron los síntomas más frecuentes.

Tabla 2. Características al diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio

	N	%		N	%
Total	255	100,0%	Total	255	100,0%
Año diagnóstico			Presencia de pólipos		
Antes de 2012	28	11,0%	No	122	47,8%
2012	32	12,5%	Sí	132	51,8%
2013	41	16,1%	No consta	1	0,4%
2014	47	18,4%	Clínica		
2015	38	14,9%	Sintomáticos	227	89,0%
2016	28	11,0%	Sangrado	86	33,7%
2017	31	12,2%	Anemia	61	23,9%
Después de 2017	10	3,9%	Dolor	40	15,7%
ECOG			Obstrucción intestinal	26	10,2%
1	190	74,5%	Alteración tránsito	13	5,1%
2	45	17,6%	Perforación intestinal	1	0,4%
3	19	7,5%	Asintomáticos	28	11,0%
4	1	0,4%	Cribado	28	11,0%



Gráfica 3. Distribución de la valoración ECOG al diagnóstico de los pacientes incluidos en el estudio

La Tabla 3 resume las principales características del cáncer colorrectal diagnosticado. Únicamente un 18,8% de los tumores primarios estaban localizados en el recto, mientras que un 44,3% estaban localizados en el colon derecho y un 36,9% en el colon izquierdo. También se muestra la histología tumoral, donde una gran parte de los tumores son de tipo convencional (35,5%), seguidos del tipo serrado (24,7%), cribiforme tipo comedo (16,5%), inestabilidad de microsatélites (16,5%) y por último mucinoso (7,8%). Respecto a la inestabilidad de microsatélites, un 18,2% de los pacientes evaluados presentan alteraciones en uno o más genes reparadores del ADN, siendo la alteración en el gen *MLH1* la más frecuente (37 pacientes), seguida de la *PMS2* (27), *MSH6* (6), *MSH2* (3) y *MLH2* (1).

Tabla 3. Características del tumor colorrectal diagnosticado en los pacientes incluidos en el estudio

	N	%		N	%
Total	255	100,0%	Total	255	100,0%
Localización tumoral			Histología		
Colon derecho	113	44,3%	Convencional	88	34,5%
Colon izquierdo	94	36,9%	Serrado	63	24,7%
Recto	48	18,8%	Cribiforme tipo comedo	42	16,5%
Grado de diferenciación			Inestabilidad microsatélites	42	16,5%
GX (Indeterminado)	1	0,4%	Mucinoso	20	7,8%
G1 (Bien diferenciado)	66	25,9%	Estado MSI		
G2 (Moderad. diferenciado)	160	62,7%	MSI-	207	81,2%
G3 (Pobrementemente diferenciado)	28	11,0%	MSI+	48	18,8%
Patrón de crecimiento tumoral			No consta	2	0,8%
No consta	5	2,0%	MLH1	13	5,1%
No aplicable	3	1,2%	PMS2	2	0,8%

Expansivo	150	58,8%	MSH6	3	1,2%
Infiltrativo	97	38,0%	MLH1, PMS2	24	9,4%
Tumor Budding			MLH2, PMS2	1	0,4%
No consta	7	2,7%	MSH2, MSH6	3	1,2%
No	99	38,8%			
Sí	149	58,4%			
< 10 focos	97	38,0%			
10-19 focos	34	13,3%			
>= 20 focos	18	7,1%			

La Tabla 4 muestra una descripción de las principales características del tumor colorrectal diagnosticado (localización tumoral, grado de diferenciación, estadio MSI, patrón de crecimiento tumoral y tumor tipo *tumor budding*) para cada uno de los grupos histológicos.

Tabla 4. Características del tumor colorrectal diagnosticado según grupo histológico

	Convencional	Cribiforme tipo comedo	Inestabilidad microsatélites	Mucinoso	Serrado
Total	88 (100,0%)	42 (100,0%)	42 (100,0%)	20 (100,0%)	63 (100,0%)
Localización tumoral					
Colon derecho	27 (30,7%)	12 (28,6%)	39 (92,8%)	7 (35,0%)	28 (44,4%)
Colon izquierdo	36 (40,9%)	25 (59,5%)	2 (4,8%)	8 (40,0%)	23 (36,5%)
Recto	25 (28,4%)	5 (11,9%)	1 (2,4%)	5 (25,0%)	12 (19,0%)
Grado diferenciación					
GX	1 (1,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
G1	11 (12,5%)	8 (19,0%)	4 (9,5%)	13 (65,0%)	30 (47,6%)
G2	76 (86,4%)	32 (76,2%)	18 (42,9%)	4 (20,0%)	30 (47,6%)
G3	0 (0,0%)	2 (4,8%)	20 (47,6%)	3 (15,0%)	3 (4,8%)
Estado MSI					
MSI-	88 (100%)	42 (100%)	0 (0,0%)	17 (85,0%)	60 (95,2%)
MSI+	0 (0,0%)	0 (0,0%)	42 (100%)	3 (15,0%)	3 (4,8%)
	Convencional	Cribiforme tipo comedo	Inestabilidad microsatélites	Mucinoso	Serrado
Patrón crec. tumoral					
No consta	5 (5,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
No aplicable	2 (2,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,6%)
Expansivo	42 (47,7%)	27 (64,3%)	35 (83,3%)	18 (90,0%)	28 (44,4%)
Infiltrativo	39 (44,3%)	15 (35,7%)	7 (16,7%)	2 (10,0%)	34 (54,0%)
Tumor Budding					
No consta	7 (8,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

No	28 (31,8%)	12 (28,6%)	34 (81,0%)	14 (70,0%)	11 (17,5%)
Sí	53 (60,2%)	30 (71,4%)	8 (19,0%)	6 (30,0%)	52 (82,5%)

La Figura 4 muestra el estadio clínico de estos pacientes. Se observa que se dispone de 3 pacientes (1,2%) con estadio 0, 25 (9,8%) con estadio I, 78 (30,6%) con estadio IIA, 10 (3,9%) con estadio IIB, 1 (0,4%) con estadio IIC, 4 (1,6%) con estadio IIIA, 59 (23,1%) con estadio IIIB, 26 (10,2%) con estadio IIIC y 49 (19,2%) con estadio IV. De los 49 pacientes que presentan metástasis al diagnóstico, 24 presentaron localización hepática, 17 peritoneal, 5 pulmonar y 3 ganglionar.

		NO	N1A	N1B	N1C	N2A	N2B	
M0	TIS	3						Estadio 0
M0	T1	9	1					Estadio I
M0	T2	16	2	1		2		Estadio IIA
M0	T3	78	13	22	4	10	7	Estadio IIB
M0	T4A	10	2	4	2	9	3	Estadio IIC
M0	T4B	1	1	1	1	2	2	Estadio IIIA
M1	T3	8	5	2	1	5	1	Estadio IIIB
M1	T4A	3		5	2	5	6	Estadio IIIC
M1	T4B	1	1	2			2	Estadio IV

Gráfica 4. Estadio clínico de los pacientes incluidos en el estudio

La Tabla 5 resume los resultados de los análisis de mutaciones en los genes *KRAS*, *NRAS* y *BRAF*. Se objetiva un mayor número de mutaciones en el gen *KRAS* (el 50,6% de los pacientes valorados), seguido del gen *NRAS* (13,5% de los valorados) y por último el *BRAF* (8,2% de los valorados).

Tabla 5. Pruebas de marcadores tumorales en los pacientes incluidos en el estudio

	N	%
Total	255	100,0%
Mutación del gen KRAS		
No mutado	121	47,5%
Mutado	124	48,6%
No consta	10	3,9%
Mutación del gen NRAS		
No mutado	212	83,1%
Mutado	33	12,9%
No consta	10	3,9%

Mutación del gen BRAF		
No mutado	225	88,2%
Mutado	20	7,8%
No consta	10	3,9%

5.1.3 Infiltración tumoral

Respecto a la infiltración tumoral, la Tabla 6 muestra un resumen de los diferentes tipos de infiltración registrados. La gran mayoría de pacientes presenta infiltración macrofágica que expresa la proteína CD14 (subtipo CD14+) (en el 88,7% de los pacientes en que se conoce esta característica) e infiltración macrofágica que expresa la proteína CD163 (subtipo CD163+) (en el 87,3% de los pacientes en que se conoce esta característica). También se resume la presencia de infiltración vascular (presente en un 15,5% de los pacientes evaluados), linfática (en el 31,9% de los evaluados) y perineural (en el 21,1% de los evaluados).

Tabla 6. Características de las infiltraciones analizadas en los pacientes incluidos en el estudio

	N	%		N	%
Total	255	100,0%	Total	255	100,0%
Infiltración macrofágica CD163+			Infiltración vascular		
No consta	97	38,0%	No consta	4	4,6%
No	20	7,8%	No	212	83,1%
Sí	138	54,1%	Sí	39	15,3%
No consta	2	0,8%	Infiltración linfática		
Solo forma redondeada	5	2,0%	No consta	4	4,6%
Solo forma fusiforme	70	27,5%	No	171	67,1%
Con ambas formas	61	23,9%	Sí	80	31,4%
Infiltración macrofágica CD14+			Infiltración perineural		
No consta	105	41,2%	No consta	4	4,6%
No	17	6,7%	No	198	77,6%
Sí	133	52,2%	Sí	53	20,8%
Solo forma redondeada	0	0,0%			
Solo forma fusiforme	66	25,9%			
Con ambas formas	67	26,3%			

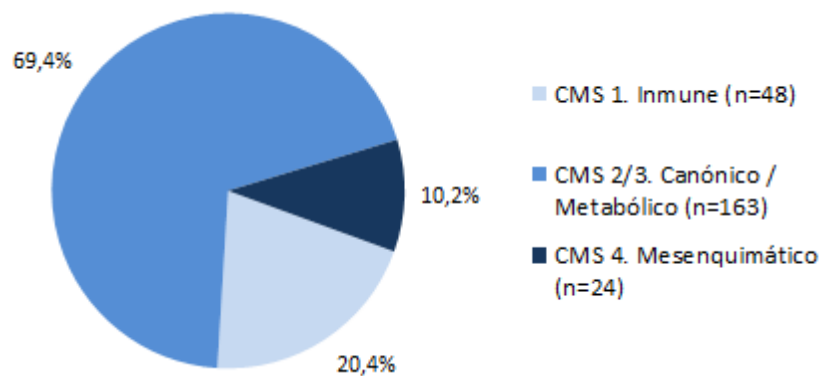
En la Tabla 7 se puede ver la relación entre el tipo de tinción y la forma de las infiltraciones macrofágicas en los pacientes respecto a los dos tipos de infiltraciones macrofágicas analizadas (subtipo CD163+ y subtipo CD14+).

Tabla 7. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas

Infiltración CD163+		Forma redonda				
		No tinción	Leve	Moderada	Intensa	No consta
Forma fusiforme	No tinción	20	3	2	0	0
	Leve	47	20	16	9	0
	Moderada	17	7	4	3	0
	Intensa	6	2	0	0	0
	No consta	0	1	1	0	97
Infiltración CD14+		Forma redonda				
		No tinción	Leve	Moderada	Intensa	No consta
Forma fusiforme	No tinción	17	0	0	0	0
	Leve	49	17	9	1	0
	Moderada	13	16	8	5	0
	Intensa	4	7	4	0	0
	No consta	0	0	0	0	105

5.1.4 Clasificación del subtipo molecular

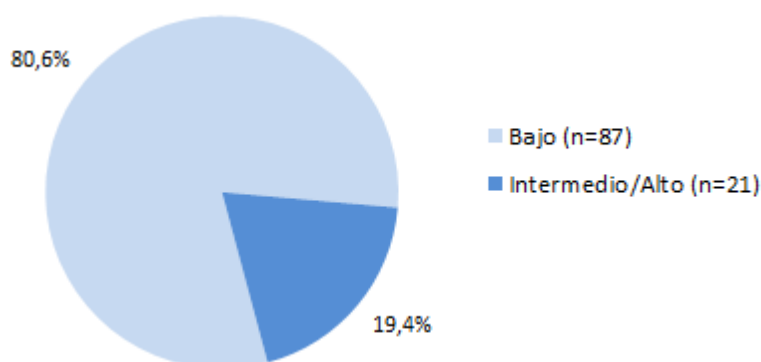
Se ha obtenido la clasificación del subtipo molecular (CMS) del cáncer colorrectal a partir de la información transcriptómica en 235 de los 255 pacientes incluidos en el estudio. La Figura 5 muestra la distribución de pacientes según esta clasificación, donde 48 pacientes fueron clasificados como CMS1 (un 20,4% de los evaluados), 163 fueron clasificados como CMS2-3 (un 69,4% de los evaluados) y 24 fueron clasificados como CMS4 (un 10,2% de los evaluados).



Gráfica 5. Subtipo molecular de los pacientes incluidos en el estudio con valoración

5.1.5 Clasificación Inmunoscore

Se ha obtenido también información de la clasificación de los pacientes según el sistema de evaluación inmunoscore (IS) en 108 de los 255 pacientes incluidos en el estudio. La Figura 6 muestra la distribución de pacientes según esta clasificación, donde 87 pacientes (80,6% de los pacientes evaluados) fueron clasificados con un nivel bajo y 21 (19,4% de los evaluados) fueron clasificados con un nivel medio/alto.



Gráfica 6. Clasificación Inmunoscore de los pacientes incluidos en el estudio con valoración

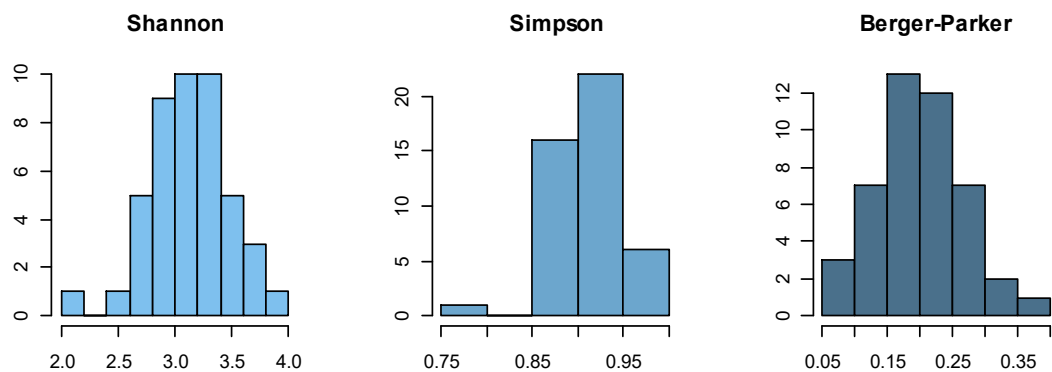
5.1.6 Estudio de la microbiota

En 45 de los 255 pacientes incluidos en el estudio se ha llevado a cabo un estudio de microbiota. En la Tabla 8 podemos ver que los géneros más abundantes observados fueron *Phocaeicola* (en 13 pacientes) y *Bacteroides* (en 10 pacientes). Se puede ver un resumen de los índices de diversidad de Shannon, Simpson y Berger-Parker en este grupo de pacientes analizados. La Figura 7 muestra la distribución de los índices de diversidad recogidos para los 45 pacientes en los que se ha llevado a cabo el estudio de la microbiota.

Tabla 8. Microbiota de los pacientes incluidos en el estudio con valoración

	Total		Total
Total	45 (100,0%)	Total	45 (100,0%)
Género más abundante		Índice de Shannon	

<i>Phocaeicola</i>	13 (28,9%)	Media (DT)	3,12 (0,35)
<i>Bacteroides</i>	10 (22,2%)	Mediana (P25-P75)	3,15 (2,87-3,32)
<i>Fusobacterium</i>	4 (8,9%)	Índice de Simpson	
<i>Prevotella</i>	4 (8,9%)	Media (DT)	0,910 (0,036)
<i>Salmonella</i>	4 (8,9%)	Mediana (P25-P75)	0,912 (0,894-0,931)
<i>Faecalibacterium</i>	3 (6,7%)	Índice de Berger-Parker	
<i>Parabacteroides</i>	2 (4,4%)	Media (DT)	0,201 (0,071)
<i>Porphyromonas</i>	2 (4,4%)	Mediana (P25-P75)	0,200 (0,162-0,243)
<i>Akkermansia</i>	1 (2,2%)		
<i>Bifidobacterium</i>	1 (2,2%)		
<i>Vescimonas</i>	1 (2,2%)		



Gráfica 7. Distribución de los índices de diversidad de los pacientes incluidos en el estudio

5.1.7 Tratamiento recibido

Respecto al tratamiento quirúrgico del cáncer colorrectal, la práctica totalidad (254 pacientes de los 255 analizados) recibieron cirugía. De los 254 pacientes operados, en 237 (93,3%) la cirugía tuvo intención curativa y únicamente en 17 (6,7%) tuvo intención paliativa. La Tabla 9 muestra un resumen del tiempo desde diagnóstico a cirugía, así como los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio. En los pacientes operados se observa un

tiempo medio de 1,68 meses desde el diagnóstico a la operación, con un valor medio de antígeno carcinoembrionario (CEA) fue de 8,66 ng/ml.

Tabla 9. Tratamiento quirúrgico del cáncer colorrectal en los pacientes incluidos en el estudio

	N	%
Total	255	100,0%
Recibieron tratamiento quirúrgico		
No	1	0,4%
Sí	254	99,6%
Intención		
Curativa	237	93,3%
Paliativa	17	6,7%
Tiempo (meses) desde diagnóstico		
Media (DT)	1,68	(2,55)
Mediana (Mín.-Máx.)	1,13	(0-27,50)
CEA preoperatorio (ng/ml)		
No consta	68	(26,8%)
Media (DT)	8,66	(27,47)
Mediana (P25-P75)	2,6	(1,1-5,8)

La Tabla 10 muestra la presencia de tratamiento de quimioterapia adyuvante en los pacientes incluidos en el estudio, donde se observa que algo menos de la mitad de los pacientes (un 40,8%) recibieron tratamiento de quimioterapia adyuvante. Se objetiva también que el tratamiento de quimioterapia adyuvante más frecuente es el de Xelox, seguido de Capecitabina y Folfox.

Tabla 10. Tratamiento adyuvante en los pacientes incluidos en el estudio

	N	%
Total	255	100,0%
Tratamiento quimioterapia adyuvante		
No	151	59,2%
Sí	104	40,8%
Xelox	84	32,9%

Capecitabina	12	4,7%
Folfox	8	3,1%

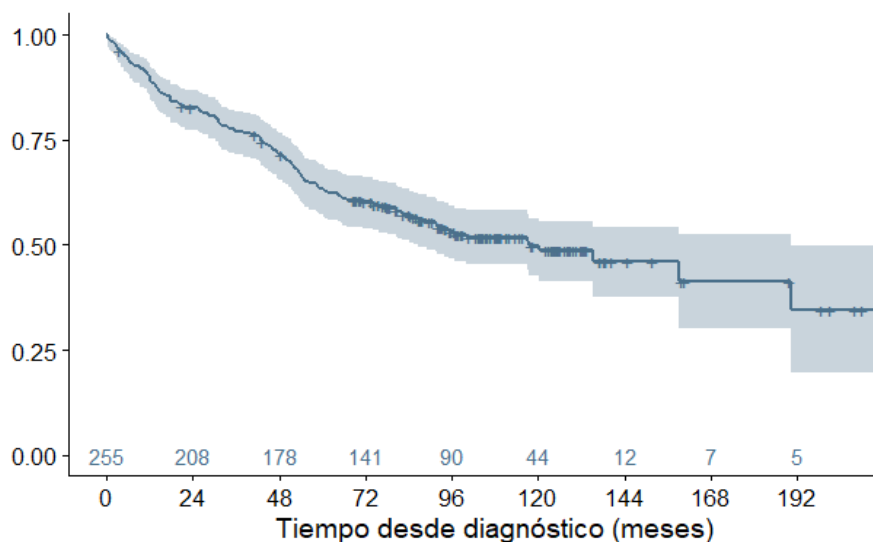
5.1.8 Supervivencia global

Todos los pacientes fueron seguidos, registrando la presencia de progresión y de muerte durante el seguimiento, con una mediana de seguimiento de 107,1 meses desde la fecha de diagnóstico.

A lo largo del seguimiento 122 pacientes (47,8%) fallecieron, mientras que 133 pacientes (52,2%) permanecían vivos al final del seguimiento. En la Tabla 11 se reflejan las causas de fallecimiento, siendo el propio cáncer colorrectal la causa más frecuente de fallecimiento (un 23,1% de los 255 pacientes analizados fallecen durante el seguimiento por esta causa).

Tabla 11. Causa de muerte de los pacientes que fallecen

	N	%
Total	255	100,0%
Estado última visita		
Vivos	133	52,2%
Exitus	122	47,8%
Cáncer	59	23,1%
Infección	34	13,3%
Accidente cardiovascular	11	4,3%
Otra neoplasia	6	2,4%
Ictus	4	1,6%
Cirrosis	1	0,4%
Linfoma	1	0,4%
No consta	6	2,4%



Gráfica 8. Supervivencia global estimada de los pacientes incluidos en el estudio

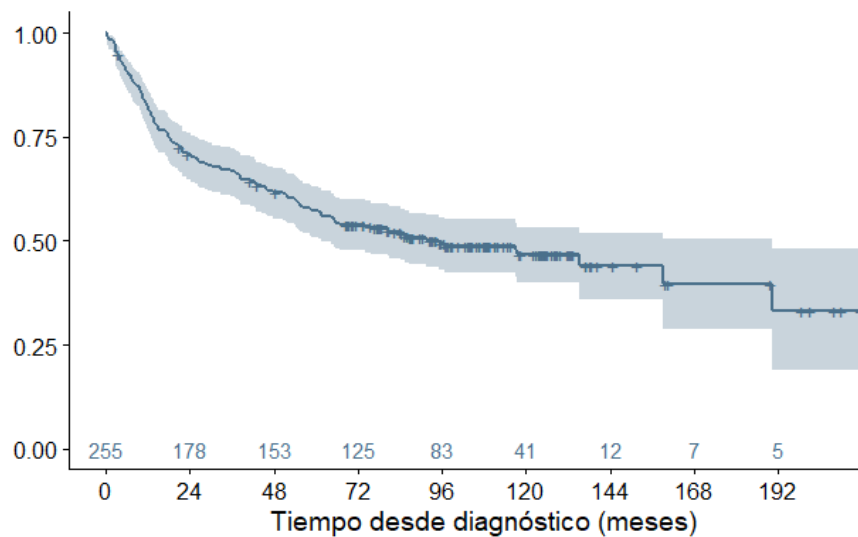
La Figura 8 muestra la curva de supervivencia global estimada de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier. Se obtiene una mediana de supervivencia global estimada de 117,6 meses (IC95% 86,6-190,5 meses). En la figura se muestra una banda que representa el intervalo de confianza al 95% para esta estimación, así como el número de pacientes en riesgo para diferentes horizontes temporales. Se obtiene una supervivencia estimada del 89,4% a los 12 meses (IC95% 84,9-92,6%), del 82,7% a los 24 meses (IC95% 77,4-86,8%) y del 63,4% a los 60 meses (IC95% 57,1-69,1%).

5.1.9 Supervivencia libre de progresión

También se ha registrado la progresión de los pacientes durante el seguimiento, con 70 pacientes (27,5%) que progresaron durante ese tiempo. De ellos, 23 (9,0%) presentaban metástasis hepática, 21 (8,2%) peritoneal, 16 (6,3%) pulmonar, 5 (2,0%) ganglionar y 5 (2,0%) ósea.

La Figura 9 muestra la curva de supervivencia libre de progresión estimada de este tipo de pacientes, donde se ha considerado la progresión y el fallecimiento como eventos. Se refleja una mediana de supervivencia libre de progresión durante el seguimiento estimada de 95,3 meses (IC95% 61,5-190,5 meses), con una supervivencia libre de progresión estimada del 81,5% a los 12

meses (IC95% 76,2-85,8%), del 70,9% a los 24 meses (IC95% 64,9-76,0%) y del 57,2% a los 60 meses (IC95% 50,9-63,1%).



Gráfica 9. Supervivencia libre de progresión estimada de los pacientes incluidos en el estudio

5.2. RELACIÓN CON LOS SUBTIPOS MOLECULARES

Como se ha visto anteriormente, se ha obtenido la clasificación del subtipo molecular (CMS) del cáncer colorrectal a partir de la información inmunohistoquímica en 235 de los 255 pacientes incluidos en el estudio. Como se refleja en la Figura 5, 48 pacientes fueron clasificados como CMS 1, 163 como CMS 2-3 y 24 como CMS 4.

Se ha analizado las diferencias existentes entre estos grupos de clasificación con las características demográficas básicas, las características clínico-patológicas al diagnóstico, la infiltración tumoral, la clasificación inmunoscore, la microbiota, el tratamiento recibido, así como con la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión. En esta comparación únicamente se va a considerar los 235 pacientes en los que se conoce la clasificación del subtipo molecular. Hay que tener en cuenta el fuerte desequilibrio en el número de sujetos en cada grupo, con alguno de ellos con un reducido número de sujetos, lo que dará lugar a estimaciones de baja precisión y por tanto contrastes de baja

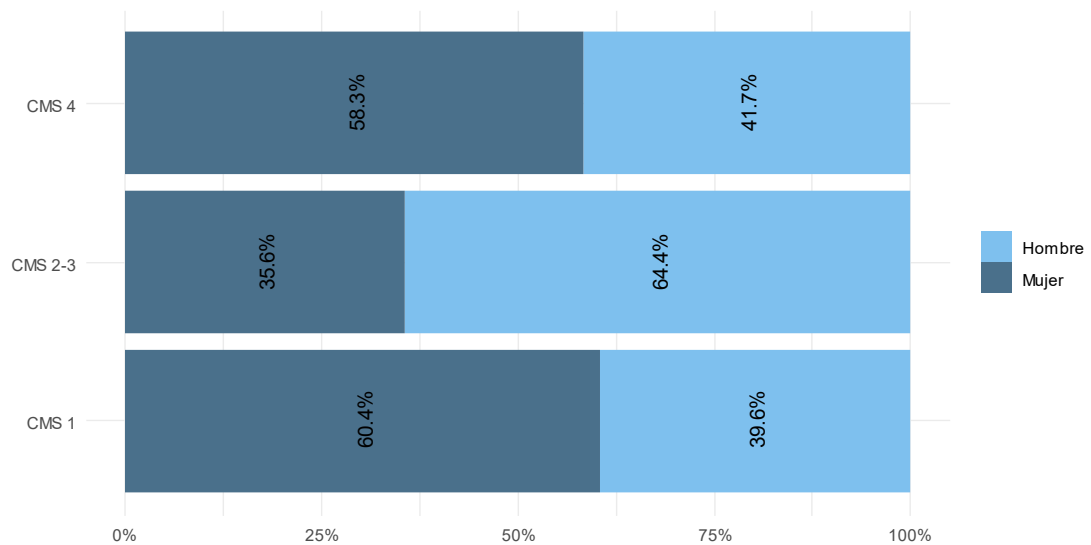
potencia en los que será menos probable detectar diferencias significativas entre grupos.

5.2.1. Relación con las características demográficas básicas

La Tabla 12 muestra una comparación de las principales características demográficas según su clasificación CMS. Se observa que el número de hombres es significativamente mayor ($p = 0,003$) en el grupo de CMS 2-3, mientras que es menor en los grupos de CMS 1 y CMS 4. No se observan diferencias en la edad de los pacientes de los grupos definidos ($p = 0,424$). La Figura 10 muestra la distribución por sexo de cada uno de los grupos definidos por la clasificación CMS.

Tabla 12. Características demográficas básicas según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Sexo					0,003
	134		105		
Hombres	(57,0%)	19 (39,6%)	(64,4%)	10 (41,7%)	
	101				
Mujeres	(43,0%)	29 (60,4%)	58 (35,6%)	14 (58,3%)	
Edad al diagnóstico					0,424
Media (DT)	68,9 (11,6)	70,7 (11,7)	68,4 (11,1)	68,7 (14,8)	
Mediana (Mín.-Máx.)	70 (18-92)	72 (34-90)	70 (29-92)	70 (18-88)	
Menos de 65 años	74 (31,5%)	12 (25,0%)	56 (34,4%)	6 (25,0%)	
65-74 años	77 (32,8%)	15 (31,3%)	52 (31,9%)	10 (41,7%)	
75 años o más	84 (35,7%)	21 (43,8%)	55 (33,7%)	8 (33,3%)	



Gráfica 10. Distribución de los pacientes por sexo según clasificación CMS

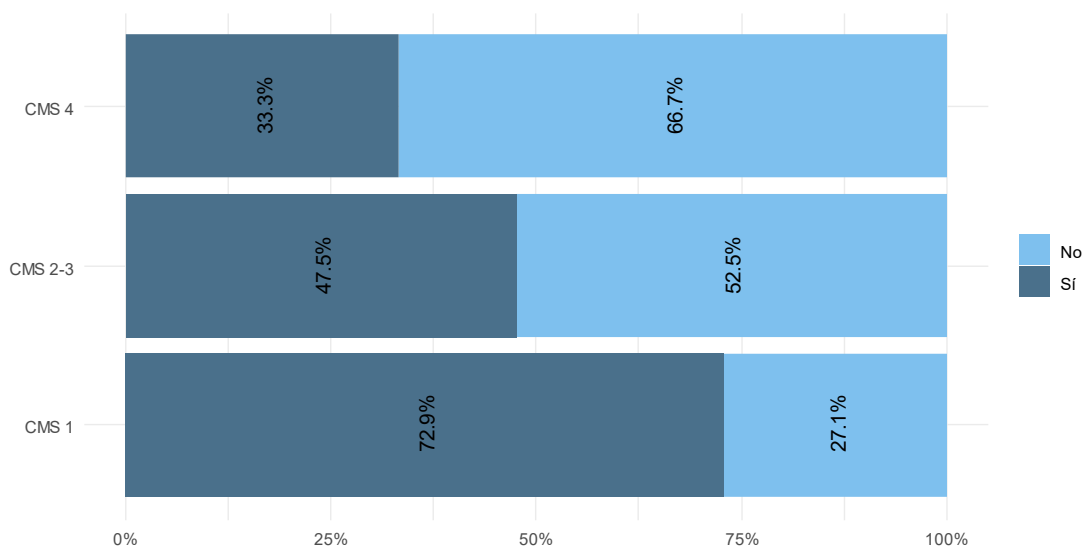
5.2.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico

La Tabla 13 muestra la relación de algunas características clínicas al diagnóstico de los pacientes con su clasificación CMS. Se puede ver que la distribución según año de diagnóstico ($p = 0,171$), ECOG ($p = 0,862$) y presentación clínica ($p = 0,313$) es similar en los tres grupos definidos, mientras que la presencia de pólipos presenta diferencias significativas ($p = 0,002$) con una mayor presencia en el grupo de pacientes con CMS 1 y una menor presencia a medida que crece el nivel. La Figura 11 muestra la distribución de pacientes según presencia de pólipos para cada uno de los tres grupos considerados.

Tabla 13. Características al diagnóstico según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Año diagnóstico					0,171
Antes de 2013	60 (25,5%)	18 (37,5%)	37 (22,7%)	5 (20,8%)	
2013-2016	137 (58,3%)	21 (43,8%)	102 (62,6%)	14 (58,3%)	
Después de 2016	38 (16,2%)	9 (18,8%)	24 (14,7%)	5 (20,8%)	
	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
ECOG					0,862
1	173 (73,6%)	34 (70,8%)	123 (75,5%)	16 (66,7%)	
2	42 (17,9%)	10 (20,8%)	27 (16,6%)	5 (20,8%)	
≥3	20 (8,5%)	4 (8,3%)	13 (8,0%)	3 (12,5%)	
Presencia de pólipos					0,002

No	114 (48,7%)	13 (27,1%)	85 (52,5%)	16 (66,7%)	0,313
Sí	120 (51,3%)	35 (72,9%)	77 (47,5%)	8 (33,3%)	
Clínica					
Sintomáticos	210 (89,4%)	40 (83,3%)	148 (90,8%)	22 (91,7%)	
Asintomáticos	25 (10,6%)	8 (16,7%)	15 (9,2%)	2 (8,3%)	



Gráfica 11. Distribución de los pacientes por presencia de pólipos según clasificación CMS

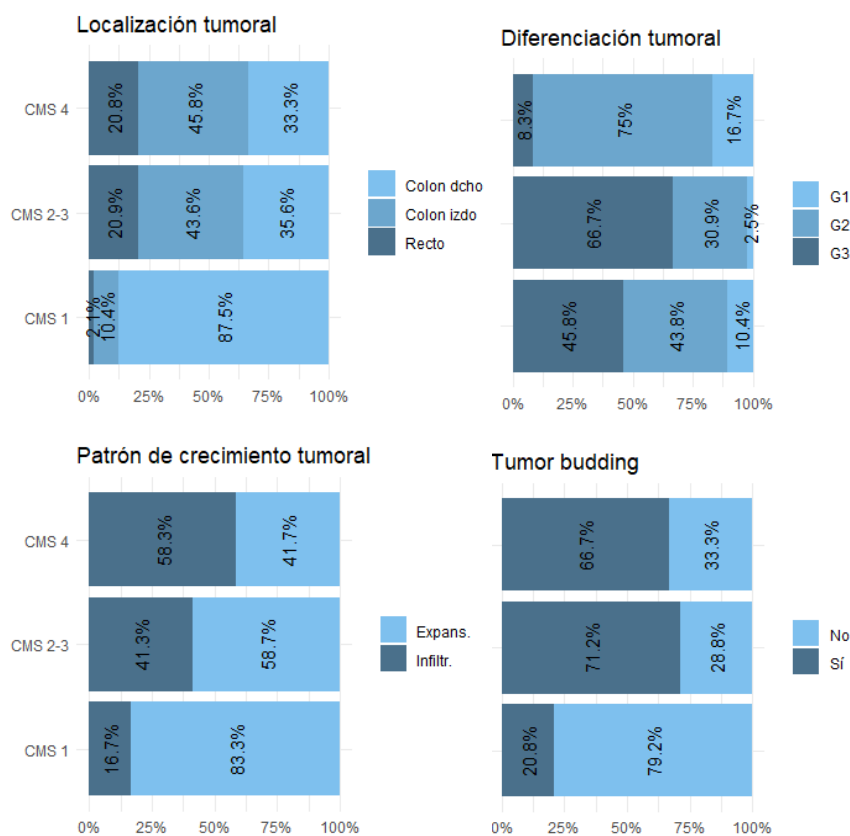
La Tabla 14 muestra las características de los tumores colorrectales diagnosticados según la clasificación CMS de los pacientes. Todas están significativamente relacionadas, con algunas incluso involucradas en la propia definición de los grupos. La Figuras 12 muestra gráficamente la distribución de pacientes para estas características según su clasificación CMS, donde se puede ver que los pacientes con CMS 1 tienen un patrón bastante diferente a los de los otros dos grupos.

Tabla 14. Características del tumor colorrectal diagnosticado según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Localización tumoral					<0,001
Colon derecho	108 (46,0%)	42 (87,5%)	58 (35,6%)	8 (33,3%)	
Colon izquierdo	87 (37,0%)	5 (10,4%)	71 (43,6%)	11 (45,8%)	
Recto	40 (17,0%)	1 (2,1%)	34 (20,9%)	5 (20,8%)	
Grado de diferenciación					<0,001

G1	59 (25,2%)	5 (10,4%)	50 (30,9%)	4 (16,7%)	
G2	147 (62,8%)	21 (43,8%)	108 (66,7%)	18 (75,0%)	
G3	28 (12,0%)	22 (45,8%)	4 (2,5%)	2 (8,3%)	
Patrón de crecimiento tumoral					0,001
Expansivo	141 (62,1%)	40 (83,3%)	91 (58,7%)	10 (41,7%)	
Infiltrativo	86 (37,9%)	8 (16,7%)	64 (41,3%)	14 (58,3%)	
Tumor Budding					<0,001
No	91 (39,9%)	38 (79,2%)	45 (28,8%)	8 (33,3%)	
Sí	137 (60,1%)	10 (20,8%)	111 (71,2%)	16 (66,7%)	

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Histología					-
Convencional	82 (34,9%)	0 (0,0%)	74 (45,4%)	8 (33,3%)	
Serrado	55 (23,4%)	3 (6,3%)	48 (29,4%)	4 (16,7%)	
Cribiforme tipo comedo	38 (16,2%)	0 (0,0%)	31 (19,0%)	7 (29,2%)	
Inestabilidad microsatélites	42 (17,9%)	42 (87,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Mucinoso	18 (7,7%)	3 (6,3%)	10 (6,1%)	5 (20,8%)	
Estado MSI					<0,001
MSI-	187 (79,6%)	0 (0,0%)	163 (100%)	24 (100%)	
MSI+	48 (20,4%)	48 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	



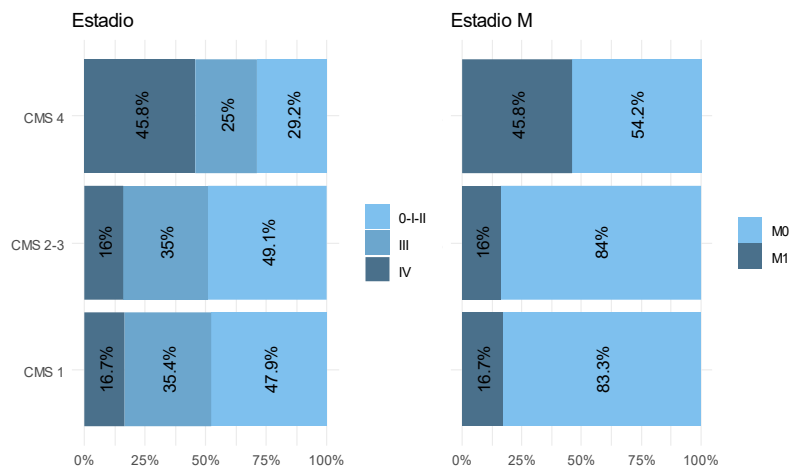
Gráfica 12. Distribución de las características del tumor colorrectal según clasificación CMS

La Tabla 15 muestra el estadiaje del tumor colorrectal diagnosticados según la clasificación CMS de los pacientes. Aunque no existen diferencias significativas en la clasificación del estadio T y N, si se observa un mayor porcentaje de tumores metastásicos en el grupo CMS 4 y por tanto un mayor porcentaje de tumores clasificados como estadio IV. En la Figura 13 se observa gráficamente esta diferenciación entre los tres grupos.

Tabla 15. Estadio clínico según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Estadio					0,014
0-I-II	110 (46,8%)	23 (47,9%)	80 (49,1%)	7 (29,2%)	
III	80 (34,0%)	17 (35,4%)	57 (35,0%)	6 (25,0%)	

IV	45 (19,1%)	8 (16,7%)	26 (16,0%)	11 (45,8%)	
Estadio T					0,641
Tis-T1-T2	28 (11,9%)	4 (8,3%)	22 (13,5%)	2 (8,3%)	
T3	148 (63,0%)	30 (62,5%)	104 (63,8%)	14 (58,3%)	
T4	59 (25,1%)	14 (29,2%)	37 (22,7%)	8 (33,3%)	
Estadio N					0,290
N0	122 (51,9%)	24 (50,0%)	88 (54,0%)	10 (41,7%)	
N1	66 (28,1%)	10 (20,8%)	47 (28,8%)	9 (37,5%)	
N2	47 (20,0%)	14 (29,2%)	28 (17,2%)	5 (20,8%)	
Estadio M					0,002
M0	190 (80,9%)	40 (83,3%)	137 (84,0%)	13 (54,2%)	
M1	45 (19,1%)	8 (16,7%)	26 (16,0%)	11 (45,8%)	



Gráfica 13. Distribución del estadio clínico de los pacientes según clasificación CMS

La Tabla 16 muestra el resultado de las pruebas de mutaciones de *Ras* y *BRAF* según la clasificación CMS de los pacientes. Se objetiva que los pacientes del grupo CMS1 presentan un porcentaje significativamente mayor ($p < 0,001$) de pacientes con mutación del gen *BRAF* que el resto de los grupos.

Tabla 16. Mutaciones del *Ras* y *BRAF* según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Mutación del gen KRAS					0,120
No mutado	116 (50,4%)	29 (64,4%)	76 (47,2%)	11 (45,8%)	
Mutado	114 (49,6%)	16 (35,6%)	85 (52,8%)	13 (54,2%)	
Mutación del gen NRAS					0,869

No mutado	199 (86,5%)	40 (88,9%)	138 (85,7%)	21 (87,5%)	
Mutado	31 (13,5%)	5 (11,1%)	23 (14,3%)	3 (12,5%)	
Mutación del gen BRAF					<0,001
No mutado	210 (91,3%)	32 (71,1%)	155 (96,3%)	23 (95,8%)	
Mutado	20 (8,7%)	13 (28,9%)	6 (3,7%)	1 (4,2%)	

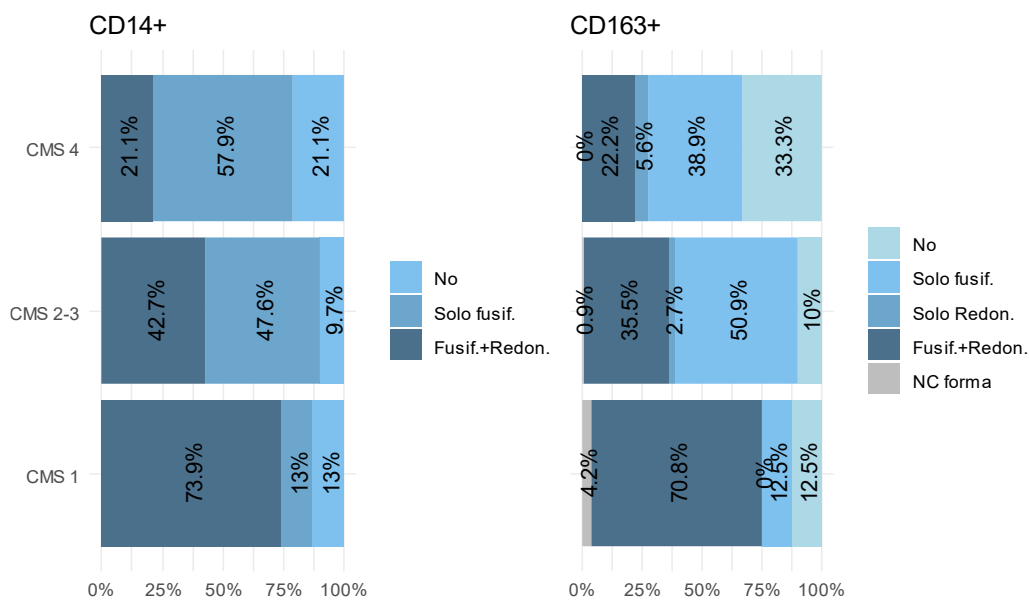
5.2.3 Relación con la infiltración tumoral

La Tabla 17 muestra la infiltración tumoral observada según la clasificación CMS de los pacientes. Respecto a la infiltración macrofágica CD14+, el porcentaje de pacientes con infiltración únicamente fusiforme se incrementa a medida que aumenta el número de CMS, mientras que por el contrario disminuye el porcentaje de pacientes con infiltración de ambas formas. Esto mismo ocurre respecto a la infiltración macrofágica CD163+, aunque aquí el porcentaje de pacientes con infiltración solo fusiforme es mayor en los pacientes CMS 2-3. En la infiltración macrofágica CD163+ también se observa un importante incremento en el porcentaje de pacientes sin infiltración en los pacientes CMS 4. Todas estas diferencias en la forma de las infiltraciones macrofágicas se muestran gráficamente en la Figura 14. En la Tabla 18 se refleja la tinción de cada forma para cada tipo de infiltración macrofágica.

Tabla 17. Características de las infiltraciones analizadas según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)	
Infiltración vascular					0,503
No	193 (83,5%)	38 (79,2%)	136 (85,5%)	19 (79,2%)	
Sí	38 (16,5%)	10 (20,8%)	23 (14,5%)	5 (20,8%)	
Infiltración linfática					0,251
No	156 (67,5%)	31 (64,6%)	112 (70,4%)	13 (54,2%)	
Sí	75 (32,5%)	17 (35,4%)	47 (29,6%)	11 (45,8%)	
Infiltración perineural					0,792
No	182 (78,8%)	37 (77,1%)	127 (79,9%)	18 (75,0%)	
Sí	49 (21,2%)	11 (22,9%)	32 (20,1%)	6 (25,0%)	
Infiltración macrofágica CD14+					0,005
No	17 (11,7%)	3 (13,0%)	10 (9,7%)	4 (21,1%)	
Solo forma fusiforme	63 (43,4%)	3 (13,0%)	49 (47,6%)	11 (57,9%)	
Forma fusiforme y redondeada	65 (44,8%)	17 (73,9%)	44 (42,7%)	4 (21,1%)	

Infiltración macrofágica CD163+		0,005			
No	20 (13,2%)	3 (12,5%)	11 (10,0%)	6 (33,3%)	
Solo forma fusiforme	66 (43,4%)	3 (12,5%)	56 (50,9%)	7 (38,9%)	
Solo forma redondeada	4 (2,6%)	0 (0,0%)	3 (2,7%)	1 (5,6%)	
Forma fusiforme y redondeada	60 (39,5%)	17 (70,8%)	39 (35,5%)	4 (22,2%)	
Sí pero no consta la forma	2 (1,3%)	1 (4,2%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	



Gráfica 14. Distribución de la Infiltración macrofágica de los pacientes según clasificación CMS

Tabla 18. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas según clasificación CMS

Infiltración CD14+		Forma redonda					
		No tinción	Leve	Moderada	Intensa	No consta	
CMS 1	Forma fusiforme	No tinción	3	0	0	0	0
		Leve	2	4	2	0	0
		Moderada	0	3	3	2	0
		Intensa	1	2	1	0	0
		No consta	0	0	0	0	25
CMS 2-3	Forma fusiforme	No tinción	10	0	0	0	0
		Leve	35	11	4	1	0
		Moderada	11	12	5	3	0
		Intensa	3	5	3	0	0

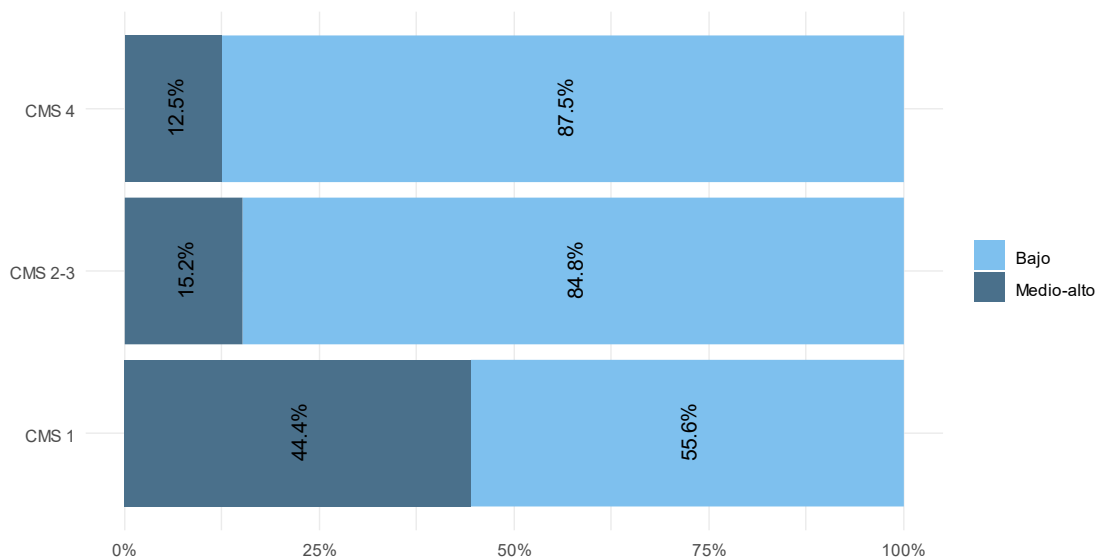
	No consta	0	0	0	0	60
CMS 4						
Forma fusiforme	No tinción	4	0	0	0	0
	Leve	9	1	2	0	0
	Moderada	2	1	0	0	0
	Intensa	0	0	0	0	0
	No consta	0	0	0	0	5
Infiltración CD163+						
CMS 1						
Forma fusiforme	No tinción	0	0	0	0	0
	Leve	3	6	6	3	0
	Moderada	2	1	1	0	0
	Intensa	1	0	0	0	0
	No consta	0	0	1	0	24
CMS 2-3						
Forma fusiforme	No tinción	11	2	1	0	0
	Leve	42	11	10	6	0
	Moderada	10	5	3	3	0
	Intensa	4	1	0	0	0
	No consta	0	1	0	0	53
CMS 4						
Forma fusiforme	No tinción	6	1	0	0	0
	Leve	3	2	0	0	0
	Moderada	3	1	0	0	0
	Intensa	1	1	0	0	0
	No consta	0	0	0	0	6

5.2.4 Relación con la clasificación Inmunoscore

La Tabla 19 muestra la relación de la clasificación inmunoscore de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según la clasificación. Aunque existe una relación estadísticamente significativa ($p = 0,018$), con un mayor porcentaje de pacientes con valores medios-altos en el grupo CMS1 respecto a los otros grupos, hay que tener en cuenta el reducido número de pacientes en los que se ha observado esta característica (106 de los 235 incluidos en el estudio con clasificación CMS) y el reducido número de pacientes en algunos de los grupos de clasificación CMS (por ejemplo, se obtiene únicamente 8 pacientes del grupo CMS 4 clasificado según inmunoscore). La Figura 15 muestra la distribución de esta característica en cada uno de los grupos.

Tabla 19. Clasificación Inmunoscore según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Total	106 (100%)	18 (100%)	79 (100%)	8 (100%)	
Inmunoscore					0,018
Bajo	85 (80,2%)	10 (55,6%)	67 (84,8%)	7 (87,5%)	
Medio-Alto	21 (19,8%)	8 (44,4%)	12 (15,2%)	1 (12,5%)	



Gráfica 15. Distribución de la clasificación Inmunoscore de los pacientes según clasificación CMS

La Tabla 20 muestra la distribución del inmunoscore según clasificación CMS para cada tipo histológico.

Tabla 20. Clasificación Inmunoscore según clasificación CMS y tipo histológico

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4
Convencional	38 (100%)	-	36 (100%)	2 (100%)
Inmunoscore Bajo	32 (84,2%)	-	30 (83,3%)	2 (100%)
Inmunoscore Medio-Alto	6 (15,8%)	-	6 (16,7%)	0 (0,0%)
Serrado	28 (100%)	-	26 (100%)	2 (100%)
Inmunoscore Bajo	26 (92,9%)	-	24 (92,3%)	2 (100%)
Inmunoscore Medio-Alto	2 (7,1%)	-	2 (7,7%)	0 (0,0%)
Cribiforme tipo comedo	14 (100%)	-	13 (100%)	1 (100%)

Inmunoscore Bajo	10 (71,4%)	-	9 (69,2%)	1 (100%)
Inmunoscore Medio-Alto	4 (28,6%)	-	4 (30,8%)	0 (0,0%)
Mucinoso	8 (100%)	-	4 (100%)	4 (100%)
Inmunoscore Bajo	7 (87,5%)	-	4 (100%)	3 (75,0%)
Inmunoscore Medio-Alto	1 (12,5%)	-	0 (0,0%)	1 (25,0%)
Inestabilidad microsatélites	18 (100%)	18 (100%)	-	-
Inmunoscore Bajo	10 (55,6%)	10 (55,6%)	-	-
Inmunoscore Medio-Alto	8 (44,4%)	8 (44,4%)	-	-

5.2.5 Relación con la microbiota

Se ha llevado a cabo un estudio de microbiota en 41 de los 235 pacientes incluidos en el estudio con clasificación CMS. La Tabla 21 muestra el género más abundantes y un resumen de los índices de diversidad de Shannon, Simpson y Berger-Parker para los tres grupos de pacientes definidos por la clasificación CMS. Debido al reducido número de sujetos analizados, no se ha analizado la significación estadística.

Tabla 21. Microbiota de los pacientes según clasificación CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4
Total	41 (100%)	10 (100%)	30 (100%)	1 (100%)
Género más abundante				
<i>Phocaicola</i>	12 (29,3%)	4 (40,0%)	8 (26,7%)	0 (0,0%)
<i>Bacteroides</i>	9 (22,0%)	3 (30,0%)	6 (20,0%)	0 (0,0%)
<i>Fusobacterium</i>	3 (7,3%)	0 (0,0%)	3 (10,0%)	0 (0,0%)
<i>Prevotella</i>	3 (7,3%)	1 (10,0%)	2 (6,7%)	0 (0,0%)
<i>Salmonella</i>	4 (9,8%)	1 (10,0%)	2 (6,7%)	1 (100,0%)
<i>Faecalibacterium</i>	3 (7,3%)	0 (0,0%)	3 (10,0%)	0 (0,0%)
<i>Parabacteroides</i>	2 (4,9%)	0 (0,0%)	2 (6,7%)	0 (0,0%)
<i>Porphyromonas</i>	2 (4,9%)	0 (0,0%)	2 (6,7%)	0 (0,0%)
<i>Akkermansia</i>	1 (2,4%)	1 (10,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Bifidobacterium</i>	1 (2,4%)	0 (0,0%)	1 (3,3%)	0 (0,0%)
<i>Vescimonas</i>	1 (2,4%)	0 (0,0%)	1 (3,3%)	0 (0,0%)
Índice de Shannon				
Media (DT)	3,13 (0,36)	3,10 (0,39)	3,15 (0,35)	2,78 (-)
Mediana (P25-P75)	3,15 (2,87-3,32)	3,19 (2,95-3,27)	3,16 (2,87-3,34)	2,78 (-)
Índice de Simpson				
Media (DT)	0,912 (0,035)	0,907 (0,053)	0,914 (0,029)	0,894 (-)
Mediana (P25-P75)	0,914 (0,896-	0,921 (0,899-0,933)	0,914 (0,895-0,929)	0,894 (-)
Índice de Berger-Parker				
Media (DT)	0,195 (0,066)	0,206 (0,089)	0,191 (0,059)	0,218 (-)
Mediana (P25-P75)	0,198 (0,162-	0,201 (0,161-0,243)	0,182 (0,163-0,233)	0,218 (-)

5.2.6 Relación con el tratamiento recibido

La Tabla 22 muestra un resumen de la intención de la cirugía, del tiempo desde diagnóstico a cirugía y de los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio en los pacientes que recibieron cirugía (234 de los 235 con clasificación CMS) según el grupo CMS al que pertenecen los pacientes. No hay diferencias en los aspectos considerados respecto al tratamiento quirúrgico recibido entre los tres grupos de pacientes.

Tabla 22. Tratamiento quirúrgico y adyuvante según grupo CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Con cirugía	234 (100%)	48 (100%)	162 (100%)	24 (100%)	
Intención					0,335
Curativa	219 (93,6%)	43 (89,6%)	154 (95,1%)	22 (91,7%)	
Paliativa	15 (6,4%)	5 (10,4%)	8 (4,9%)	2 (8,3%)	
Tiempo (meses) desde diag.					0,790
Media (DT)	1,53 (2,40)	1,27 (1,06)	1,62 (2,75)	1,48 (1,64)	
Mediana (Mín.-Máx.)	1,03 (0,0-27,5)	1,17 (0,0-6,4)	1,00 (0,0-27,5)	1,15 (0,0-6,7)	
CEA preoperatorio					0,893
No consta	63 (26,8%)	13 (27,1%)	44 (27,0%)	6 (25,0%)	
Media (DT)	7,52 (22,9)	11,2 (36,0)	6,9 (19,3)	4,4 (6,4)	
Mediana (P25-P75)	2,6 (0,5-214)	2,8 (0,5-214)	2,4 (0,5-195)	2,9 (0,5-29)	

La Tabla 23 muestra un resumen del tratamiento de quimioterapia adyuvante en cada uno de los grupos considerados, siendo el porcentaje de pacientes con este tipo de tratamiento muy similar en los tres grupos, al igual que el tipo de tratamiento recibido.

Tabla 23. Tratamiento quirúrgico y adyuvante según grupo CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4	<i>p</i>
Quimioterapia adyuvante					0,933
No	142 (60,4%)	28 (58,3%)	99 (60,7%)	15 (62,5%)	
Sí	93 (39,6%)	20 (41,7%)	64 (39,3%)	9 (37,5%)	
Xelox	74 (31,5%)	16 (33,3%)	50 (30,7%)	8 (33,3%)	
Capecitabina	11 (4,7%)	3 (6,3%)	8 (4,9%)	0 (0,0%)	
Folfox	8 (3,4%)	1 (2,1%)	6 (3,7%)	1 (4,2%)	

5.2.7 Relación con la supervivencia global

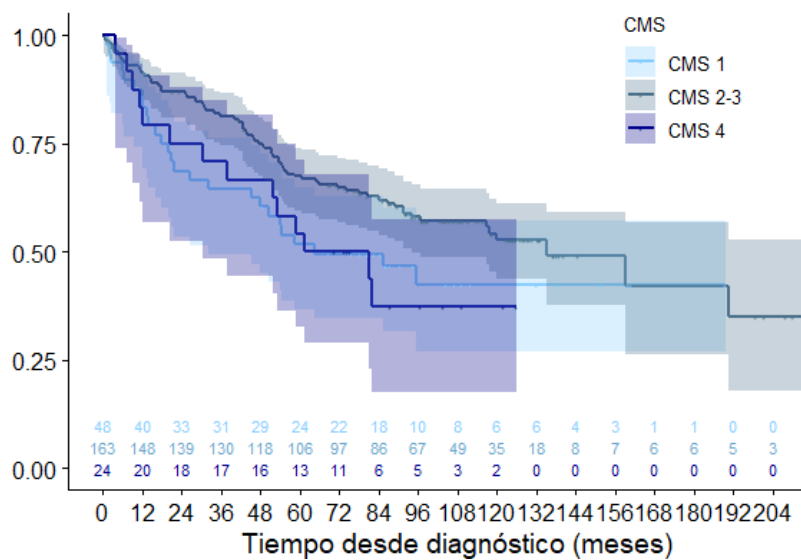
La Tabla 24 resume el estado de los pacientes al final del seguimiento del estudio, describiendo las causas de fallecimiento en aquellos que fallecen durante el mismo.

Tabla 24. Estado en la última visita según grupo CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)
Estado última visita				
Vivos	123 (52,3%)	22 (45,8%)	91 (55,8%)	10 (41,7%)
Exitus	112 (47,7%)	26 (54,2%)	72 (44,2%)	14 (58,3%)
Cáncer	54 (23,0%)	13 (27,1%)	33 (20,2%)	8 (33,3%)
Infección	32 (13,6%)	4 (8,3%)	24 (14,7%)	4 (16,7%)
Acc. cardiovascular	10 (4,3%)	4 (8,3%)	6 (3,7%)	0 (0,0%)
Otra neoplasia	4 (1,7%)	2 (4,2%)	2 (1,2%)	0 (0,0%)
Ictus	4 (1,7%)	0 (0,0%)	3 (1,8%)	1 (4,2%)
Cirrosis	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)
Linfoma	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)
No consta	6 (2,6%)	3 (6,3%)	2 (1,2%)	1 (4,2%)

La Figura 16 muestra las curvas de supervivencia global estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos CMS, junto con una banda que denota el intervalo de confianza al 95% y el número de pacientes en riesgo para diferentes horizontes temporales. Las bandas son muy anchas, en especial en los grupos CMS1 y CMS 4, debido al reducido número de sujetos analizado, lo que provoca estimaciones de poca precisión. La supervivencia del grupo CMS 2-3 es superior a la de los otros dos grupos, con diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,043$) que prima la parte inicial de las curvas de supervivencia donde tenemos más sujetos en los tres grupos, y con diferencias que rozan la significación estadística al aplicar la prueba Log-Rank ($p = 0,086$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,053$). Se obtiene una mediana de supervivencia global estimada de 64,5 meses para los pacientes clasificados como CMS 1, de 135,1 meses para los clasificados como CMS 2-3, y de 71,2 meses para los clasificados como CMS 4. En los pacientes del grupo CMS 1 se obtiene una supervivencia estimada del 91,7% (IC95% 79,3-96,8%) a los 6 meses, del 83,3% (IC95% 69,4-91,3%) a los 12 meses, del 68,7% (IC95% 53,6-79,8%) a los 24 meses y del 51,8% (IC95% 36,8-64,8%) a los 60 meses.

En los pacientes del grupo CMS 2-3 se objetiva una supervivencia estimada del 94,5% (IC95% 89,6-97,1%) a los 6 meses, del 91,4% (IC95% 85,9-94,8%) a los 12 meses, del 87,1% (IC95% 80,8-91,4%) a los 24 meses y del 67,4% (IC95% 59,6-74,1%) a los 60 meses. En los pacientes del grupo CMS 4 se obtiene una supervivencia estimada del 95,8% (IC95% 73,9-99,4%) a los 6 meses, del 83,3% (IC95% 61,5-93,4%) a los 12 meses, del 75,0% (IC95% 52,6-87,9%) a los 24 meses y del 54,2% (IC95% 32,7-71,4%) a los 60 meses.



Gráfica 16. Supervivencia global estimada según grupo CMS

La Tabla 25 muestra el porcentaje de fallecidos y el modelo de regresión univariante de Cox que modeliza la supervivencia para diferentes factores de interés en los 235 pacientes en los que se ha registrado el grupo CMS. Se puede ver que la edad, el valor del ECOG, la clínica, el grado de diferenciación tumoral, el patrón de crecimiento tumoral, el estadio clínico, el estadio T, el estadio N, el estadio M, la presencia de mutación del gen *BRAF*, la infiltración vascular, la infiltración linfática, la infiltración perineural y la ausencia de quimioterapia adyuvante son factores relacionados significativamente con la supervivencia global de este tipo de pacientes desde un punto de vista univariante. Por ejemplo, se observar que los pacientes de 65 a 74 años presentan un riesgo de muerte 1,768 veces superior al de los pacientes de menos de 65 años (IC95% 1,031-3,033), mientras que los de 75 o más años de edad presentan un riesgo de muerte 3,154 veces superior a los de los pacientes de menos de 65 años (IC95% 1,902-5,230).

Tabla 25. Modelización univariante de la supervivencia global en pacientes con CMS

	Vivos	Exitus	HR	IC95%		p
Total	123 (52,3%)	112 (47,7%)				
Grupo CMS	(n=123)	(n=112)				0,090
2-3	91 (55,8%)	72 (44,2%)	(línea base)			
1	22 (45,8%)	26 (54,2%)	1,495	0,953	2,316	0,080
4	10 (41,7%)	14 (58,3%)	1,630	0,917	2,898	0,096
Sexo	(n=123)	(n=112)				0,118
Mujer	59 (58,4%)	42 (41,6%)	(línea base)			
Hombre	64 (47,8%)	70 (52,2%)	1,357	0,925	1,992	
Edad	(n=123)	(n=112)				<0,001
<65	53 (71,6%)	21 (28,4%)	(línea base)			
65-74	40 (51,9%)	37 (48,1%)	1,768	1,031	3,033	0,038
>=75	30 (35,7%)	54 (64,3%)	3,154	1,902	5,230	<0,001
Año diagnóstico	(n=123)	(n=112)				0,924
<2013	28 (46,7%)	32 (53,3%)	(línea base)			
2013-2016	72 (52,6%)	65 (47,4%)	0,988	0,635	1,538	0,957
>2016	23 (60,5%)	15 (39,5%)	1,108	0,587	2,091	0,752
ECOG	(n=123)	(n=112)				<0,001
1	111 (64,2%)	62 (35,8%)	(línea base)			
>=2	12 (19,4%)	50 (80,6%)	4,604	3,132	6,770	
Presencia de pólipos	(n=123)	(n=111)				0,729
No	62 (54,4%)	52 (45,6%)	(línea base)			
Sí	61 (50,8%)	59 (49,2%)	1,068	0,735	1,551	
Clínica	(n=123)	(n=112)				0,012
Asintomáticos	20 (80,0%)	5 (20,0%)	(línea base)			
Sintomáticos	103 (49,0%)	107 (51,0%)	3,146	1,282	7,720	
Localización tumoral	(n=123)	(n=112)				0,365
Colon derecho	55 (50,9%)	53 (49,1%)	(línea base)			
Colon izquierdo	51 (58,6%)	36 (41,4%)	0,803	0,525	1,228	0,312
Recto	17 (42,5%)	23 (57,5%)	1,157	0,709	1,889	0,560
Grado diferenciación	(n=122)	(n=112)				0,034
Bueno	38 (64,4%)	21 (35,6%)	(línea base)			
Moderado	72 (49,0%)	75 (51,0%)	1,647	1,015	2,673	0,043
Pobre	12 (42,9%)	16 (57,1%)	2,307	1,202	4,430	0,012
Patrón crec. tumoral	(n=117)	(n=110)				0,002
Expansivo	83 (58,9%)	58 (41,1%)	(línea base)			
Infiltrativo	34 (39,5%)	52 (60,5%)	1,803	1,238	2,626	
Tumor Budding	(n=119)	(n=109)				0,183
No	52 (57,1%)	39 (42,9%)	(línea base)			

Sí	67 (48,9%)	70 (51,1%)	1,305	0,882	1,931	
	Vivos	Exitus	HR	IC95%		<i>p</i>
Estado MSI	(n=123)	(n=112)				0,135
MSI-	101 (54,0%)	86 (46,0%)	(línea base)			
MSI+	22 (45,8%)	26 (54,2%)	1,399	0,901	2,173	
Estadio	(n=123)	(n=112)				<0,001
0-I-II	72 (65,5%)	38 (34,5%)	(línea base)			
III	40 (50,0%)	40 (50,0%)	1,634	1,047	2,550	0,030
IV	11 (24,4%)	34 (75,6%)	4,106	2,551	6,609	<0,001
Estadio T	(n=123)	(n=112)				0,001
Tis-T1-T2-T3	102 (58,0%)	74 (42,0%)	(línea base)			
T4	21 (35,6%)	38 (64,4%)	2,002	1,353	2,964	
Estadio N	(n=123)	(n=112)				<0,001
N0	77 (63,1%)	45 (36,9%)	(línea base)			
N1-N2	46 (40,7%)	67 (59,3%)	1,985	1,358	2,901	
Estadio M	(n=123)	(n=112)				<0,001
M0	112 (58,9%)	78 (41,1%)	(línea base)			
M1	11 (24,4%)	34 (75,6%)	3,269	2,158	4,952	
Mutación del gen						
KRAS	(n=119)	(n=111)				0,572
No mutado	58 (50,0%)	58 (50,0%)	(línea base)			
Mutado	61 (53,5%)	53 (46,5%)	0,898	0,619	1,304	
Mutación del gen						
NRAS	(n=119)	(n=111)				0,115
No mutado	99 (49,7%)	100 (50,3%)	(línea base)			
Mutado	20 (64,5%)	11 (35,5%)	0,606	0,325	1,130	
Mutación del gen						
BRAF	(n=119)	(n=111)				0,008
No mutado	113 (53,8%)	97 (46,2%)	(línea base)			
Mutado	6 (30,0%)	14 (70,0%)	2,147	1,219	3,781	
Infiltración vascular	(n=121)	(n=110)				<0,001
No	112 (58,0%)	81 (42,0%)	(línea base)			
Sí	9 (23,7%)	29 (76,3%)	2,579	1,682	3,955	
Infiltración linfática	(n=121)	(n=110)				<0,001
No	96 (61,5%)	60 (38,5%)	(línea base)			
Sí	25 (33,3%)	50 (66,7%)	2,155	1,477	3,143	
Infiltración perineural	(n=121)	(n=110)				<0,001
No	106 (58,2%)	76 (41,8%)	(línea base)			
Sí	15 (30,6%)	34 (69,4%)	2,177	1,448	3,272	
Inf. macrofágica						
CD163+	(n=73)	(n=73)				0,844

No	9 (45,0%)	11 (55,0%)	(línea base)				
Solo forma fusiforme	34 (51,5%)	32 (48,5%)		0,825	0,414	1,644	0,585
Con ambas formas	30 (50,0%)	30 (50,0%)		0,911	0,456	1,819	0,791
Inf. macrofágica CD14+	(n=74)	(n=71)					0,419
No	6 (35,3%)	11 (64,7%)	(línea base)				
Solo forma fusiforme	35 (55,6%)	28 (44,4%)		0,625	0,310	1,258	0,188
Con ambas formas	33 (50,8%)	32 (49,2%)		0,703	0,353	1,397	0,314
Inmunoscore	(n=55)	(n=51)					0,770
Bajo	43 (50,6%)	42 (49,4%)	(línea base)				
Medio/Alto	12 (57,1%)	9 (42,9%)		0,898	0,436	1,849	
Índice de Shannon	(n=16)	(n=25)					0,156
Media (DT)	3,07 (0,30)	3,16 (0,39)		2,504	0,706	8,889	
Índice de Simpson							
(x100)	(n=16)	(n=25)					0,627
Media (DT)	91,2 (2,7)	91,2 (4,0)		1,034	0,903	1,186	
Índ. Berger-Parker (
x100)	(n=16)	(n=25)					0,949
Media (DT)	19,2 (5,2)	19,7 (7,4)		0,998	0,927	1,073	
	Vivos	Exitus	HR	IC95%			<i>p</i>
Tiempo (m) diag.-							
cirugía	(n=123)	(n=111)					0,347
Media (DT)	1,38 (1,76)	1,71 (2,94)		1,028	0,971	1,088	
CEA preoperatorio	(n=99)	(n=73)					0,050
Media (DT)	5,97 (20,0)	9,63 (25,3)		1,007	1,000	1,015	
Quimio. adyuvante	(n=123)	(n=112)					0,009
Sí	57 (61,3%)	36 (38,7%)	(línea base)				
No	66 (46,5%)	76 (53,5%)		1,705	1,145	2,538	

Por último, se construye un modelo de regresión de Cox multivariante con aquellos factores significativos desde el punto de vista univariante para un nivel de significación del 10%. Del modelo final se ha eliminado el CEA preoperatorio al tener muchos datos faltantes (sólo se ha recogido en 172 de los 235 pacientes con CMS). En el modelo multivariante se ha considerado la situación tumoral del paciente utilizando el sistema TNM para evaluar el impacto de cada uno de sus componentes. La Tabla 26 muestra el modelo ajustado sobre los 221 pacientes con información para los 14 factores pronósticos considerados. La edad del paciente mayor o igual a 65 años ($p = 0,002$), la presencia de un ECOG mayor de 1 ($p < 0,001$), una clínica sintomática ($p = 0,001$), un grado de diferenciación moderado o

pobre ($p < 0,001$) y la presencia de estadio M1 ($p < 0,001$) son factores relacionados de forma significativa con la supervivencia global de este tipo de pacientes en los que se ha medido su valor CMS, mientras que la infiltración vascular ($p = 0,086$) roza la significación estadística.

Tabla 26. Modelización multivariante de la supervivencia global en pacientes con CMS

	Modelos univariantes				Modelo multivariante (n=221)			
	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p
Grupo CMS				0,090				0,923
2-3	(línea base)							
1	1,495	0,953	2,316	0,080				0,714
4	1,630	0,917	2,898	0,096				0,935
Edad				<0,001				0,002
<65	(línea base)				(línea base)			
65-74	1,768	1,031	3,033	0,038	2,485	1,397	4,419	0,002
>=75	3,154	1,902	5,230	<0,001	2,640	1,484	4,697	0,001
ECOG				<0,001				<0,001
1	(línea base)				(línea base)			
>=2	4,604	3,132	6,770		3,163	2,036	4,912	
Clínica				0,012				0,001
Asintomáticos	(línea base)				(línea base)			
Sintomáticos	3,146	1,282	7,720		4,595	1,823	11,579	
Grado diferenciación				0,034				<0,001
Bueno	(línea base)				(línea base)			
Moderado	1,647	1,015	2,673	0,043	1,825	1,102	3,022	0,020
Pobre	2,307	1,202	4,430	0,012	4,124	2,082	8,170	<0,001
Patrón crec. tumoral				0,002				0,173
Expansivo	(línea base)							
Infiltrativo	1,803	1,238	2,626					
Estadio T				0,001				0,700
Tis-T1-T2-T3	(línea base)							
T4	2,002	1,353	2,964					
Estadio N				<0,001				0,233
N0	(línea base)							
N1-N2	1,985	1,358	2,901					
	Modelos univariantes				Modelo multivariante (n=221)			
	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p
Estadio M				<0,001				<0,001
M0	(línea base)				(línea base)			
M1	3,269	2,158	4,952		3,441	2,154	5,496	
Mutación del gen BRAF				0,008				0,385

No mutado	(línea base)				
Mutado	2,147	1,219	3,781		
Infiltración vascular				<0,001	0,086
No	(línea base)				
Sí	2,579	1,682	3,955		
Infiltración linfática				<0,001	0,202
No	(línea base)				
Sí	2,155	1,477	3,143		
Infiltración perineural				<0,001	0,265
No	(línea base)				
Sí	2,177	1,448	3,272		
Quimio. adyuvante				0,009	0,858
Sí	(línea base)				
No	1,705	1,145	2,538		

5.2.8 Relación con la supervivencia libre de progresión

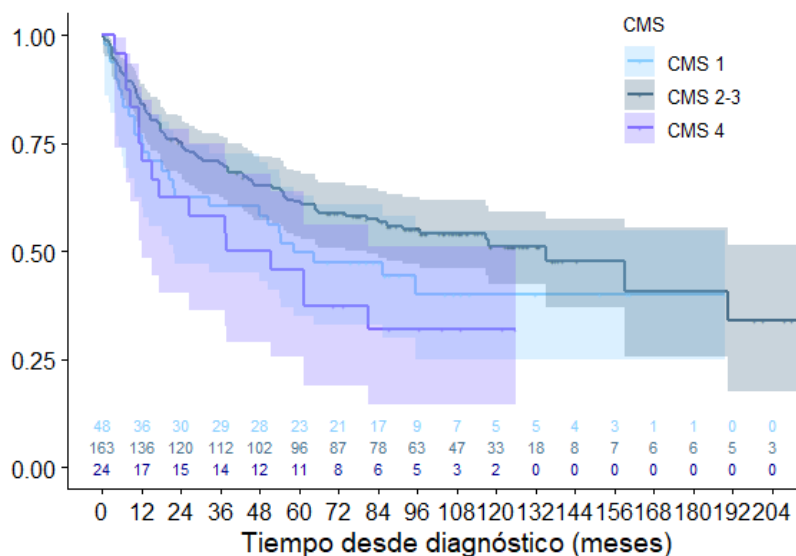
Como se ha comentado anteriormente, a lo largo del seguimiento se ha registrado la posible progresión de los pacientes y su localización. La Tabla 27 resume la presencia de progresión en los pacientes en los que se ha registrado el valor del CMS al final del seguimiento. Se observa una mayor incidencia de progresiones en el grupo con CMS 4.

Tabla 27. Progresión durante el seguimiento según grupo CMS

	Total	CMS 1	CMS 2-3	CMS 4
Total	235 (100%)	48 (100%)	163 (100%)	24 (100%)
Progresión				
No	172 (73,2%)	34 (70,8%)	124 (76,1%)	14 (58,3%)
Sí	63 (26,8%)	14 (29,2%)	39 (23,9%)	10 (41,7%)
Hepática	19 (8,1%)	1 (2,1%)	15 (9,2%)	3 (12,5%)
Peritoneal	19 (8,1%)	6 (12,5%)	8 (4,9%)	5 (20,8%)
Pulmonar	15 (6,4%)	1 (2,1%)	13 (8,0%)	1 (4,2%)
Ganglionar	5 (2,1%)	4 (8,3%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)
Ósea	5 (2,1%)	2 (4,2%)	2 (1,2%)	1 (4,2%)

La Figura 17 muestra las curvas de supervivencia libre de progresión estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos CMS, junto con una banda que representa el intervalo de confianza

al 95% y el número de pacientes en riesgo para diferentes horizontes temporales. Se objetiva que la supervivencia libre de progresión del grupo CMS 2-3 es superior a la de los otros dos grupos, con diferencias que rozan la significación estadística al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,084$), la prueba Log-Rank ($p = 0,080$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,075$). Se obtiene una mediana de supervivencia libre de progresión estimada de 58,3 meses para los pacientes clasificados como CMS 1, de 135,1 meses para los clasificados como CMS 2-3, y de 37,8 meses para los clasificados como CMS 4. En los pacientes del grupo CMS 1 se obtiene una supervivencia libre de progresión estimada del 85,4% (IC95% 71,8-92,8%) a los 6 meses, del 75,0% (IC95% 60,2-85,0%) a los 12 meses, del 62,5% (IC95% 47,3-74,5%) a los 24 meses y del 49,7% (IC95% 34,9-62,8%) a los 60 meses. En los pacientes del grupo CMS 2-3 se observa una supervivencia libre de progresión estimada del 91,4% (IC95% 85,9-94,8%) a los 6 meses, del 84,0% (IC95% 77,4-88,8%) a los 12 meses, del 75,3% (IC95% 67,9-81,3%) a los 24 meses y del 61,4% (IC95% 53,4-68,4%) a los 60 meses. En los pacientes del grupo CMS 4 se obtiene una supervivencia libre de progresión estimada del 95,8% (IC95% 73,9-99,4%) a los 6 meses, del 70,8% (IC95% 48,4-84,9%) a los 12 meses, del 62,5% (IC95% 40,3-78,4%) a los 24 meses y del 45,8% (IC95% 25,6-64,0%) a los 60 meses.



Gráfica 17. Supervivencia libre de progresión estimada según grupo CMS

La Tabla 28 muestra el porcentaje de fallecidos y el modelo de regresión univariante de Cox que modeliza la supervivencia libre de progresión para diferentes factores de interés. La edad, el valor del ECOG, el grado de

diferenciación tumoral, el patrón de crecimiento tumoral, la presencia de mutación del gen BRAF, la presencia de infiltración vascular, la presencia de infiltración linfática y la presencia de infiltración perineural son factores relacionados significativamente con la supervivencia libre de progresión de este tipo de pacientes desde un punto de vista univariante.

Tabla 28. Modelización univariante de la supervivencia libre de progresión en pacientes con CMS

	Progresión		HR	IC95%	p	
	Vivos	o Exitus				
Total	115 (48,9%)	120 (51,1%)				
Grupo CMS	(n=115)	(n=120)			0,084	
2-3	86 (52,8%)	77 (47,2%)	(línea base)			
1	21 (43,8%)	27 (56,3%)	1,372	0,883	2,129	0,159
4	8 (33,3%)	16 (66,7%)	1,731	1,008	2,973	0,047
Sexo	(n=115)	(n=120)			0,175	
Mujer	60 (44,8%)	74 (55,2%)	(línea base)			
Hombre	55 (54,5%)	46 (45,5%)	1,291	0,892	1,866	
Edad	(n=115)	(n=120)			0,001	
<65	48 (64,9%)	26 (35,1%)	(línea base)			
65-74	38 (49,4%)	39 (50,6%)	1,452	0,880	2,394	0,144
>=75	29 (34,5%)	55 (65,5%)	2,312	1,448	3,690	<0,001
Año diagnóstico	(n=115)	(n=120)			0,805	
<2013	26 (43,3%)	34 (56,7%)	(línea base)			
2013-2016	69 (50,4%)	68 (49,6%)	0,964	0,629	1,478	0,866
>2016	20 (52,6%)	18 (47,4%)	1,149	0,639	2,069	0,642
ECOG	(n=115)	(n=120)			<0,001	
1	103 (59,5%)	70 (40,5%)	(línea base)			
>=2	12 (19,4%)	50 (80,6%)	3,587	2,472	5,203	
	Progresión		HR	IC95%	p	
	Censura	o Exitus				
Presencia de pólipos	(n=115)	(n=119)			0,605	
No	55 (48,2%)	59 (51,8%)	(línea base)			
Sí	60 (50,0%)	60 (50,0%)	0,909	0,634	1,303	
Clínica	(n=115)	(n=120)			0,057	
Asintomáticos	17 (68,0%)	8 (32,0%)	(línea base)			
Sintomáticos	98 (46,7%)	112 (53,3%)	2,011	0,981	4,124	
Localización tumoral	(n=115)	(n=120)			0,255	
Colon derecho	52 (48,1%)	56 (51,9%)	(línea base)			

Colon izquierdo	48 (55,2%)	39 (44,8%)	0,858	0,569	1,293	0,464
Recto	15 (37,5%)	25 (62,5%)	1,313	0,818	2,105	0,259
Grado diferenciación	(n=114)	(n=120)				0,004
Bueno	38 (64,4%)	21 (35,6%)	(línea base)			
Moderado	66 (44,9%)	81 (55,1%)	1,915	1,184	3,096	0,008
Pobre	10 (35,7%)	18 (64,3%)	2,812	1,495	5,291	0,001
Patrón crec. tumoral	(n=109)	(n=118)				0,002
Expansivo	78 (55,3%)	63 (44,7%)	(línea base)			
Infiltrativo	31 (36,0%)	55 (64,0%)	1,799	1,251	2,586	
Tumor Budding	(n=111)	(n=117)				0,218
No	48 (52,7%)	43 (47,3%)	(línea base)			
Sí	63 (46,0%)	74 (54,0%)	1,266	0,869	1,844	
Estado MSI	(n=115)	(n=120)				0,275
MSI-	94 (50,3%)	93 (49,7%)	(línea base)			
MSI+	21 (43,8%)	27 (56,3%)	1,270	0,827	1,952	
Estadio	(n=115)	(n=120)				<0,001
0-I-II	66 (60,0%)	44 (40,0%)	(línea base)			
III	40 (50,0%)	40 (50,0%)	1,394	0,908	2,140	0,129
IV	9 (20,0%)	36 (80,0%)	3,898	2,476	6,136	<0,001
Estadio T	(n=115)	(n=120)				<0,001
Tis-T1-T2-T3	96 (54,5%)	80 (45,5%)	(línea base)			
T4	19 (32,2%)	40 (67,8%)	2,016	1,377	2,951	
Estadio N	(n=115)	(n=120)				0,003
N0	70 (57,4%)	52 (42,6%)	(línea base)			
N1-N2	45 (39,8%)	68 (60,2%)	1,742	1,212	2,504	
Estadio M	(n=115)	(n=120)				<0,001
M0	106 (55,8%)	84 (44,2%)	(línea base)			
M1	9 (20,0%)	36 (80,0%)	3,360	2,246	5,028	
Mutación del gen						
KRAS	(n=111)	(n=119)				0,936
No mutado	55 (47,4%)	61 (52,6%)	(línea base)			
Mutado	56 (49,1%)	58 (50,9%)	0,936	0,653	1,341	
Mutación del gen						
NRAS	(n=111)	(n=119)				0,063
No mutado	91 (45,7%)	108 (54,3%)	(línea base)			
Mutado	20 (64,5%)	11 (35,5%)	0,555	0,298	1,032	
Mutación del gen						
BRAF	(n=111)	(n=119)				0,020
No mutado	106 (50,5%)	104 (49,5%)	(línea base)			
Mutado	5 (25,0%)	15 (75,0%)	1,910	1,108	3,295	
Infiltración vascular	(n=113)	(n=118)				<0,001
No	108 (55,1%)	88 (44,9%)	(línea base)			

Sí	8 (21,1%)	30 (78,9%)	2,649	1,745	4,022	
Infiltración linfática	(n=113)	(n=118)				<0,001
No	90 (57,7%)	66 (42,3%)	(línea base)			
Sí	23 (29,5%)	55 (70,5%)	2,153	1,495	3,102	
<hr/>						
	Progresión					
	Censura	o Exitus	HR	IC95%		<i>p</i>
Infiltración perineural	(n=113)	(n=118)				<0,001
No	99 (54,4%)	83 (45,6%)	(línea base)			
Sí	14 (28,6%)	35 (71,4%)	2,173	1,460	3,233	
Inf. macrofágica						
CD163+	(n=68)	(n=78)				0,725
No	8 (40,0%)	12 (60,0%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	31 (47,0%)	35 (53,0%)	0,817	0,422	1,581	0,548
Con ambas formas	29 (48,3%)	31 (51,7%)	0,761	0,390	1,484	0,423
Inf. macrofágica CD14+	(n=69)	(n=76)				0,625
No	6 (35,3%)	11 (64,7%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	32 (50,8%)	31 (49,2%)	0,716	0,360	1,427	0,342
Con ambas formas	31 (47,7%)	34 (52,3%)	0,716	0,378	1,475	0,400
Inmunoscore	(n=50)	(n=56)				0,456
Bajo	38 (44,7%)	47 (55,3%)	(línea base)			
Medio/Alto	12 (57,1%)	9 (42,9%)	0,761	0,372	1,559	
Índice de Shannon	(n=16)	(n=25)				0,275
Media (DT)	3,07 (0,30)	3,16 (0,39)	1,963	0,585	6,589	
Índice de Simpson						
(x100)	(n=16)	(n=25)				0,732
Media (DT)	91,2 (2,7)	91,2 (4,0)	1,023	0,900	1,162	
Índ. Berger-Parker						
(x100)	(n=16)	(n=25)				0,987
Media (DT)	19,2 (5,2)	19,7 (7,4)	1,001	0,934	1,072	
Tiempo (m) diag.- cirugía	(n=115)	(n=119)				0,328
Media (DT)	1,42 (1,81)	1,65 (2,86)	1,031	0,970	1,095	
CEA preoperatorio	(n=93)	(n=79)				0,099
Media (DT)	6,10 (20,6)	9,19 (25,3)	1,006	0,999	1,014	
Quimio. adyuvante	(n=115)	(n=120)				0,050
Sí	52 (55,9%)	41 (44,1%)	(línea base)			
No	63 (44,4%)	79 (55,6%)	1,459	0,999	2,129	

Por último, se construye un modelo de regresión de Cox multivariante con aquellos factores significativos desde el punto de vista univariante para un nivel de significación del 10%. Del modelo final se ha eliminado el CEA preoperatorio al tener muchos datos faltantes (sólo se ha recogido en 172 de los 235 pacientes con CMS). La Tabla 29 muestra el modelo ajustado sobre los 221 pacientes con información para los 15 factores pronósticos considerados. La presencia de una edad elevada ($p = 0,040$), de un ECOG mayor de 1 ($p < 0,001$), de una clínica sintomática ($p = 0,021$), de un grado de diferenciación moderado o pobre ($p = 0,001$), de estadio M1 ($p < 0,001$) y de infiltración vascular ($p = 0,012$) son factores relacionados de forma significativa con la supervivencia libre de progresión en este tipo de pacientes en los que se ha medido su valor CMS.

Tabla 29. Modelización multivariante de la supervivencia libre de progresión en pacientes con CMS

	Modelos univariantes				Modelo multivariante (n=221)			
	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p
Grupo CMS				0,084				0,945
2-3	(línea base)							
1	1,372	0,883	2,129	0,159				0,874
4	1,731	1,008	2,973	0,047				0,745
Edad				0,001				0,040
<65	(línea base)				(línea base)			
65-74	1,452	0,880	2,394	0,144	1,927	1,131	3,285	0,016
>=75	2,312	1,448	3,690	<0,001	1,805	1,055	3,087	0,031
	Modelos univariantes				Modelo multivariante (n=221)			
	HR	IC95%		p	HR	IC95%		p
ECOG				<0,001				<0,001
1	(línea base)				(línea base)			
>=2	3,587	2,472	5,203		2,915	1,886	4,505	
Clínica				0,057				0,021
Asintomáticos	(línea base)				(línea base)			
Sintomáticos	2,011	0,981	4,124		2,379	1,137	4,976	
Grado diferenciación				0,004				0,002
Bueno	(línea base)				(línea base)			
Moderado	1,915	1,184	3,096	0,008	1,978	1,200	3,259	0,007
Pobre	2,812	1,495	5,291	0,001	3,189	1,625	6,260	0,001
Patrón crec. tumoral				0,002				0,350
Expansivo	(línea base)							
Infiltrativo	1,799	1,251	2,586					

Estadio T				<0,001					0,865
Tis-T1-T2-T3	(línea base)								
T4		2,016	1,377	2,951					
Estadio N					0,003				0,979
N0	(línea base)								
N1-N2		1,742	1,212	2,504					
Estadio M					<0,001				<0,001
M0	(línea base)					(línea base)			
M1		3,360	2,246	5,028			2,742	1,734	4,334
Mutación del gen									
NRAS					0,063				0,269
No mutado	(línea base)								
Mutado		0,555	0,298	1,032					
Mutación del gen									
BRAF					0,020				0,665
No mutado	(línea base)								
Mutado		1,910	1,108	3,295					
Infiltración vascular					<0,001				0,012
No	(línea base)					(línea base)			
Sí		2,649	1,745	4,022			1,789	1,138	2,813
Infiltración linfática					<0,001				0,235
No	(línea base)								
Sí		2,153	1,495	3,102					
Infiltración perineural					<0,001				0,643
No	(línea base)								
Sí		2,173	1,460	3,233					
Quimio. adyuvante					0,050				0,710
Sí	(línea base)								
No		1,459	0,999	2,129					

5.3. RELACIÓN CON EL TUMOR BUDDING

Como se ha visto en la Tabla 3, se incluye la clasificación de *tumor budding* en 248 de los 255 pacientes incluidos en el estudio, donde 99 no lo presentaban y 149 sí (con 97 con menos de 10 focos, 34 con entre 10 y 19 focos y 18 con 20 o más focos).

Se analizan las diferencias existentes entre estos grupos de clasificación con las características demográficas básicas, las características clínico-patológicas

al diagnóstico, la infiltración tumoral, la clasificación inmunoscore, la microbiota, el tratamiento recibido, así como con la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión. En esta comparación únicamente se consideran los 248 pacientes en los que se conoce la clasificación del *tumor budding*.

5.3.1. Relación con las características demográficas básicas

La Tabla 30 muestra una comparación de las principales características demográficas según su clasificación *tumor budding*. No se observan diferencias en el sexo (p -valor = 0,944) ni en la edad de los pacientes (p = 0,313) de los grupos definidos.

Tabla 30. Características demográficas básicas según clasificación *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	\geq 10 focos	p
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Sexo					0,944
Hombres	145 (58,5%)	57 (57,6%)	58 (59,8%)	30 (57,7%)	
Mujeres	103 (41,5%)	42 (42,4%)	39 (40,2%)	22 (42,3%)	
Edad al diagnóstico					0,313
Media (DT)	68,7 (11,5)	69,5 (10,7)	69,0 (11,7)	66,6 (12,7)	
Mediana (Mín.-Máx.)	70 (18-92)	70 (45-90)	70 (34-92)	69 (18-89)	
Menos de 65 años	81 (32,7%)	32 (32,3%)	31 (32,0%)	18 (34,6%)	
65-74 años	78 (31,5%)	30 (30,3%)	27 (27,8%)	21 (40,4%)	
75 años o más	89 (35,9%)	37 (37,4%)	39 (40,2%)	13 (25,0%)	

5.3.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico

La Tabla 31 muestra la relación de algunas características clínicas al diagnóstico de los pacientes con su clasificación *tumor budding*. Se puede ver que la distribución según año de diagnóstico (p = 0,811), ECOG (p = 0,905), presencia de pólipos (p = 0,543) y presentación clínica (p = 0,604) es similar en los tres grupos definidos.

Tabla 31. Características al diagnóstico según clasificación *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	\geq 10 focos	p
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Año diagnóstico					0,811
Antes de 2013	53 (21,4%)	23 (23,2%)	21 (21,6%)	9 (17,3%)	
2013-2016	154 (62,1%)	62 (62,6%)	60 (61,9%)	32 (61,5%)	
Después de 2016	41 (16,5%)	14 (14,1%)	16 (16,5%)	11 (21,2%)	

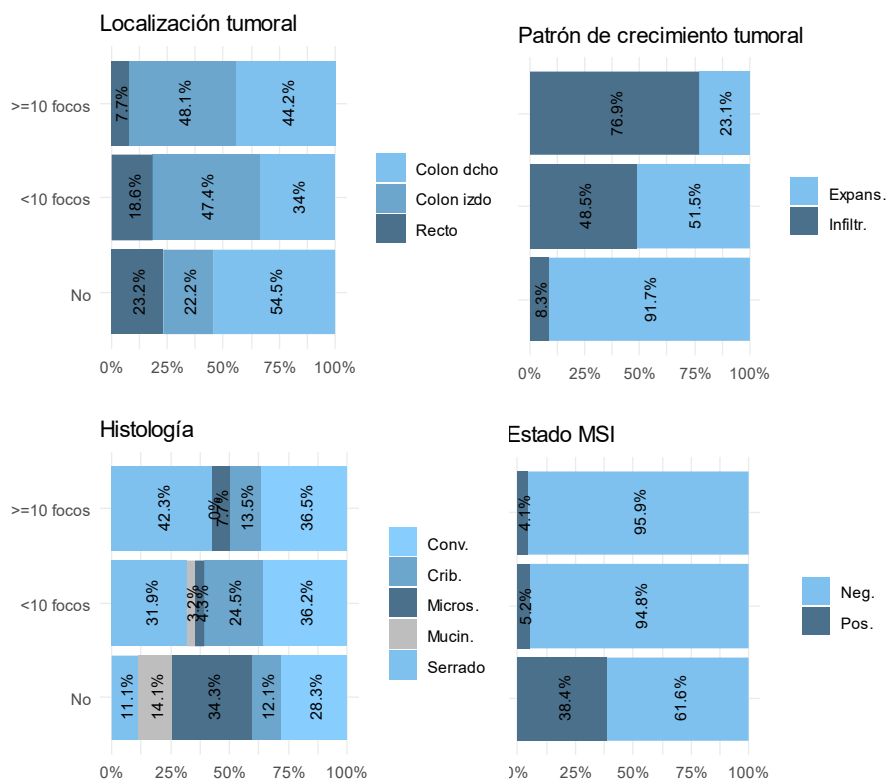
ECOG					0,905
1	183 (73,8%)	75 (75,8%)	69 (71,1%)	39 (75,0%)	
2	45 (18,1%)	17 (17,2%)	20 (20,6%)	8 (15,4%)	
>=3	20 (8,1%)	7 (7,1%)	8 (8,2%)	5 (9,6%)	
Presencia de pólipos					0,543
No	119 (48,0%)	44 (44,4%)	47 (48,5%)	28 (53,8%)	
Sí	129 (52,0%)	55 (55,6%)	50 (51,5%)	24 (46,2%)	
Clínica					0,604
Sintomáticos	220 (88,7%)	86 (86,9%)	86 (88,7%)	48 (92,3%)	
Asintomáticos	28 (11,3%)	13 (13,1%)	11 (11,3%)	4 (7,7%)	

La Tabla 32 muestra las características del tumor colorrectal diagnosticados según la clasificación *tumor budding* de los pacientes. Se observan diferencias estadísticamente significativas en todas ellas, a excepción del grado de diferenciación en la que roza la significación estadística. La Figura 18 muestra gráficamente la distribución de pacientes para estas características según su *tumor budding*, donde se observa que los pacientes sin *tumor budding* tienen un patrón bastante diferente a los de los otros dos grupos.

Tabla 32. Características del tumor colorrectal diagnosticado según clasificación *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	p
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Localización tumoral					0,001
	Total	No	<10 focos	>=10 focos	p
Colon derecho	110 (44,4%)	54 (54,5%)	33 (34,0%)	23 (44,2%)	
Colon izquierdo	93 (37,5%)	22 (22,2%)	46 (47,4%)	25 (48,1%)	
Recto	45 (18,1%)	23 (23,2%)	18 (18,6%)	4 (7,7%)	
Grado de diferenciación					0,089
G1	65 (26,3%)	27 (27,6%)	26 (26,8%)	12 (23,1%)	
G2	154 (62,3%)	54 (55,1%)	66 (68,0%)	34 (65,4%)	
G3	28 (11,3%)	17 (17,3%)	5 (5,2%)	6 (11,5%)	
Patrón de crecimiento tumoral					<0,001
Expansivo	150 (61,2%)	88 (91,7%)	50 (51,5%)	12 (23,1%)	
Infiltrativo	95 (38,8%)	8 (8,3%)	47 (48,5%)	40 (76,9%)	
Histología					<0,001
Convencional	81 (32,7%)	28 (28,3%)	34 (35,1%)	19 (36,5%)	
Serrado	63 (25,4%)	11 (11,1%)	30 (30,9%)	22 (42,3%)	
Cribiforme tipo comedo	42 (16,9%)	12 (12,1%)	23 (23,7%)	7 (13,5%)	

Inestabilidad microsátélites	42 (16,9%)	34 (35,1%)	4 (4,1%)	4 (7,7%)	<0,001
Mucinoso	20 (8,1%)	14 (14,1%)	6 (6,2%)	0 (0,0%)	
Estado MSI					
MSI-	200 (80,6%)	61 (61,6%)	92 (94,8%)	47 (90,4%)	
MSI+	48 (19,4%)	38 (38,4%)	5 (5,2%)	5 (9,6%)	



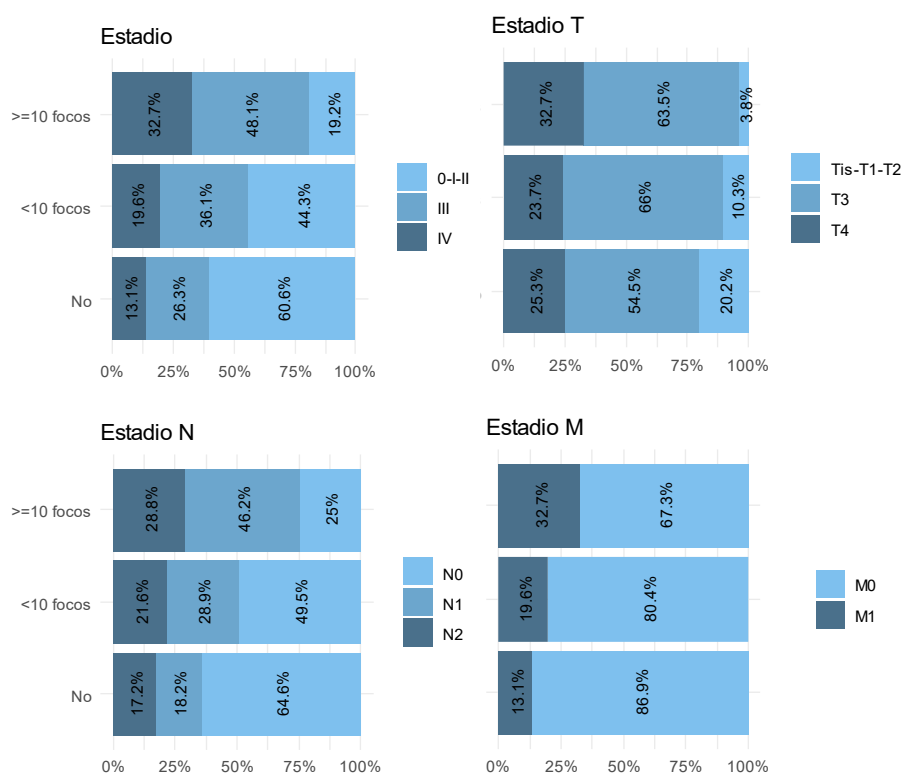
Gráfica 18. Distribución de la presencia de tumor budding según características del tumor colorrectal

La Tabla 33 muestra la estadificación del tumor colorrectal diagnosticados según la presencia de *tumor budding* de los pacientes. Se observan diferencias estadísticamente significativas en todas las características relacionadas con el estadiaje de estos pacientes. La Figura 19 muestra gráficamente estas diferencias.

Tabla 33. Estadío clínico según presencia de tumor budding

Total	No	<10 focos	>=10 focos	p
-------	----	-----------	------------	---

Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Estadio					<0,001
0-I-II	113 (45,6%)	60 (60,6%)	43 (44,3%)	10 (19,2%)	
III	86 (34,7%)	26 (26,3%)	35 (36,1%)	25 (48,1%)	
IV	49 (19,8%)	13 (13,1%)	19 (19,6%)	17 (32,7%)	
Estadio T					0,038
Tis-T1-T2	32 (12,9%)	20 (20,2%)	10 (10,3%)	2 (3,8%)	
T3	151 (60,9%)	54 (54,5%)	64 (66,0%)	33 (63,5%)	
T4	65 (26,2%)	25 (25,3%)	23 (23,7%)	17 (32,7%)	
Estadio N					<0,001
N0	125 (50,4%)	64 (64,6%)	48 (49,5%)	13 (25,0%)	
N1	70 (28,2%)	18 (18,2%)	28 (28,9%)	24 (46,2%)	
N2	53 (21,4%)	17 (17,2%)	21 (21,6%)	15 (28,8%)	
Estadio M					0,016
M0	199 (80,2%)	86 (86,9%)	78 (80,4%)	35 (67,3%)	
M1	49 (19,8%)	13 (13,1%)	19 (19,6%)	17 (32,7%)	

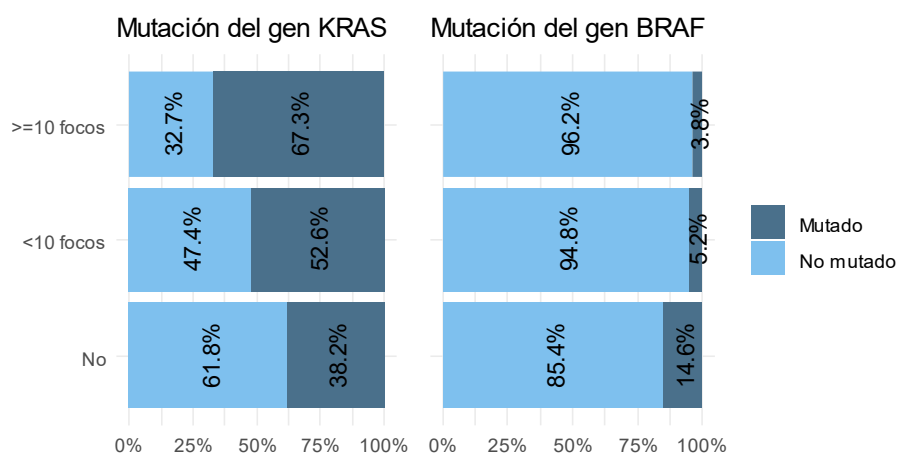


Gráfica 19. Distribución del estadio clínico según presencia de tumor budding

La Tabla 34 muestra el resultado de las pruebas de mutaciones en *Ras* y *BRAF* según la presencia de *tumor budding* de los pacientes. Se objetiva que los pacientes sin *tumor budding* presentan un porcentaje significativamente menor ($p = 0,003$) de mutación del gen *KRAS* y un porcentaje significativamente mayor ($p = 0,039$) de mutación del gen *BRAF* que los que no presentan *tumor budding*. En la Figura 20 se puede ver gráficamente estas diferencias.

Tabla 34. Pruebas de marcadores tumorales según presencia de *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Mutación del gen					
KRAS					0,003
No mutado	118 (49,6%)	55 (61,8%)	46 (47,4%)	17 (32,7%)	
Mutado	120 (50,4%)	34 (38,2%)	51 (52,6%)	35 (67,3%)	
Mutación del gen					
NRAS					0,326
No mutado	206 (86,6%)	74 (83,1%)	84 (86,6%)	48 (92,3%)	
Mutado	32 (13,4%)	15 (16,9%)	13 (13,4%)	4 (7,7%)	
Mutación del gen					
BRAF					0,039
No mutado	218 (91,6%)	76 (85,4%)	92 (94,8%)	50 (96,2%)	
Mutado	20 (8,4%)	13 (14,6%)	5 (5,2%)	2 (3,8%)	



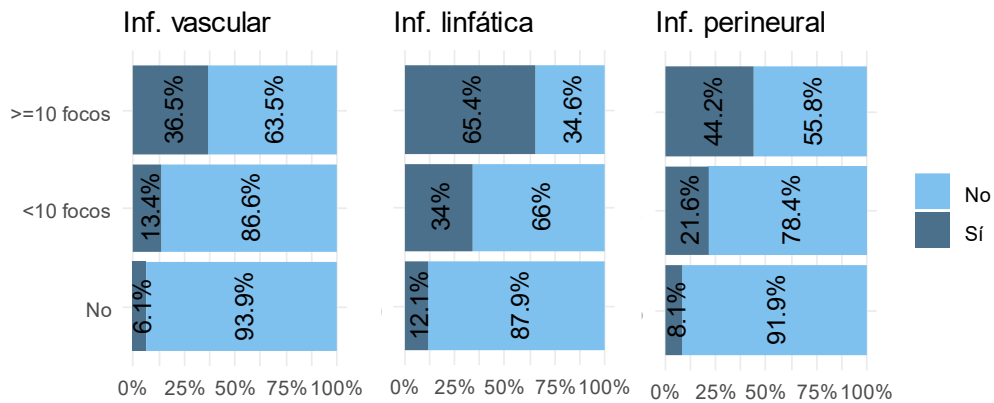
Gráfica 20. Distribución de marcadores tumorales según presencia de *tumor budding*

5.3.3 Relación con la infiltración tumoral

La Tabla 35 muestra la infiltración tumoral observada según presencia de *tumor budding* de pacientes. Se observa una relación significativa entre la presencia de *tumor budding* y la presencia de infiltración vascular, linfática o perineural. Estas diferencias se muestran gráficamente en la Figura 21. En la Tabla 18 podemos ver la tinción de cada forma para cada tipo de infiltración macrofágica según la presencia de *tumor budding*.

Tabla 35. Características de las infiltraciones analizadas según presencia de *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Infiltración vascular					<0,001
No	210 (84,7%)	93 (93,9%)	84 (86,6%)	33 (63,5%)	
Sí	38 (15,3%)	6 (6,1%)	13 (13,4%)	19 (36,5%)	
Infiltración linfática					<0,001
No	169 (68,1%)	87 (87,9%)	64 (66,0%)	18 (34,6%)	
Sí	79 (31,9%)	12 (12,1%)	33 (34,0%)	34 (65,4%)	
Infiltración perineural					<0,001
No	196 (79,0%)	91 (91,9%)	76 (78,4%)	29 (55,8%)	
Sí	52 (21,0%)	8 (8,1%)	21 (21,6%)	23 (44,2%)	
Infiltración macrofágica CD14+					0,207
No	16 (11,1%)	5 (9,1%)	6 (9,8%)	5 (17,9%)	
Solo forma fusiforme	64 (44,4%)	20 (36,4%)	29 (47,5%)	15 (53,6%)	
Forma fusiforme y redondeada	64 (44,4%)	30 (54,5%)	26 (42,6%)	8 (28,6%)	
Infiltración macrofágica CD163+					0,177
No	20 (13,2%)	10 (17,2%)	5 (7,7%)	5 (17,9%)	
Solo forma fusiforme	65 (43,0%)	21 (36,2%)	29 (44,6%)	15 (53,6%)	
Solo forma redondeada	5 (3,3%)	0 (0,0%)	4 (6,2%)	1 (3,6%)	
Forma fusiforme y redondeada	59 (39,1%)	26 (44,8%)	26 (40,0%)	7 (25,0%)	
Sí pero no consta la forma	2 (1,3%)	1 (1,7%)	1 (1,5%)	0 (0,0%)	



Gráfica 21. Distribución de la Infiltración macrofágica según presencia de tumor budding

Tabla 36. Forma y tinción de las infiltraciones macrofágicas analizadas según presencia tumor budding

Infiltración CD14+		Forma redonda				
		No tinción	Leve	Moderada	Intensa	No consta
No						
Forma fusiforme	No tinción	5	0	0	0	0
	Leve	13	11	4	1	0
	Moderada	4	6	2	2	0
	Intensa	3	2	1	0	0
	No consta	0	0	0	0	44
<10 focos						
Forma fusiforme	No tinción	6	0	0	0	0
	Leve	24	3	4	1	0
	Moderada	4	9	3	1	0
	Intensa	1	4	2	0	0
	No consta	0	0	0	0	36
>=10 focos						
Forma fusiforme	No tinción	5	0	0	0	0
	Leve	10	3	1	0	0
	Moderada	5	1	2	0	0
	Intensa	0	1	0	0	0
	No consta	0	0	0	0	24
Infiltración CD163+						
No						
Forma fusiforme	No tinción	10	0	0	0	0
	Leve	10	9	5	6	0
	Moderada	8	2	3	0	0
	Intensa	3	1	0	0	0
	No consta	0	0	1	0	41

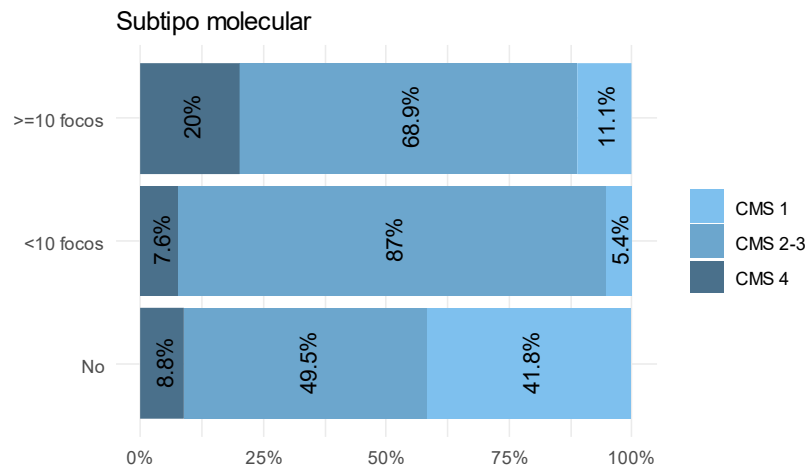
<10 focos						
Forma fusiforme	No tinción	5	3	1	0	0
	Leve	21	10	6	2	0
	Moderada	5	5	1	1	0
	Intensa	3	1	0	0	0
	No consta	0	1	0	0	32
>=10 foc						
Forma fusiforme	No tinción	5	0	1	0	0
	Leve	11	1	5	1	0
	Moderada	4	0	0	0	0
	Intensa	0	0	0	0	0
	No consta	0	0	0	0	24

5.3.4 Relación con el subtipo molecular

La Tabla 37 muestra la relación del subtipo molecular de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según la presencia de *tumor budding*. Se puede ver que existe una relación muy significativa ($p < 0,001$) entre ambas características, con una mayor presencia de pacientes con CMS 1 en los pacientes sin *tumor budding*, una mayor presencia de pacientes con CMS 2-3 en los pacientes con *tumor budding* de menos de 10 focos, y una mayor presencia de pacientes con CMS 4 en los pacientes con *tumor budding* de 10 o más focos. En la Figura 22 podemos ver gráficamente esta relación.

Tabla 37. Subtipo molecular según presencia de *tumor budding*

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Subtipo molecular					<0,001
CMS 1	48 (21,1%)	38 (41,8%)	5 (5,4%)	5 (11,1%)	
CMS 2-3	156 (68,4%)	45 (49,5%)	80 (87,0%)	31 (68,9%)	
CMS 4	24 (10,5%)	8 (8,8%)	7 (7,6%)	9 (20,0%)	



Gráfica 22. Distribución del subtipo molecular según presencia de tumor budding

5.3.5 Relación con la clasificación Inmunoscore

La Tabla 38 muestra la relación de la clasificación inmunoscore de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según la presencia de *tumor budding*. No existe una relación estadísticamente significativa ($p = 0,158$).

Tabla 38. Clasificación Inmunoscore según presencia de tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Total	104 (100%)	40 (100%)	43 (100%)	21 (100%)	
Inmunoscore					0,158
Bajo	84 (80,8%)	31 (77,5%)	33 (76,7%)	20 (95,2%)	
Medio-Alto	20 (19,2%)	9 (22,5%)	10 (23,3%)	1 (4,8%)	

5.3.6 Relación con la microbiota

Se ha llevado a cabo un estudio de microbiota en 45 de los 248 pacientes incluidos en el estudio con presencia o ausencia de *tumor budding*. La Tabla 39 muestra el género más abundantes y un resumen de los índices de diversidad de Shannon, Simpson y Berger-Parker para los tres grupos de pacientes definidos por el *tumor budding*. Debido al reducido número de sujetos analizados, no se ha analizado la significación estadística.

Tabla 39. Microbiota de los pacientes según presencia de tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos
Total	45 (100%)	15 (100%)	16 (100%)	14 (100%)
Género más abundante				
<i>Phocaeicola</i>	13 (28,9%)	6 (40,0%)	5 (31,3%)	2 (14,3%)
<i>Bacteroides</i>	10 (22,2%)	2 (13,3%)	4 (25,0%)	4 (28,6%)
<i>Fusobacterium</i>	4 (8,9%)	1 (6,7%)	0 (0,0%)	3 (21,4%)
<i>Prevotella</i>	4 (8,9%)	1 (6,7%)	1 (6,3%)	2 (14,3%)
<i>Salmonella</i>	4 (8,9%)	2 (13,3%)	1 (6,3%)	1 (7,1%)
<i>Faecalibacterium</i>	3 (6,7%)	0 (0,0%)	2 (12,5%)	1 (7,1%)
<i>Parabacteroides</i>	2 (4,4%)	0 (0,0%)	1 (6,3%)	1 (7,1%)
<i>Porphyromonas</i>	2 (4,4%)	1 (6,7%)	1 (6,3%)	0 (0,0%)
<i>Akkermansia</i>	1 (2,2%)	1 (6,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Bifidobacterium</i>	1 (2,2%)	0 (0,0%)	1 (6,3%)	0 (0,0%)
<i>Vescimonas</i>	1 (2,2%)	1 (6,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Índice de Shannon				
Media (DT)	3,12 (0,35)	3,06 (0,45)	3,15 (0,25)	3,17 (0,33)
Mediana (P25-P75)	3,15 (2,87-3,32)	3,12 (2,72-3,27)	3,15 (2,97-3,28)	3,19 (2,89-3,45)
Índice de Simpson				
Media (DT)	0,910 (0,036)	0,904 (0,047)	0,913 (0,025)	0,913 (0,035)
Mediana (P25-P75)	0,912 (0,894-	0,907 (0,895-0,931)	0,914 (0,892-0,929)	0,915 (0,882-0,946)
Índice de Berger-Parker				
Media (DT)	0,201 (0,071)	0,206 (0,076)	0,198 (0,063)	0,199 (0,079)
Mediana (P25-P75)	0,200 (0,162-	0,200 (0,162-0,255)	0,206 (0,153-0,243)	0,202 (0,124-0,222)

5.3.7 Relación con el tratamiento recibido

La Tabla 40 muestra un resumen de la intención de la cirugía, del tiempo desde diagnóstico a cirugía y de los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio en los pacientes que recibieron cirugía (247 de los 248 con *tumor budding*) según la presencia o ausencia de tumor. Se observa que no hay diferencias en los aspectos considerados respecto al tratamiento quirúrgico recibido entre los tres grupos de pacientes.

Tabla 40. Tratamiento quirúrgico según presencia de tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Con cirugía	247 (100%)	99 (100%)	96 (100%)	52 (100%)	
Intención					
Curativa	230 (93,1%)	92 (92,9%)	93 (96,9%)	45 (86,5%)	0,064
Paliativa	17 (6,9%)	7 (7,1%)	3 (3,1%)	7 (13,5%)	
Tiempo (meses) desde diag.					
					0,464

Media (DT)	1,71 (2,58)	1,96 (2,11)	1,52 (2,10)	1,59 (3,88)	
Mediana (Mín.-Máx.)	1,17 (0,0-27,5)	1,27 (0,0-14,7)	1,10 (0,0-15,6)	0,92 (0,0-27,5)	
CEA preoperatorio					0,148
No consta	67 (27,0%)	29 (29,3%)	23 (24,0%)	14 (26,9%)	
Media (DT)	8,77 (27,8)	4,6 (8,0)	11,6 (35,3)	11,0 (34,3)	
Mediana (P25-P75)	2,5 (0,5-230)	2,1 (0,5-52)	2,5 (0,5-230)	3,5 (0,5-214)	

La Tabla 41 muestra un resumen del tratamiento de quimioterapia adyuvante en cada uno de los grupos considerados, con un mayor porcentaje de pacientes tratados entre los que presentaban 10 o más focos.

Tabla 41. Tratamiento quimioterapia adyuvante según presencia de tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos	<i>p</i>
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)	
Quimioterapia adyuvante					0,034
No	148 (59,7%)	61 (58,3%)	64 (66,0%)	23 (44,2%)	
Sí	100 (40,3%)	38 (41,7%)	33 (34,0%)	29 (55,8%)	
Xelox	83 (83,0%)	29 (76,3%)	26 (78,8%)	28 (96,6%)	
Capecitabina	12 (12,0%)	7 (18,4%)	4 (12,1%)	1 (3,4%)	
Folfox	5 (5,0%)	2 (5,3%)	3 (9,1%)	0 (0,0%)	

5.3.8 Relación con la supervivencia global

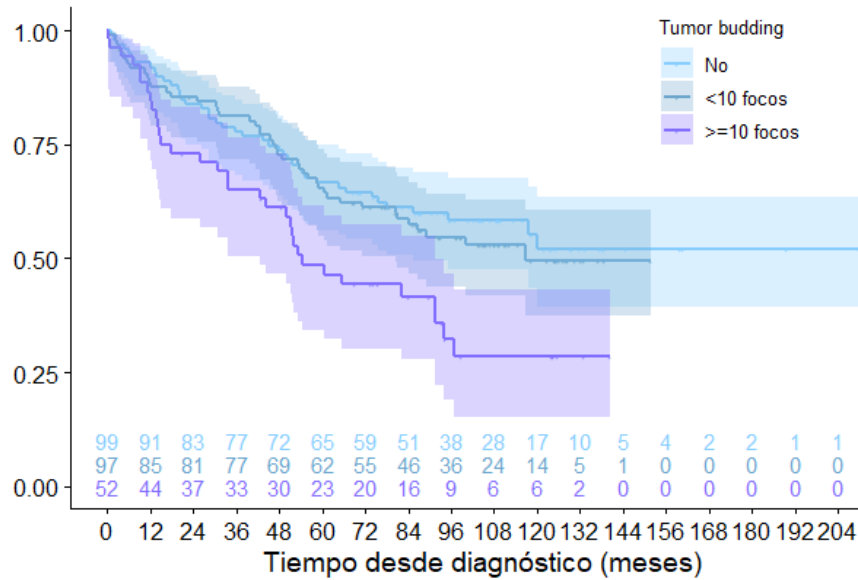
La Tabla 42 resume el estado de los pacientes al final del seguimiento del estudio, describiendo las causas de fallecimiento en aquellos que fallecen durante el mismo.

Tabla 42. Estado en la última visita según presencia de tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)
Estado última visita				
Vivos	129 (52,0%)	57 (57,6%)	53 (54,6%)	19 (36,5%)
Exitus	119 (48,0%)	42 (42,4%)	44 (45,4%)	33 (63,5%)
Cáncer	58 (23,4%)	16 (16,2%)	20 (20,6%)	22 (42,3%)
Infección	32 (12,9%)	10 (10,1%)	17 (17,5%)	5 (9,6%)

Acc. cardiovascular	11 (4,4%)	8 (8,1%)	2 (2,1%)	1 (1,9%)
Otra neoplasia	6 (2,4%)	4 (4,0%)	0 (0,0%)	2 (3,8%)
Ictus	4 (1,6%)	0 (0,0%)	3 (3,1%)	1 (1,9%)
Cirrosis	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (1,0%)	0 (0,0%)
Linfoma	1 (0,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,9%)
No consta	6 (2,4%)	4 (4,0%)	1 (1,0%)	1 (1,9%)

La Figura 23 muestra las curvas de supervivencia global estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos de pacientes. La supervivencia del grupo de pacientes con 10 o más focos es inferior a la de los otros dos grupos, con diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,020$), la prueba Log-Rank ($p = 0,011$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,014$). Se obtiene una mediana de supervivencia global estimada superior a los 200,0 meses para los pacientes clasificados como no *tumor budding*, de 116,8 meses para los clasificados como *tumor budding* con menos de 10 focos, y de 54,4 meses para los clasificados como *tumor budding* de 10 o más focos. En los pacientes sin *tumor budding* se obtiene una supervivencia estimada del 94,9% (IC95% 88,3-97,9%) a los 6 meses, del 91,9% (IC95% 84,5-95,9%) a los 12 meses, del 83,8% (IC95% 75,0-89,8%) a los 24 meses y del 66,5% (IC95% 56,3-74,9%) a los 60 meses. En los pacientes con *tumor budding* de menos de 10 focos se objetiva una supervivencia estimada del 92,7% (IC95% 85,4-96,5%) a los 6 meses, del 88,6% (IC95% 80,3-93,5%) a los 12 meses, del 85,5% (IC95% 76,7-91,1%) a los 24 meses y del 65,4% (IC95% 54,9-74,0%) a los 60 meses. En los pacientes con *tumor budding* de 10 o más focos se observa una supervivencia estimada del 94,2% (IC95% 83,2-98,1%) a los 6 meses, del 84,6% (IC95% 71,6-92,0%) a los 12 meses, del 73,1% (IC95% 58,8-83,1%) a los 24 meses y del 48,5% (IC95% 34,1-61,5%) a los 60 meses.



Gráfica 23. Supervivencia global estimada según presencia de tumor budding

La Tabla 43 muestra el porcentaje de fallecidos y el modelo de regresión univariante de Cox que modeliza la supervivencia para diferentes factores de interés en los 248 pacientes en los que se ha registrado el valor respecto al *tumor budding*. Se observa que el *tumor budding*, la edad, el valor del ECOG, la clínica, el patrón de crecimiento tumoral, el estadio clínico, el estadio T, el estadio N, el estadio M, la presencia de mutación del gen *BRAF*, la infiltración vascular, la infiltración linfática, la infiltración perineural y la ausencia de quimioterapia adyuvante son factores relacionados significativamente con la supervivencia global de este tipo de pacientes desde un punto de vista univariante. Hay que tener en cuenta que los modelos ajustados en las Tablas 42 y 25 comparten muchos de los pacientes, por lo que los resultados serán muy parecidos.

Tabla 43. Modelización univariante de la supervivencia global en pacientes con tumor budding

	Vivos	Exitus	HR	IC95%		p
Total	129 (52,0%)	119 (48,0%)				
Tumor budding	(n=129)	(n=119)				0,013
No	57 (57,6%)	42 (42,4%)	(línea base)			
<10 focos	53 (54,6%)	44 (45,4%)	1,100	0,721	1,679	0,658
>=10 focos	19 (36,5%)	33 (63,5%)	1,914	1,212	3,024	0,005
Sexo	(n=129)	(n=119)				0,060

Mujer	62 (60,2%)	41 (39,8%)	(línea base)				
Hombre	67 (46,2%)	78 (53,8%)		1,438	0,985	2,100	
Edad	(n=129)	(n=119)					<0,001
<65	57 (70,4%)	24 (29,6%)	(línea base)				
65-74	40 (51,3%)	38 (48,7%)		1,907	1,143	3,179	0,013
>=75	32 (36,0%)	57 (64,0%)		2,902	1,799	4,682	<0,001
Año diagnóstico	(n=129)	(n=119)					0,558
<2013	24 (45,3%)	29 (54,7%)	(línea base)				
2013-2016	81 (52,6%)	73 (47,4%)		0,813	0,526	1,255	0,350
>2016	24 (58,5%)	17 (41,5%)		0,993	0,540	1,828	0,983
ECOG	(n=129)	(n=119)					<0,001
1	117 (63,9%)	66 (36,1%)	(línea base)				
>=2	12 (18,5%)	53 (81,5%)		4,354	3,009	6,301	
Presencia de pólipos	(n=129)	(n=119)					0,928
No	63 (52,9%)	56 (47,1%)	(línea base)				
Sí	66 (51,2%)	63 (48,8%)		1,017	0,709	1,458	
Clínica	(n=129)	(n=119)					0,008
Asintomáticos	22 (78,6%)	6 (21,4%)	(línea base)				
Sintomáticos	107 (48,6%)	113 (51,4%)		3,048	1,340	6,930	
Localización tumoral	(n=129)	(n=119)					0,339
Colon derecho	54 (49,1%)	56 (50,9%)	(línea base)				
Colon izquierdo	54 (58,1%)	39 (41,9%)		0,757	0,503	1,140	0,183
Recto	21 (46,7%)	24 (53,3%)		1,029	0,638	1,661	0,906
Grado diferenciación	(n=128)	(n=119)					0,075
Bueno	39 (60,0%)	26 (40,0%)	(línea base)				
Moderado	77 (50,0%)	77 (50,0%)		1,431	0,917	2,234	0,115
Pobre	12 (42,9%)	16 (57,1%)		2,035	1,090	3,796	0,026
Patrón crec. tumoral	(n=126)	(n=119)					<0,001
Expansivo	90 (60,0%)	60 (40,0%)	(línea base)				
Infiltrativo	36 (37,9%)	59 (62,1%)		1,990	1,386	2,857	
CMS	(n=119)	(n=109)					0,132
CMS 2-3	87 (55,8%)	69 (44,2%)	(línea base)				
CMS 1	22 (45,8%)	26 (54,2%)		1,460	0,930	2,294	0,100
CMS 4	10 (41,7%)	14 (58,3%)		1,550	0,871	2,756	0,136
	Vivos	Exitus	HR	IC95%		<i>p</i>	
Estado MSI	(n=129)	(n=119)					0,159
MSI-	107 (53,5%)	93 (46,5%)	(línea base)				
MSI+	22 (45,8%)	26 (54,2%)		1,367	0,885	2,113	
Estadio	(n=129)	(n=119)					<0,001
0-I-II	73 (64,6%)	40 (35,4%)	(línea base)				
III	44 (51,2%)	42 (48,8%)		1,562	1,012	2,410	0,044

IV	12 (24,5%)	37 (75,5%)	3,749	2,378	5,909	<0,001
Estadio T	(n=129)	(n=119)				0,001
Tis-T1-T2-T3	105 (57,4%)	78 (42,6%)	(línea base)			
T4	24 (36,9%)	41 (63,1%)	1,900	1,301	2,776	
Estadio N	(n=129)	(n=119)				0,001
N0	78 (62,4%)	47 (37,6%)	(línea base)			
N1-N2	51 (41,5%)	72 (58,5%)	1,918	1,326	2,773	
Estadio M	(n=129)	(n=119)				<0,001
M0	117 (58,8%)	82 (41,2%)	(línea base)			
M1	12 (24,5%)	37 (75,5%)	3,046	2,051	4,523	
Mutación del gen						
KRAS	(n=121)	(n=117)				0,865
No mutado	59 (50,0%)	59 (50,0%)	(línea base)			
Mutado	62 (51,7%)	58 (48,3%)	0,865	0,674	1,393	
Mutación del gen						
NRAS	(n=121)	(n=117)				0,618
No mutado	101 (49,0%)	105 (51,0%)	(línea base)			
Mutado	20 (62,5%)	12 (37,5%)	0,618	0,340	1,123	
Mutación del gen						
BRAF	(n=121)	(n=117)				0,014
No mutado	115 (52,8%)	103 (47,2%)	(línea base)			
Mutado	6 (30,0%)	14 (70,0%)	2,028	1,156	3,559	
Infiltración vascular	(n=129)	(n=119)				<0,001
No	120 (57,1%)	90 (42,9%)	(línea base)			
Sí	9 (23,7%)	29 (76,3%)	2,642	1,731	4,033	
Infiltración linfática	(n=129)	(n=119)				<0,001
No	102 (60,4%)	67 (39,6%)	(línea base)			
Sí	27 (34,2%)	52 (65,8%)	2,138	1,485	3,078	
Infiltración						
perineural	(n=129)	(n=119)				<0,001
No	112 (57,1%)	84 (42,9%)	(línea base)			
Sí	17 (32,7%)	35 (67,3%)	2,058	1,383	3,062	
Inf. macrofágica						
CD163+	(n=72)	(n=72)				0,973
No	9 (45,0%)	11 (55,0%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	33 (50,8%)	32 (49,2%)	0,922	0,464	1,831	0,817
Con ambas formas	30 (50,8%)	29 (49,2%)	0,932	0,465	1,866	0,842
Inf. macrofágica CD14+	(n=74)	(n=70)				0,269
No	5 (31,3%)	11 (68,8%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	35 (54,7%)	29 (45,3%)	0,568	0,283	1,141	0,112
Con ambas formas	34 (53,1%)	30 (46,9%)	0,614	0,307	1,228	0,168
Inmunoscore	(n=53)	(n=51)				0,928

Bajo	42 (50,0%)	42 (50,0%)	(línea base)			
Medio/Alto	11 (55,0%)	9 (45,0%)		0,967	0,470	1,989
Índice de Shannon	(n=18)	(n=27)				0,202
Media (DT)	3,08 (0,30)	3,16 (0,38)		2,222	0,652	7,571
Índice de Simpson						
(x100)	(n=18)	(n=27)				0,982
Media (DT)	91,2 (2,8)	90,9 (4,1)		1,001	0,890	1,127
Índ. Berger-Parker (
x100)	(n=18)	(n=27)				0,505
Media (DT)	19,2 (5,6)	20,7 (8,0)		1,021	0,960	1,086
Tiempo (m) diag.-						
cirugía	(n=129)	(n=118)				0,641
Media (DT)	1,57 (1,93)	1,86 (3,14)		1,014	0,957	1,074
	Vivos	Exitus	HR	IC95%		<i>p</i>
CEA preoperatorio	(n=103)	(n=78)				0,106
Media (DT)	6,14 (19,8)	12,25 (35,6)		1,005	0,999	1,010
Químio. adyuvante	(n=129)	(n=119)				0,005
Sí	67 (45,3%)	81 (54,7%)	(línea base)			
No	62 (62,0%)	38 (38,0%)		1,732	1,177	2,547

Por último, se decide construir un modelo de regresión de Cox multivariante con aquellos factores significativos desde el punto de vista univariante para un nivel de significación del 10%. La Tabla 44 muestra el modelo ajustado sobre los 235 pacientes con información para los 15 factores pronósticos considerados. El sexo masculino del paciente ($p < 0,001$), la edad del paciente mayor o igual a 65 años ($p = 0,005$), la presencia de un ECOG mayor de 1 ($p < 0,001$), una clínica sintomática ($p = 0,005$), un grado de diferenciación moderado o pobre ($p < 0,001$), un patrón de crecimiento tumoral infiltrativo ($p = 0,018$) y la presencia de estadio M1 ($p < 0,001$) son factores relacionados de forma significativa con la supervivencia global de este tipo de pacientes en los que se ha medido el *tumor budding*, mientras que la mutación del gen *BRAF* ($p = 0,060$) roza la significación estadística.

Infiltración vascular				<0,001	0,444
No	(línea base)				
Sí	2,642	1,731	4,033		
Infiltración linfática				<0,001	0,455
No	(línea base)				
Sí	2,138	1,485	3,078		
Infiltración perineural				<0,001	0,798
No	(línea base)				
Sí	2,058	1,383	3,062		
Quimio. adyuvante				0,005	0,508
Sí	(línea base)				
No	1,732	1,177	2,547		

5.3.9 Relación con la supervivencia libre de progresión

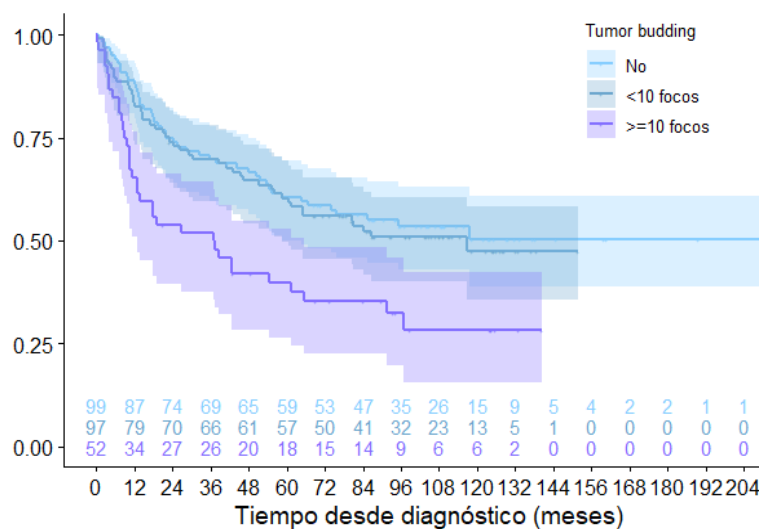
Como se ha visto anteriormente, a lo largo del seguimiento se ha registrado la progresión de la enfermedad y su localización. La Tabla 45 resume la presencia de progresión en los pacientes en los que se ha registrado la presencia o ausencia de *tumor budding* al final del seguimiento. Se observa una mayor incidencia de progresiones en el grupo con 10 o más focos.

Tabla 45. Progresión durante el seguimiento según tumor budding

	Total	No	<10 focos	>=10 focos
Total	248 (100%)	99 (100%)	97 (100%)	52 (100%)
Progresión				
No	178 (71,8%)	79 (79,8%)	73 (75,3%)	26 (50,0%)
Sí	70 (28,2%)	20 (20,2%)	24 (24,7%)	26 (50,0%)
Hepática	23 (9,3%)	3 (3,0%)	9 (9,3%)	11 (21,2%)
Peritoneal	21 (8,5%)	9 (9,1%)	6 (6,2%)	6 (11,5%)
Pulmonar	16 (6,5%)	4 (4,0%)	9 (9,3%)	3 (5,8%)
Ganglionar	5 (2,0%)	3 (3,0%)	0 (0,0%)	2 (3,8%)
Ósea	5 (2,0%)	1 (1,0%)	0 (0,0%)	4 (7,7%)

La Figura 24 muestra las curvas de supervivencia libre de progresión estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos según presencia de *tumor budding*. Se puede ver que la supervivencia libre de progresión del grupo de 10 o más focos es inferior a la de

los otros dos grupos, con diferencias estadísticamente significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,002$), la prueba Log-Rank ($p = 0,003$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,002$). Se obtiene una mediana de supervivencia libre de progresión estimada superior a los 204 meses para los pacientes con ausencia de *tumor budding*, de 116,8 meses para los que tienen *tumor budding* con menos de 10 focos, y de 37,0 meses para los que tienen *tumor budding* con 10 o más focos. En pacientes del grupo con ausencia de *tumor budding* se obtiene una supervivencia libre de progresión estimada del 93,9% (IC95% 87,0-97,2%) a los 6 meses, del 87,9% (IC95% 79,6-92,9%) a los 12 meses, del 74,7% (IC95% 65,0-82,2%) a los 24 meses y del 60,5% (IC95% 50,1-69,3%) a los 60 meses. En pacientes con menos de 10 focos se observa una supervivencia libre de progresión estimada del 89,6% (IC95% 81,6-94,3%) a los 6 meses, del 82,3% (IC95% 73,1-88,6%) a los 12 meses, del 74,0% (IC95% 64,0-81,6%) a los 24 meses y del 60,3% (IC95% 49,7-69,3%) a los 60 meses. En pacientes con 10 o más focos se objetiva una supervivencia libre de progresión estimada del 84,6% (IC95% 71,6-92,0%) a los 6 meses, del 65,4% (IC95% 50,8-76,6%) a los 12 meses, del 53,8% (IC95% 39,5-66,2%) a los 24 meses y del 39,7% (IC95% 26,3-52,7%) a los 60 meses.



Gráfica 24. Supervivencia libre de progresión estimada según presencia de tumor budding

La Tabla 46 muestra el porcentaje de fallecidos y el modelo de regresión univariante de Cox que modeliza la supervivencia libre de progresión para diferentes factores de interés. La presencia de más de 10 focos de *tumor budding*, la edad, el ECOG, la clínica, el grado de diferenciación tumoral, el patrón de crecimiento tumoral, el estadio, el estadio T, el estadio N, el estadio M, la

presencia de mutación del gen *BRAF*, la presencia de infiltración vascular, la presencia de infiltración linfática, la presencia de infiltración perineural, el CEA preoperatorio y la quimioterapia adyuvante son factores relacionados significativamente con la supervivencia libre de progresión de este tipo de pacientes desde un punto de vista univariante.

Tabla 46. Modelización univariante de la SLP en pacientes con tumor budding

	Progresión		HR	IC95%	p	
	Vivos	o Exitus				
Total	120 (48,4%)	128 (51,6%)				
Tumor budding	(n=120)	(n=128)			0,004	
No	53 (53,5%)	46 (46,5%)	(línea base)			
<10 focos	50 (51,5%)	47 (48,5%)	1,084	0,722	1,628	0,697
>=10 focos	17 (32,7%)	35 (67,3%)	2,006	1,291	3,117	0,002
Sexo	(n=120)	(n=128)			0,118	
Mujer	57 (55,3%)	46 (44,7%)	(línea base)			
Hombre	63 (43,4%)	82 (56,6%)	1,334	0,930	1,915	
Edad	(n=120)	(n=128)			0,005	
<65	51 (63,0%)	30 (37,0%)	(línea base)			
65-74	38 (48,7%)	40 (51,3%)	1,529	0,952	2,455	0,079
>=75	31 (34,8%)	58 (65,2%)	2,070	1,331	3,218	0,001
Año diagnóstico	(n=120)	(n=128)			0,451	
<2013	22 (41,5%)	31 (58,5%)	(línea base)			
2013-2016	77 (50,0%)	77 (50,0%)	0,801	0,527	1,218	0,300
>2016	21 (51,2%)	20 (48,8%)	1,017	0,576	1,795	0,953
ECOG	(n=120)	(n=128)			<0,001	
1	108 (59,0%)	75 (41,0%)	(línea base)			
>=2	12 (18,5%)	53 (81,5%)	3,351	2,345	4,787	
Presencia de pólipos	(n=120)	(n=128)			0,392	
No	55 (46,2%)	64 (53,8%)	(línea base)			
Sí	65 (50,4%)	64 (49,6%)	0,859	0,607	1,216	

	Progresión		HR	IC95%	p	
	Vivos	o Exitus				
Clínica	(n=120)	(n=128)			0,029	
Asintomáticos	19 (67,9%)	9 (32,1%)	(línea base)			
Sintomáticos	101 (45,9%)	119 (54,1%)	2,127	1,080	4,190	
Localización tumoral	(n=120)	(n=128)			0,242	
Colon derecho	51 (46,4%)	59 (53,6%)	(línea base)			

Colon izquierdo	51 (54,8%)	42 (45,2%)	0,801	0,539	1,191	0,273
Recto	18 (40,0%)	27 (60,0%)	1,204	0,763	1,899	0,424
Grado diferenciación	(n=119)	(n=128)				0,009
Bien	39 (60,0%)	26 (40,0%)	(línea base)			
Moderado	70 (45,5%)	84 (54,5%)	1,702	1,096	2,645	0,018
Pobre	10 (35,7%)	18 (64,3%)	2,470	1,352	4,512	0,003
Patrón crec. tumoral	(n=117)	(n=128)				<0,001
Expansivo	85 (56,7%)	65 (43,3%)	(línea base)			
Infiltrativo	32 (33,7%)	63 (66,3%)	2,045	1,443	2,899	
CMS	(n=111)	(n=117)				0,133
CMS 2-3	82 (52,6%)	74 (47,4%)	(línea base)			
CMS 1	21 (43,8%)	27 (53,3%)	1,332	0,857	2,070	0,203
CMS 4	8 (33,3%)	16 (66,7%)	1,642	0,955	2,821	0,073
Estado MSI	(n=120)	(n=128)				0,357
MSI-	99 (49,5%)	101 (50,5%)	(línea base)			
MSI+	21 (43,8%)	27 (56,3%)	1,221	0,798	1,868	
Estadio	(n=120)	(n=128)				<0,001
0-I-II	67 (59,3%)	46 (40,7%)	(línea base)			
III	44 (51,2%)	42 (48,8%)	1,325	0,871	2,014	0,188
IV	9 (18,4%)	40 (81,6%)	3,865	2,502	5,972	<0,001
Estadio T	(n=120)	(n=128)				<0,001
Tis-T1-T2-T3	99 (54,1%)	84 (45,9%)	(línea base)			
T4	21 (32,3%)	44 (67,7%)	1,981	1,373	2,857	
Estadio N	(n=120)	(n=128)				0,003
N0	71 (56,8%)	54 (43,2%)	(línea base)			
N1-N2	49 (39,8%)	74 (60,2%)	1,717	1,207	2,442	
Estadio M	(n=120)	(n=128)				<0,001
M0	111 (55,8%)	88 (44,2%)	(línea base)			
M1	9 (18,4%)	40 (81,6%)	3,403	2,317	4,999	
Mutación del gen						
KRAS	(n=112)	(n=126)				0,974
No mutado	55 (46,6%)	63 (53,4%)	(línea base)			
Mutado	57 (47,5%)	63 (52,5%)	0,994	0,701	1,410	
Mutación del gen						
NRAS	(n=112)	(n=126)				0,054
No mutado	92 (44,7%)	114 (55,3%)	(línea base)			
Mutado	20 (62,5%)	12 (37,5%)	0,557	0,307	1,010	
Mutación del gen						
BRAF	(n=112)	(n=126)				0,039
No mutado	107 (49,1%)	111 (50,9%)	(línea base)			
Mutado	5 (25,0%)	15 (75,0%)	1,770	1,030	3,042	
Infiltración vascular	(n=120)	(n=128)				<0,001

No	112 (53,3%)	98 (46,7%)	(línea base)			
Sí	8 (21,1%)	30 (78,9%)		2,688	1,778	4,062
Infiltración linfática	(n=120)	(n=128)				<0,001
No	96 (56,8%)	73 (43,2%)	(línea base)			
Sí	24 (30,4%)	55 (69,6%)		2,192	1,541	3,117
Infiltración perineural	(n=120)	(n=128)				<0,001
No	105 (53,6%)	91 (46,4%)	(línea base)			
Sí	15 (28,8%)	37 (71,2%)		2,152	1,465	3,162
		Progresión				
	Vivos	o Exitus	HR	IC95%		p
Inf. macrofágica						
CD163+	(n=66)	(n=78)				0,645
No	8 (40,0%)	12 (60,0%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	29 (44,6%)	36 (55,4%)		0,955	0,496	1,838
Con ambas formas	29 (49,2%)	30 (50,8%)		0,779	0,398	1,521
Inf. macrofágica CD14+	(n=68)	(n=76)				0,459
No	5 (31,3%)	11 (68,8%)	(línea base)			
Solo forma fusiforme	31 (48,4%)	33 (51,6%)		0,678	0,342	1,345
Con ambas formas	32 (50,0%)	32 (50,0%)		0,655	0,330	1,301
Inmunoscore	(n=48)	(n=56)				0,588
Bajo	37 (44,0%)	47 (56,0%)	(línea base)			
Medio/Alto	11 (55,0%)	9 (45,0%)		0,821	0,402	1,677
Índice de Shannon	(n=17)	(n=28)				0,402
Media (DT)	3,09 (0,30)	3,14 (0,37)		1,644	0,514	5,266
Índice de Simpson						
(x100)	(n=17)	(n=28)				0,699
Media (DT)	91,4 (2,7)	90,8 (4,0)		0,979	0,881	1,088
Índ. Berger-Parker						
(x100)	(n=17)	(n=28)				0,278
Media (DT)	18,7 (5,4)	20,9 (8,0)		1,032	0,975	1,093
Tiempo (m) diag.- cirugía	(n=120)	(n=127)				0,339
Media (DT)	1,56 (1,86)	1,85 (3,11)		1,028	0,971	1,088
CEA preoperatorio	(n=96)	(n=85)				0,031
Media (DT)	5,99 (20,3)	11,90 (34,3)		1,006	1,001	1,012
Quimio. adyuvante	(n=120)	(n=128)				0,039
Sí	56 (56,0%)	44 (44,0%)	(línea base)			
No	64 (43,2%)	84 (56,8%)		1,468	1,019	2,114

Por último, se decide construir un modelo de regresión de Cox multivariante con aquellos factores significativos desde el punto de vista univariante para un nivel de significación del 10%. Del modelo final también hemos eliminado el CEA preoperatorio al tener muchos datos faltantes (sólo se ha recogido en 181 de los 248 pacientes con *tumor budding* recogido). La Tabla 47 muestra el modelo ajustado sobre los 235 pacientes con información para los 15 factores pronósticos considerados. La presencia de una edad elevada ($p = 0,037$), de un ECOG mayor de 1 ($p < 0,001$), de una clínica sintomática ($p = 0,013$), de un grado de diferenciación moderado o pobre ($p = 0,002$), de un patrón infiltrativo ($p = 0,008$) y un estadio M1 ($p < 0,001$) son factores relacionados de forma significativa con la supervivencia libre de progresión en este tipo de pacientes en los que se ha medido su valor respecto al *tumor budding*.

Tabla 47. Modelización multivariante de la SLP en pacientes con *tumor budding*

	Modelos univariantes			Modelo multivariante (n=235)		
	HR	IC95%	<i>p</i>	HR	IC95%	<i>p</i>
Tumor budding			0,001			0,350
No / < 10 focos	(línea base)					
>=10 focos	1,927	1,304 2,846				
Edad			0,005			0,037
<65	(línea base)			(línea base)		
65-74	1,529	0,952 2,455	0,079	1,929	1,167 3,187	0,010
>=75	2,070	1,331 3,218	0,001	1,574	0,944 2,625	0,082
ECOG			<0,001			<0,001
1	(línea base)			(línea base)		
>=2	3,351	2,345 4,787		3,027	1,983 4,620	
	Modelos univariantes			Modelo multivariante (n=235)		
	HR	IC95%	<i>p</i>	HR	IC95%	<i>p</i>
Clínica			0,029			0,013
Asintomáticos	(línea base)			(línea base)		
Sintomáticos	2,127	1,080 4,190		2,444	1,209 4,942	
Grado diferenciación			0,009			0,002
Bueno	(línea base)			(línea base)		
Moderado	1,702	1,096 2,645	0,018	1,753	1,098 2,797	0,019
Pobre	2,470	1,352 4,512	0,003	3,083	1,636 5,810	<0,001
Patrón crec. tumoral			<0,001			0,008
Expansivo	(línea base)			(línea base)		
Infiltrativo	2,045	1,443 2,899		1,658	1,139 2,413	
Estadio T			<0,001			0,951

Tis-T1-T2-T3	(línea base)					
T4		1,981	1,373	2,857		
Estadio N					0,003	0,882
N0	(línea base)					
N1-N2		1,717	1,207	2,442		
Estadio M					<0,001	<0,001
M0	(línea base)					(línea base)
M1		3,403	2,317	4,999		2,798 1,799 4,351
Mutación del gen						
NRAS					0,054	0,283
No mutado	(línea base)					
Mutado		0,557	0,307	1,010		
Mutación del gen						
BRAF					0,039	0,486
No mutado	(línea base)					
Mutado		1,770	1,030	3,042		
Infiltración vascular					<0,001	0,159
No	(línea base)					
Sí		2,688	1,778	4,062		
Infiltración linfática					<0,001	0,127
No	(línea base)					
Sí		2,192	1,541	3,117		
Infiltración perineural					<0,001	0,257
No	(línea base)					
Sí		2,152	1,465	3,162		
Quimio. adyuvante					0,039	0,685
Sí	(línea base)					
No		1,468	1,019	2,114		

5.4. RELACIÓN CON LA INFILTRACIÓN MACROFÁGICA CD163+

Como se ha visto en la Tabla 6, se obtiene información sobre la infiltración macrofágica CD163+ en únicamente 158 de los 255 pacientes incluidos en el estudio, de los cuales 20 no presentaban este tipo de infiltración y 138 sí la presentaban (70 en forma únicamente fusiforme, 5 en forma únicamente redondeada, 61 con ambas formas y 2 en los que no conocíamos la forma).

Se analiza las diferencias existentes en los pacientes con infiltración macrofágica CD163+ según su forma considerando para ellos dos grupos de

pacientes: los 70 con infiltración sólo fusiforme y los 61 con infiltración con ambas formas. Se observa las posibles diferencias respecto a características demográficas básicas, características clínico-patológicas al diagnóstico, infiltración tumoral, el inmunoscore, la microbiota, el tratamiento recibido, así como en la supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

5.4.1. Relación con las características demográficas básicas

La Tabla 48 muestra una comparación de las principales características demográficas según su clasificación. Se observan diferencias estadísticamente significativas en la edad de los pacientes ($p = 0,024$), con mayores edades en los que presentan infiltración con ambas formas respecto a los que presentan infiltración CD163+ de formas solo fusiformes.

Tabla 48. Características demográficas básicas según tipo de infiltración macrofágica CD163+

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Sexo				0,283
Hombres	80 (61,1%)	46 (65,7%)	34 (55,7%)	
Mujeres	51 (38,9%)	24 (34,3%)	27 (44,3%)	
Edad al diagnóstico				0,024
Media (DT)	67,3 (11,9)	65,1 (12,0)	69,8 (11,5)	
Mediana (Mín.-Máx.)	69 (18-88)	68 (18-85)	72 (34-88)	
Menos de 65 años	46 (35,1%)	27 (38,6%)	19 (31,1%)	
65-74 años	44 (33,6%)	28 (40,0%)	16 (26,2%)	
75 años o más	41 (31,3%)	15 (21,4%)	26 (42,6%)	

5.4.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico

La Tabla 49 muestra la relación de algunas características clínicas al diagnóstico de los pacientes con el tipo de infiltración macrofágica CD163+. Se objetiva que la distribución según año de diagnóstico, ECOG, presencia de pólipos y presentación clínica es similar en ambos grupos de pacientes.

Tabla 49. Características al diagnóstico según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Año diagnóstico				0,990
Antes de 2013	41 (31,3%)	22 (31,4%)	19 (31,1%)	
2013-2016	86 (65,6%)	46 (65,7%)	40 (65,6%)	
Después de 2016	4 (3,1%)	2 (2,9%)	2 (3,3%)	
ECOG				0,336
1	98 (74,8%)	56 (80,0%)	42 (68,9%)	
2	23 (17,6%)	10 (14,3%)	13 (21,3%)	
>=3	10 (7,6%)	4 (5,7%)	6 (9,8%)	
Presencia de pólipos				0,999
No	65 (50,0%)	35 (50,7%)	30 (49,2%)	
Sí	65 (50,0%)	34 (49,3%)	31 (50,8%)	
Clínica				0,219
Sintomáticos	120 (91,6%)	62 (88,6%)	58 (95,1%)	
Asintomáticos	11 (8,4%)	8 (11,4%)	3 (4,9%)	

La Tabla 50 muestra las características del tumor colorrectal diagnosticados según el tipo de infiltración macrofágica CD163+. Se observan diferencias estadísticamente significativas en la localización tumoral ($p = 0,010$), con un mayor porcentaje de pacientes con localización en el colon derecho en los que presentan solo formas fusiformes y un mayor porcentaje de pacientes con localización en el colon izquierdo en los que presentan formas fusiformes y redondeadas. Del mismo modo, se observan diferencias estadísticamente significativas en el grado de diferenciación ($p = 0,013$), ya que los que presentan formas solo fusiformes tienen un mayor porcentaje de G1 y G2, mientras que los que presentan ambas formas tienen un mayor porcentaje de G3. También se observan diferencias significativas ($p = 0,003$) respecto a la inestabilidad microsatélites en los que presentan ambas formas, mientras que los que presentan formas solo fusiformes tienen mayor presencia del resto de los subtipos. Por tanto, se obtienen diferencias respecto al estado MSI, con un porcentaje de positivos significativamente mayor ($p < 0,001$) en los que presentan ambas formas.

Tabla 50. Características del tumor colorrectal según tipo de infiltración macrófaga CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Localización tumoral				0,010
Colon derecho	52 (39,7%)	20 (28,6%)	32 (52,5%)	
Colon izquierdo	53 (40,5%)	36 (51,4%)	17 (27,9%)	
Recto	26 (19,8%)	14 (20,0%)	12 (19,7%)	
Grado de diferenciación				0,013
G1	35 (26,7%)	23 (32,9%)	12 (19,7%)	
G2	84 (64,1%)	45 (64,3%)	39 (63,9%)	
G3	12 (9,2%)	2 (2,9%)	10 (16,4%)	
Patrón de crecimiento tumoral				0,350
Expansivo	81 (64,8%)	40 (60,6%)	41 (69,5%)	
Infiltrativo	44 (35,2%)	26 (39,4%)	18 (30,5%)	
Tumor budding				0,198
No	47 (37,9%)	21 (32,3%)	26 (44,1%)	
Sí	77 (62,1%)	44 (67,7%)	33 (55,9%)	
Histología				0,003
Convencional	47 (35,9%)	26 (37,1%)	21 (34,4%)	
Serrado	31 (23,7%)	20 (28,6%)	11 (18,0%)	
Cribiforme tipo comedo	24 (18,3%)	14 (20,0%)	10 (16,4%)	
Inestabilidad microsatélites	20 (15,3%)	3 (4,3%)	17 (27,9%)	
Mucinoso	9 (6,9%)	7 (10,0%)	2 (3,3%)	
Estado MSI				<0,001
MSI-	111 (84,7%)	67 (95,7%)	44 (72,1%)	
MSI+	20 (15,3%)	3 (4,3%)	17 (27,9%)	

La Tabla 51 muestra el estadiaje del tumor colorrectal diagnosticado según el tipo de infiltración macrófaga CD163+ de los pacientes. No se observan diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las características relacionadas con el estadiaje.

Tabla 51. Estadio clínico según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Estadio				0,523
0-I-II	62 (47,3%)	30 (42,9%)	32 (52,5%)	
III	46 (35,1%)	26 (37,1%)	20 (32,8%)	
IV	23 (17,6%)	14 (20,0%)	9 (14,8%)	
Estadio T				0,794
Tis-T1-T2	17 (13,0%)	9 (12,9%)	8 (13,1%)	
T3	79 (60,3%)	44 (62,9%)	35 (57,4%)	
T4	35 (26,7%)	17 (24,3%)	18 (29,5%)	
Estadio N				0,474
N0	64 (48,9%)	31 (44,3%)	33 (54,1%)	
N1	41 (31,3%)	25 (35,7%)	16 (26,2%)	
N2	26 (19,8%)	14 (20,0%)	12 (19,7%)	
Estadio M				0,495
M0	108 (82,4%)	56 (80,0%)	52 (85,2%)	
M1	23 (17,6%)	14 (20,0%)	9 (14,8%)	

La Tabla 52 muestra el resultado de las pruebas de marcadores tumorales el tipo de infiltración macrofágica CD163+ de los pacientes. No existen diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes.

Tabla 52. Pruebas de marcadores tumorales según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Mutación del gen KRAS				0,218
No mutado	65 (50,4%)	31 (44,9%)	34 (56,7%)	
Mutado	64 (49,6%)	38 (55,1%)	26 (43,3%)	
Mutación del gen NRAS				0,999
No mutado	110 (85,3%)	59 (85,5%)	51 (85,0%)	
Mutado	19 (14,7%)	10 (14,5%)	9 (15,0%)	

Mutación del gen			
<i>BRAF</i>			
No mutado	119 (92,2%)	66 (95,7%)	53 (88,3%)
Mutado	10 (7,8%)	3 (4,3%)	7 (11,7%)

0,187

5.4.3 Relación con la infiltración tumoral

La Tabla 53 muestra la infiltración tumoral observada tipo de infiltración macrofágica CD163+. Se observa una relación significativa con el tipo de Infiltración macrofágica CD14+, con una asociación entre las formas de ambas infiltraciones.

Tabla 53. Características de las infiltraciones analizadas según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Infiltración vascular				0,999
No	107 (84,3%)	56 (84,8%)	51 (83,6%)	
Sí	20 (15,7%)	10 (15,2%)	10 (16,4%)	
Infiltración linfática				0,999
No	87 (68,5%)	45 (68,2%)	42 (68,9%)	
Sí	40 (31,5%)	21 (31,8%)	19 (31,1%)	
Infiltración perineural				0,999
No	103 (81,1%)	54 (81,8%)	49 (80,3%)	
Sí	24 (18,9%)	12 (18,2%)	12 (19,7%)	
Infiltración macrofágica CD14+				<0,001
No	8 (6,6%)	4 (6,3%)	4 (6,9%)	
Solo forma fusiforme	57 (46,7%)	44 (68,8%)	13 (22,4%)	
Forma fusiforme y redondeada	57 (46,7%)	16 (25,0%)	41 (70,7%)	

5.4.4 Relación con el subtipo molecular

La Tabla 54 muestra la relación del subtipo molecular de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según el tipo de infiltración macrofágica CD163+. Existe una relación muy significativa ($p = 0,001$) entre ambas características, con una mayor presencia de pacientes con CMS 1 en

los pacientes con ambas formas, mientras que los pacientes con forma solo fusiforme muestran un mayor porcentaje de pacientes con CMS 2-3.

Tabla 54. Subtipo molecular según tipo de infiltración macrófaga CD163+

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Subtipo molecular				0,001
CMS 1	20 (15,9%)	3 (4,5%)	17 (28,3%)	
CMS 2-3	95 (75,4%)	56 (84,8%)	39 (65,0%)	
CMS 4	11 (8,7%)	7 (10,6%)	4 (6,7%)	

5.4.5 Relación con la clasificación Inmunoscore

La Tabla 55 muestra la relación de la clasificación Inmunoscore de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según tipo de infiltración macrófaga CD163+. No existe una relación estadísticamente significativa ($p = 0,282$) entre ambas variables.

Tabla 55. Clasificación Inmunoscore según tipo de infiltración macrófaga CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Inmunoscore				0,282
Bajo	58 (76,3%)	35 (81,4%)	23 (69,7%)	
Medio-Alto	18 (23,7%)	8 (18,6%)	10 (30,3%)	

5.4.6 Relación con la microbiota

Se ha llevado a cabo un estudio de microbiota en 23 de los 131 pacientes incluidos en el estudio con infiltración macrófaga CD163+ solo fusiforme o de ambas formas. La Tabla 56 muestra el género más abundantes y un resumen de los índices de diversidad de Shannon, Simpson y Berger-Parker para los dos grupos de pacientes definidos.

Tabla 56. Microbiota de los pacientes según tipo de infiltración macrofágica CD163+

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas
Total	23 (100%)	13 (100%)	10 (100%)
Género más abundante			
<i>Phocaeicola</i>	7 (30,4%)	5 (38,5%)	2 (20,0%)
<i>Bacteroides</i>	4 (17,4%)	2 (15,4%)	2 (20,0%)
<i>Fusobacterium</i>	2 (8,7%)	2 (15,4%)	0 (0,0%)
<i>Prevotella</i>	3 (13,0%)	2 (15,4%)	1 (10,0%)
<i>Salmonella</i>	2 (8,7%)	1 (7,7%)	1 (10,0%)
<i>Faecalibacterium</i>	2 (8,7%)	1 (7,7%)	1 (10,0%)
<i>Parabacteroides</i>	1 (4,3%)	0 (0,0%)	1 (10,0%)
<i>Akkermansia</i>	1 (4,3%)	0 (0,0%)	1 (10,0%)
<i>Vescimonas</i>	1 (4,3%)	0 (0,0%)	1 (10,0%)
Índice de Shannon			
Media (DT)	3,06 (0,38)	3,02 (0,26)	3,11 (0,50)
Mediana (P25-P75)	3,12 (2,82-3,32)	2,95 (2,83-3,24)	3,25 (2,73-3,52)
Índice de Simpson			
Media (DT)	0,901 (0,041)	0,898 (0,027)	0,905 (0,057)
Mediana (P25-P75)	0,900 (0,879-0,928)	0,898 (0,879-0,916)	0,913 (0,886-0,952)
Índice de Berger-Parker			
Media (DT)	0,218 (0,076)	0,227 (0,062)	0,205 (0,093)
Mediana (P25-P75)	0,223 (0,164-0,270)	0,223 (0,176-0,270)	0,205 (0,119-0,243)

5.4.7 Relación con el tratamiento recibido

La Tabla 57 muestra un resumen de la intención de la cirugía, del tiempo desde diagnóstico a cirugía y de los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio en los pacientes que recibieron cirugía según el tipo de infiltración macrofágica CD163+. No hay diferencias en los aspectos considerados respecto al tratamiento quirúrgico recibido entre los dos grupos de pacientes.

Tabla 57. Tratamiento quirúrgico según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Con cirugía	130 (100%)	69 (100%)	61 (100%)	
Intención				
Curativa	120 (92,3%)	63 (91,3%)	57 (93,4%)	0,749
Paliativa	10 (7,7%)	6 (8,7%)	4 (6,6%)	
Tiempo (meses) desde diag.				
Media (DT)	1,59 (2,98)	1,76 (3,63)	1,40 (2,02)	
Mediana (Mín.-Máx.)	0,97 (0,0-27,5)	0,93 (0,0-27,5)	1,00 (0,0-14,7)	

CEA preoperatorio				0,980
No consta	29 (22,3%)	17 (24,6%)	12 (19,7%)	
Media (DT)	5,05 (6,99)	5,03 (6,33)	5,07 (7,69)	
Mediana (P25-P75)	2,4 (0,5-36.0)	2,4 (0,5-33.4)	2,1 (0,5-36.0)	

La Tabla 58 muestra un resumen del tratamiento de quimioterapia adyuvante en cada uno de los grupos considerados, sin diferencias en el porcentaje de pacientes tratados.

Tabla 58. Tratamiento quimioterapia adyuvante según tipo de infiltración macrofágica CD163+

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)	
Quimioterapia adyuvante				0,586
No	74 (56,5%)	38 (54,3%)	36 (59,0%)	
Sí	57 (43,5%)	32 (45,7%)	25 (41,0%)	
Xelox	48 (84,2%)	29 (90,6%)	19 (76,0%)	
Capecitabina	3 (5,3%)	0 (0,0%)	3 (12,0%)	
Folfox	6 (10,5%)	3 (9,4%)	3 (12,0%)	

5.4.8 Relación con la supervivencia global

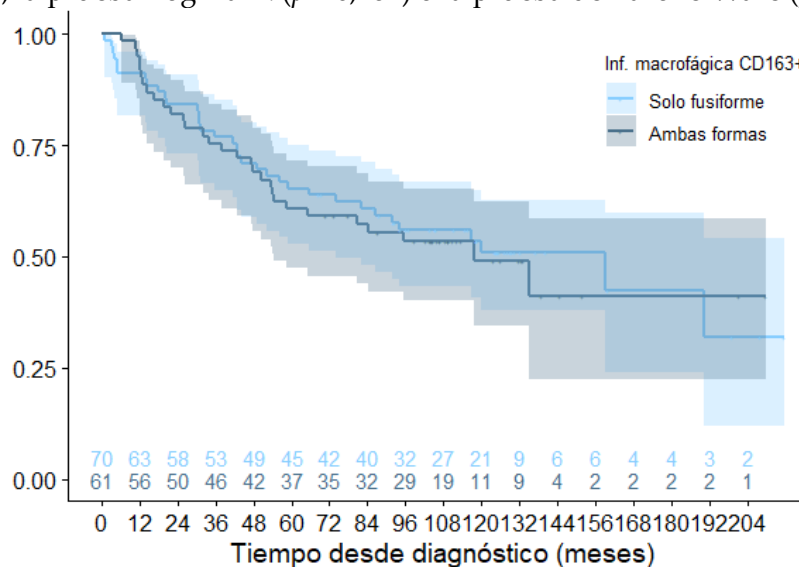
La Tabla 59 resume el estado de los pacientes al final del seguimiento del estudio, describiendo las causas de fallecimiento en aquellos que fallecen durante el mismo.

Tabla 59. Estado en la última visita según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)
Estado última visita			
Vivos	67 (51,1%)	36 (51,4%)	31 (50,8%)
Exitus	64 (48,9%)	34 (48,6%)	30 (49,2%)
Cáncer	31 (23,7%)	17 (24,3%)	14 (23,0%)
Infección	18 (13,7%)	9 (12,9%)	9 (14,8%)
Acc. cardiovascular	6 (4,6%)	4 (5,7%)	2 (3,3%)
Otra neoplasia	1 (0,8%)	0 (0,0%)	1 (1,6%)
Ictus	3 (2,3%)	2 (2,9%)	1 (1,6%)

Cirrosis	1 (0,8%)	0 (0,0%)	1 (1,6%)
No consta	4 (3,1%)	2 (2,9%)	2 (3,3%)

La Figura 25 muestra las curvas de supervivencia global estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos de pacientes considerados. La supervivencia de ambos grupos de pacientes es similar, sin diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,776$), la prueba Log-Rank ($p = 0,787$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,764$).



Gráfica 25. Supervivencia global estimada según tipo de infiltración macrófaga CD163+

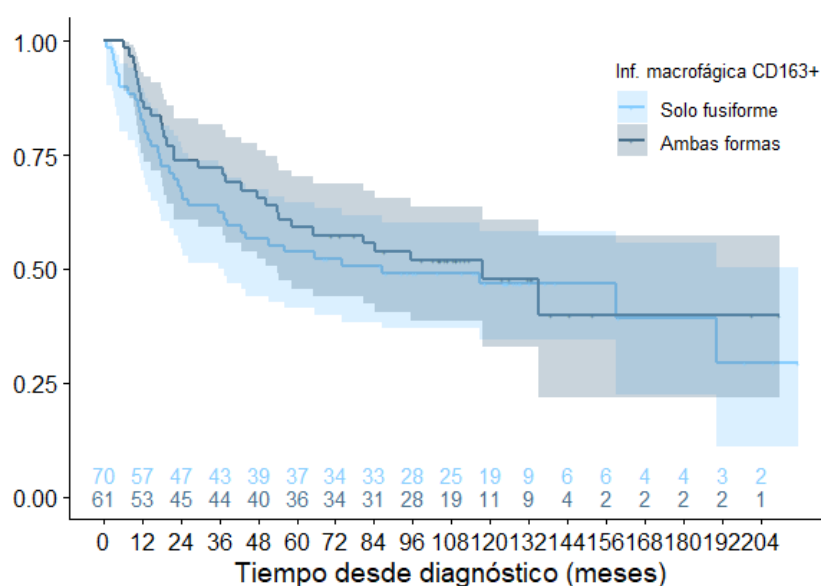
5.4.9 Relación con la supervivencia libre de progresión

Como se comentó anteriormente, a lo largo del seguimiento se ha registrado la posible progresión de los pacientes y su localización. La Tabla 60 resume la presencia de progresión en estos pacientes.

Tabla 60. Progresión durante el seguimiento según tipo de infiltración macrófaga CD163+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas
Total	131 (100%)	70 (100%)	61 (100%)
Progresión			
No	94 (71,8%)	48 (68,6%)	46 (75,4%)
Sí	37 (28,2%)	22 (31,4%)	15 (24,6%)
Hepática	11 (8,4%)	7 (10,0%)	4 (6,6%)
Peritoneal	11 (8,4%)	7 (10,0%)	4 (6,6%)

Pulmonar	9 (6,9%)	6 (8,6%)	3 (4,9%)
Ganglionar	2 (1,5%)	1 (1,4%)	1 (1,6%)
Ósea	4 (3,1%)	1 (1,4%)	3 (4,9%)



Gráfica 26. Supervivencia libre de progresión estimada según tipo de infiltración macrofágica CD163+.

La Figura 26 muestra las curvas de supervivencia libre de progresión estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos considerados. La supervivencia libre de progresión de ambos grupos de pacientes es similar, sin diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,406$), la prueba Log-Rank ($p = 0,595$) o la prueba de Tarone-Ware ($p = 0,492$).

5.5. RELACIÓN CON LA INFILTRACIÓN MACROFÁGICA CD14+

Como se ha visto en la Tabla 6, se obtiene información sobre la infiltración macrofágica CD14+ en únicamente 140 de los 255 pacientes incluidos en el estudio, de los cuales 17 no presentaban este tipo de infiltración y 133 sí la presentaban (66 en forma únicamente fusiforme y 67 con ambas formas).

Se analizan las diferencias existentes en los pacientes con infiltración macrofágica CD163+ según su forma. Se ven las posibles diferencias respecto a características demográficas básicas, características clínico-patológicas al diagnóstico, infiltración tumoral, clasificación inmunoscore, microbiota, tratamiento recibido, así como en la supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

5.5.1. Relación con las características demográficas básicas

La Tabla 61 muestra una comparación de las principales características demográficas según su clasificación, no observándose diferencias estadísticamente significativas en ninguna de ellas.

Tabla 61. Características demográficas básicas según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Sexo				0,720
Hombres	84 (63,2%)	43 (65,2%)	41 (61,2%)	
Mujeres	49 (38,8%)	23 (34,8%)	26 (38,8%)	
Edad al diagnóstico				0,758
Media (DT)	68,1 (10,6)	67,8 (10,1)	68,4 (11,1)	
Mediana (Mín.-Máx.)	69 (34-88)	69 (39-86)	70 (34-88)	
Menos de 65 años	43 (32,3%)	20 (30,3%)	23 (34,3%)	
65-74 años	48 (36,1%)	26 (39,4%)	22 (32,8%)	
75 años o más	42 (31,6%)	20 (30,3%)	22 (32,8%)	

5.5.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico

La Tabla 62 muestra la relación de algunas características clínicas al diagnóstico de los pacientes con el tipo de infiltración macrofágica CD14+. Se observa que la distribución según año de diagnóstico, ECOG, presencia de pólipos y presentación clínica es similar en ambos grupos de pacientes.

Tabla 62. Características al diagnóstico según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
	133			
Total	(100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Año diagnóstico				0,383
Antes de 2013	41 (30,8%)	20 (30,3%)	21 (31,3%)	
2013-2016	87 (65,4%)	45 (68,2%)	42 (62,7%)	
Después de 2016	5 (3,8%)	1 (1,5%)	4 (6,0%)	
ECOG				0,310
	100			
1	(75,2%)	53 (80,3%)	47 (70,1%)	
2	23 (17,3%)	10 (15,2%)	13 (19,4%)	
>=3	10 (7,5%)	3 (4,5%)	7 (10,4%)	
	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Presencia de pólipos				0,490
No	66 (49,6%)	35 (53,0%)	31 (46,3%)	
Sí	67 (50,4%)	31 (47,0%)	36 (53,7%)	
Clínica				0,398
	120			
Sintomáticos	(90,2%)	58 (87,9%)	62 (92,5%)	
Asintomáticos	13 (9,8%)	8 (12,1%)	5 (7,5%)	

La Tabla 63 muestra las características del tumor colorrectal diagnosticados según el tipo de infiltración macrofágica CD14+. Se observan diferencias significativas ($p = 0,015$) respecto al estado de microsatélites, con una mayor presencia de inestabilidad microsatélites en los que presentan ambas formas, mientras que los que presentan formas solo fusiformes tienen mayor presencia del resto de subtipos. Por tanto, se obtienen diferencias respecto al estado MSI, con un porcentaje de positivos significativamente mayor ($p = 0,001$) en los que presentan ambas formas.

Tabla 63. Características del tumor colorrectal según tipo de infiltración macrófaga CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Localización tumoral				0,176
Colon derecho	55 (41,4%)	22 (33,3%)	33 (49,3%)	
Colon izquierdo	53 (39,8%)	30 (45,5%)	23 (34,3%)	
Recto	25 (18,8%)	14 (21,2%)	11 (16,4%)	
Grado de diferenciación				0,192
G1	37 (28,0%)	18 (27,7%)	19 (28,4%)	
G2	83 (62,9%)	44 (67,7%)	39 (58,2%)	
G3	12 (9,1%)	3 (4,6%)	10 (13,4%)	
Patrón de crecimiento tumoral				0,269
Expansivo	85 (65,9%)	39 (60,9%)	46 (70,8%)	
Infiltrativo	44 (34,1%)	25 (39,1%)	19 (29,2%)	
Tumor budding				0,103
No	50 (39,1%)	20 (31,3%)	30 (46,9%)	
Sí	78 (60,9%)	44 (68,8%)	34 (53,1%)	
Histología				0,015
Convencional	47 (35,3%)	25 (37,9%)	22 (32,8%)	
Cribiforme tipo comedo	25 (18,8%)	16 (24,2%)	9 (13,4%)	
Inestabilidad microsátélites	20 (15,0%)	3 (4,5%)	17 (25,4%)	
Mucinoso	10 (7,5%)	6 (9,1%)	4 (6,0%)	
Serrado	31 (23,3%)	16 (24,2%)	15 (22,4%)	
Estado MSI				0,001
MSI-	113 (85,0%)	63 (95,5%)	50 (74,6%)	
MSI+	20 (15,0%)	3 (4,5%)	17 (25,4%)	

La Tabla 64 muestra el estadiaje del tumor colorrectal diagnosticado según el tipo de infiltración macrófaga CD14+, no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 64. Estadio clínico según tipo de infiltración macrófaga CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Estadio				0,799
0-I-II	64 (48,1%)	30 (45,5%)	34 (50,7%)	
III	47 (35,3%)	25 (37,9%)	22 (32,8%)	

IV	22 (16,5%)	11 (16,7%)	11 (16,4%)	
Estadio T				0,413
Tis-T1-T2	21 (15,8%)	12 (18,2%)	9 (13,4%)	
T3	82 (61,7%)	37 (56,1%)	45 (67,2%)	
T4	30 (22,6%)	17 (25,8%)	13 (19,4%)	
Estadio N				0,550
N0	67 (50,4%)	32 (48,5%)	35 (52,2%)	
N1	39 (29,3%)	18 (27,3%)	21 (31,3%)	
N2	27 (20,3%)	16 (24,2%)	11 (16,4%)	
Estadio M				0,999
M0	111 (83,5%)	55 (83,3%)	56 (83,6%)	
M1	22 (16,5%)	11 (16,7%)	11 (16,4%)	

La Tabla 65 muestra el resultado de las pruebas de marcadores tumorales el tipo de infiltración macrofágica CD14+ de los pacientes. Se observa un porcentaje significativamente mayor de pacientes con mutación del gen *BRAF* en los que presentan ambas formas ($p = 0,033$).

Tabla 65. Pruebas de marcadores tumorales según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Mutación del gen <i>KRAS</i>				0,384
No mutado	65 (49,2%)	35 (53,8%)	30 (44,8%)	
Mutado	67 (50,8%)	30 (46,2%)	37 (55,2%)	
Mutación del gen <i>NRAS</i>				0,482
No mutado	111 (84,1%)	53 (81,5%)	58 (86,6%)	
Mutado	21 (15,9%)	12 (18,5%)	9 (13,4%)	
Mutación del gen <i>BRAF</i>				0,033
No mutado	123 (93,2%)	64 (98,5%)	59 (88,1%)	
Mutado	9 (6,8%)	1 (1,5%)	8 (11,9%)	

5.5.3 Relación con la infiltración tumoral

La Tabla 66 muestra la infiltración tumoral observada tipo de infiltración macrofágica CD14+. Como visto anteriormente, se observa una relación

significativa entre las formas de ambos tipos de infiltraciones macrofágicas, de forma que es más frecuente que los pacientes presenten formas iguales (o solo fusiformes o de ambas formas) en ambos tipos.

Tabla 66. Características de las infiltraciones analizadas según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Infiltración vascular				0,467
No	112 (85,5%)	54 (83,1%)	58 (87,9%)	
Sí	19 (14,5%)	11 (16,9%)	8 (12,1%)	
Infiltración linfática				0,707
No	91 (69,5%)	44 (67,7%)	47 (71,2%)	
Sí	40 (30,5%)	21 (32,3%)	19 (28,8%)	
Infiltración perineural				0,999
No	106 (80,9%)	53 (81,5%)	53 (80,3%)	
Sí	25 (19,1%)	12 (18,5%)	13 (19,7%)	
Infiltración macrofágica CD163+				<0,001
No	9 (6,9%)	6 (9,4%)	3 (4,5%)	
Solo forma redondeada	5 (3,8%)	1 (1,6%)	4 (6,1%)	
Solo forma fusiforme	60 (46,2%)	44 (68,8%)	16 (24,2%)	
Forma fusiforme y redondeada	54 (41,5%)	13 (20,3%)	41 (62,1%)	
Sí pero no consta forma	2 (1,5%)	0 (0,0%)	2 (3,0%)	

5.5.4 Relación con el subtipo molecular

La Tabla 67 muestra la relación del subtipo molecular de los pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según el tipo de infiltración macrofágica CD14+. Se refleja que existe una relación significativa ($p = 0,001$) entre ambas características, con una mayor presencia de pacientes con CMS 1 en los pacientes con ambas formas, mientras que los pacientes con forma solo fusiforme muestran un mayor porcentaje de pacientes con CMS 2-3.

Tabla 67. Subtipo molecular según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Subtipo molecular				0,001
CMS 1	20 (15,6%)	3 (4,8%)	17 (26,2%)	
CMS 2-3	93 (72,7%)	49 (77,8%)	44 (67,7%)	
CMS 4	15 (11,7%)	11 (17,5%)	4 (6,2%)	

5.5.5 Relación con la clasificación Inmunoscore

La Tabla 68 muestra la relación de la clasificación inmunoscore de los 82 pacientes en los que se ha valorado esta cuestión con el grupo definido según tipo de infiltración macrofágica CD14+. Se observa un porcentaje mayor de pacientes con inmunoscore medio/alto en los pacientes con ambas formas ($p = 0,015$).

Tabla 68. Clasificación Inmunoscore según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	82 (100%)	41 (100%)	41 (100%)	
Inmunoscore				0,015
Bajo	64 (78,0%)	37 (90,2%)	27 (65,9%)	
Medio-Alto	18 (22,0%)	4 (9,8%)	14 (34,1%)	

5.5.6 Relación con la microbiota

Se ha llevado a cabo un estudio de microbiota en 24 de los 133 pacientes incluidos en el estudio con infiltración macrofágica CD14+ solo fusiforme o de ambas formas. La Tabla 69 muestra el género más abundantes y un resumen de los índices de diversidad de Shannon, Simpson y Berger-Parker para los dos grupos de pacientes definidos.

Tabla 69. Microbiota de los pacientes según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusif. y redondeas
Total	24 (100%)	10 (100%)	14 (100%)
Género más abundante			
<i>Akkermansia</i>	1 (4,2%)	0 (0,0%)	1 (7,1%)
<i>Bacteroides</i>	3 (12,5%)	2 (20,0%)	1 (7,1%)
<i>Faecalibacterium</i>	2 (8,3%)	0 (0,0%)	2 (14,3%)
<i>Fusobacterium</i>	3 (12,5%)	1 (10,0%)	2 (14,3%)
<i>Parabacteroides</i>	1 (4,2%)	0 (0,0%)	1 (7,1%)
<i>Phocaeicola</i>	6 (25,0%)	3 (30,0%)	3 (21,4%)
<i>Porphyromonas</i>	2 (8,3%)	0 (0,0%)	2 (14,3%)
<i>Prevotella</i>	3 (12,5%)	2 (20,0%)	1 (7,1%)
<i>Salmonella</i>	2 (8,3%)	2 (20,0%)	0 (0,0%)
<i>Vescimonas</i>	1 (4,2%)	0 (0,0%)	1 (7,1%)
Índice de Shannon			
Media (DT)	3,13 (0,37)	2,93 (0,24)	3,27 (0,39)
Mediana (P25-P75)	3,15 (2,83-3,34)	2,85 (2,78-3,06)	3,29 (3,12-3,52)
Índice de Simpson			
Media (DT)	0,911 (0,030)	0,893 (0,017)	0,924 (0,031)
Mediana (P25-P75)	0,907 (0,890-0,931)	0,894 (0,882-0,900)	0,919 (0,907-0,952)
Índice de Berger-Parker			
Media (DT)	0,201 (0,063)	0,227 (0,045)	0,183 (0,069)
Mediana (P25-P75)	0,220 (0,163-0,249)	0,223 (0,177-0,270)	0,208 (0,110-0,243)

5.5.7 Relación con el tratamiento recibido

La Tabla 70 muestra un resumen de la intención de la cirugía, del tiempo desde diagnóstico a cirugía y de los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio en los pacientes que recibieron cirugía según el tipo de infiltración macrofágica CD14+. No hay diferencias en los aspectos considerados respecto al tratamiento quirúrgico recibido entre los dos grupos de pacientes.

Tabla 70. Tratamiento quirúrgico según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Con cirugía	132 (100%)	65 (100%)	67 (100%)	
Intención				0,999
Curativa	124 (93,9%)	61 (93,8%)	63 (94,0%)	
Paliativa	8 (6,1%)	4 (6,2%)	4 (6,0%)	
Tiempo (meses) desde diagnóstico				0,188
Media (DT)	1,61 (2,95)	1,96 (3,72)	1,27 (1,90)	
Mediana (Mín.-Máx.)	1,00 (0,0-27,5)	0,97 (0,0-27,5)	1,07 (0,0-14,7)	
CEA preoperatorio				0,573

No consta	30 (22,7%)	15 (23,1%)	15 (22,4%)
Media (DT)	4,34 (6,33)	4,71 (6,53)	3,99 (6,17)
Mediana (P25-P75)	2,15 (0,5-36,0)	2,25 (0,5-33,4)	1,80 (0,5-36,0)

La Tabla 71 muestra un resumen del tratamiento de quimioterapia adyuvante en cada uno de los grupos considerados, sin diferencias en el porcentaje de pacientes tratados.

Tabla 71. Tratamiento quimioterapia adyuvante según tipo de infiltración macrófaga CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas	<i>p</i>
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)	
Quimioterapia adyuvante				0,602
No	74 (55,6%)	35 (53,0%)	39 (58,2%)	
Sí	59 (44,4%)	31 (47,0%)	28 (41,8%)	
Xelox	49 (83,1%)	28 (90,3%)	21 (75,0%)	
Capecitabina	4 (6,8%)	1 (3,2%)	3 (10,7%)	
Folfox	6 (10,2%)	2 (6,5%)	4 (14,3%)	

5.5.8 Relación con la supervivencia global

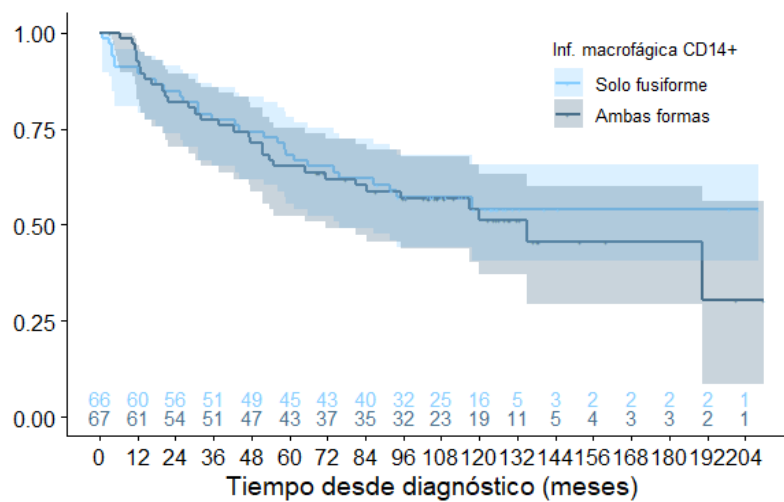
La Tabla 72 resume el estado de los pacientes al final del seguimiento del estudio, describiendo las causas de fallecimiento en aquellos que fallecen durante el mismo.

Tabla 72. Estado en la última visita según tipo de infiltración macrófaga CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeas
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)
Estado última visita			
Vivos	72 (54,1%)	37 (56,1%)	35 (52,2%)
Exitus	61 (45,9%)	29 (43,9%)	32 (47,8%)
Cáncer	28 (21,1%)	11 (1,67%)	17 (25,4%)
Infección	16 (12,0%)	9 (13,6%)	7 (10,4%)
Acc. cardiovascular	6 (4,5%)	3 (4,5%)	3 (4,5%)

Otra neoplasia	2 (1,5%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)
Ictus	4 (3,0%)	2 (3,0%)	2 (3,0%)
Cirrosis	1 (0,8%)	1 (1,5%)	0 (0,0%)
No consta	4 (3,0%)	2 (3,0%)	2 (3,0%)

La Figura 27 muestra las curvas de supervivencia global estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos de pacientes considerados. La supervivencia de ambos grupos es similar, sin diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,893$), Log-Rank ($p = 0,710$) o Tarone-Ware ($p = 0,837$).



Gráfica 27. Supervivencia global estimada según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

5.5.9 Relación con la supervivencia libre de progresión

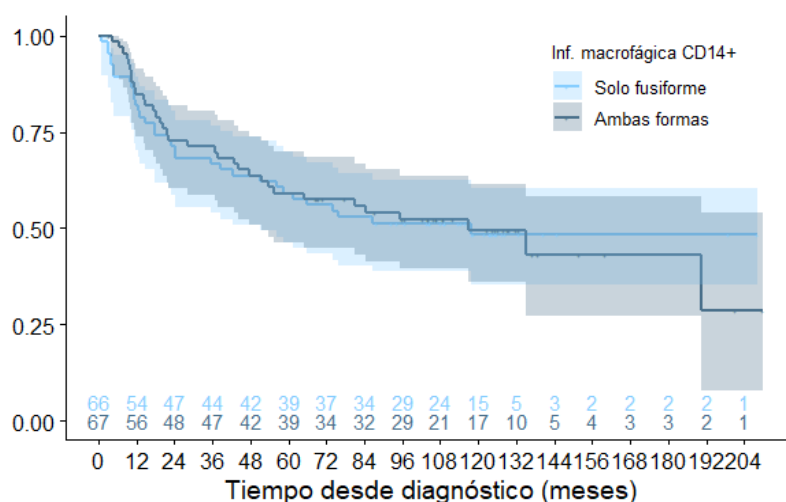
Como se ha comentado anteriormente, a lo largo del seguimiento se ha registrado la posible progresión de los pacientes y su localización. La Tabla 73 resume la presencia de progresión en estos pacientes.

Tabla 73. Progresión durante el seguimiento según tipo de infiltración macrofágica CD14+.

	Total	Solo fusiformes	Fusiformes y redondeadas
Total	133 (100%)	66 (100%)	67 (100%)
Progresión			
No	98 (76,7%)	49 (74,2%)	49 (73,1%)

Sí	35 (26,3%)	17 (25,8%)	18 (26,9%)
Hepática	8 (6,0%)	4 (6,1%)	4 (6,0%)
Peritoneal	11 (8,3%)	5 (7,6%)	6 (9,0%)
Pulmonar	9 (6,8%)	5 (7,6%)	4 (6,0%)
Ganglionar	3 (2,3%)	2 (3,0%)	1 (1,5%)
Ósea	4 (3,0%)	1 (1,5%)	3 (4,5%)

La Figura 28 muestra las curvas de supervivencia libre de progresión estimadas de estos pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier para cada uno de los grupos considerados. La supervivencia libre de progresión es similar, sin diferencias significativas al aplicar la prueba de Breslow ($p = 0,725$), Log-Rank ($p = 0,961$) Tarone-Ware ($p = 0,804$).



Gráfica 28. Supervivencia libre de progresión estimada según tipo de infiltración macrófaga CD14+.

5.6. RELACIÓN CON LA MICROBIOTA

Como se observa en la Tabla 8, únicamente se ha recogido información de la microbiota en 45 pacientes de los 255 pacientes incluidos en el estudio. Se analizan las posibles diferencias respecto a características demográficas básicas, características clínico-patológicas al diagnóstico, infiltración tumoral, clasificación inmunoscore, tratamiento recibido, así como en la supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

5.6.1. Relación con las características demográficas básicas

La Tabla 74 muestra una comparación de los valores de los diferentes índices de diversidad en función del sexo y la edad de los pacientes, no observándose diferencias estadísticamente significativas para ninguna de ellas.

Tabla 74. Microbiota de los pacientes según características demográficas básicas

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Sexo				0,414
Hombres	23 (51,1%)	3,18 (0,35)	3,15 (2,89-3,45)	
Mujeres	22 (48,9%)	3,07 (0,34)	3,13 (2,84-3,27)	
Edad al diagnóstico				0,892
<75 años	23 (51,1%)	3,14 (0,34)	3,12 (2,87-3,33)	
>=75 años	22 (48,9%)	3,10 (0,36)	3,19 (2,87-3,32)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Sexo				0,414
Hombres	23 (51,1%)	0,916 (0,032)	0,921 (0,896-0,946)	
Mujeres	22 (48,9%)	0,904 (0,039)	0,909 (0,886-0,929)	
Edad al diagnóstico				0,540
<75 años	23 (51,1%)	0,910 (0,032)	0,909 (0,879-0,928)	
>=75 años	22 (48,9%)	0,910 (0,040)	0,913 (0,895-0,935)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Sexo				0,296
Hombres	23 (51,1%)	0,189 (0,069)	0,178 (0,124-0,224)	
Mujeres	22 (48,9%)	0,214 (0,072)	0,218 (0,163-0,244)	
Edad al diagnóstico				0,683
<75 años	23 (51,1%)	0,203 (0,071)	0,214 (0,163-0,255)	
>=75 años	22 (48,9%)	0,199 (0,073)	0,192 (0,161-0,243)	

5.6.2. Relación con las características clínico-patológicas al diagnóstico

La Tabla 75 muestra la relación de los diferentes índices de diversidad con algunas características clínicas al diagnóstico de los pacientes. Se objetiva que los valores según año de diagnóstico, ECOG, presencia de pólipos y presentación clínica son similares.

Tabla 75. Microbiota de los pacientes según características al diagnóstico

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Año diagnóstico				0,779
Antes de 2015	17 (37,8%)	3,08 (0,36)	3,18 (2,84-3,33)	
2015 o posterior	28 (62,2%)	3,15 (0,34)	3,15 (2,91-3,32)	
ECOG				0,707
1	32 (71,1%)	3,13 (0,31)	3,13 (2,88-3,30)	
≥2	13 (28,9%)	3,10 (0,43)	3,23 (2,87-3,32)	
Presencia de pólipos				0,561
No	11 (24,4%)	3,08 (0,50)	3,17 (2,78-3,44)	
Sí	34 (75,6%)	3,14 (0,29)	3,15 (2,94-3,32)	
Clínica				0,524
Sintomáticos	42 (93,3%)	3,13 (0,35)	3,16 (2,87-3,33)	
Asintomáticos	3 (6,7%)	3,00 (0,33)	3,10 (2,63-3,27)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Año diagnóstico				0,963
Antes de 2015	17 (37,8%)	0,907 (0,043)	0,914 (0,899-0,925)	
2015 o posterior	28 (62,2%)	0,912 (0,031)	0,910 (0,899-0,934)	
ECOG				0,940
1	32 (71,1%)	0,912 (0,029)	0,911 (0,895-0,928)	
≥2	13 (28,9%)	0,905 (0,050)	0,912 (0,886-0,933)	
Presencia de pólipos				0,673
No	11 (24,4%)	0,901 (0,056)	0,907 (0,876-0,948)	
Sí	34 (75,6%)	0,913 (0,027)	0,913 (0,896-0,931)	
Clínica				0,649
Sintomáticos	42 (93,3%)	0,911 (0,036)	0,913 (0,894-0,933)	
Asintomáticos	3 (6,7%)	0,901 (0,034)	0,909 (0,865-0,931)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Año diagnóstico				0,999
Antes de 2015	17 (37,8%)	0,202 (0,073)	0,198 (0,175-0,224)	
2015 o posterior	28 (62,2%)	0,201 (0,071)	0,207 (0,152-0,249)	
ECOG				0,900
1	32 (71,1%)	0,198 (0,064)	0,201 (0,163-0,234)	
≥2	13 (28,9%)	0,209 (0,088)	0,177 (0,161-0,263)	
Presencia de pólipos				0,812
No	11 (24,4%)	0,204 (0,097)	0,176 (0,112-0,270)	
Sí	34 (75,6%)	0,200 (0,062)	0,201 (0,162-0,243)	
Clínica				0,856
Sintomáticos	42 (93,3%)	0,201 (0,073)	0,199 (0,162-0,244)	
Asintomáticos	3 (6,7%)	0,199 (0,033)	0,214 (0,161-0,222)	

La Tabla 76 muestra los valores de los índices de diversidad según diferentes características del tumor colorrectal diagnosticado. No se observan diferencias estadísticamente significativas en ninguna de ellas.

Tabla 76. Microbiota de los pacientes según características del tumor colorrectal

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Localización tumoral				0,751
Colon derecho	28 (62,2%)	3,14 (0,35)	3,18 (2,94-3,32)	
	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Colon izquierdo	13 (28,9%)	3,11 (0,36)	3,10 (2,87-3,33)	
Recto	4 (8,9%)	3,05 (0,36)	3,03 (2,75-3,35)	
Grado de diferenciación				0,186
G1	15 (33,3%)	3,22 (0,39)	3,21 (2,82-3,46)	
G2	25 (55,6%)	3,04 (0,32)	3,07 (2,87-3,24)	
G3	5 (11,1%)	3,26 (0,26)	3,23 (3,15-3,32)	
Patrón de crecimiento tumoral				0,206
Expansivo	28 (62,2%)	3,08 (0,37)	3,10 (2,86-3,27)	
Infiltrativo	17 (37,8%)	3,20 (0,30)	3,21 (2,95-3,45)	
Tumor budding				0,441
No	15 (33,3%)	3,06 (0,45)	3,12 (2,72-3,27)	
Sí	30 (66,7%)	3,16 (0,29)	3,16 (2,89-3,34)	
Estado MSI				0,764
MSI-	35 (77,8%)	3,13 (0,34)	3,15 (2,84-3,34)	
MSI+	10 (22,2%)	3,10 (0,39)	3,19 (2,95-3,27)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Localización tumoral				0,627
Colon derecho	28 (62,2%)	0,912 (0,038)	0,913 (0,896-0,934)	
Colon izquierdo	13 (28,9%)	0,906 (0,033)	0,909 (0,882-0,925)	
Recto	4 (8,9%)	0,912 (0,030)	0,911 (0,887-0,936)	
Grado de diferenciación				0,164
G1	15 (33,3%)	0,921 (0,032)	0,924 (0,886-0,948)	
G2	25 (55,6%)	0,901 (0,037)	0,907 (0,883-0,925)	
G3	5 (11,1%)	0,925 (0,027)	0,928 (0,899-0,935)	
Patrón de crecimiento tumoral				0,607
Expansivo	28 (62,2%)	0,907 (0,038)	0,907 (0,895-0,929)	
Infiltrativo	17 (37,8%)	0,915 (0,033)	0,924 (0,882-0,939)	
Tumor budding				0,733
No	15 (33,3%)	0,904 (0,047)	0,907 (0,895-0,931)	

Sí	30 (66,7%)	0,913 (0,029)	0,914 (0,886-0,935)	
Estado MSI				0,461
MSI-	35 (77,8%)	0,911 (0,030)	0,909 (0,883-0,929)	
MSI+	10 (22,2%)	0,907 (0,053)	0,921 (0,899-0,933)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Localización tumoral				0,627
Colon derecho	28 (62,2%)	0,198 (0,073)	0,193 (0,152-0,243)	
Colon izquierdo	13 (28,9%)	0,214 (0,072)	0,222 (0,175-0,255)	
Recto	4 (8,9%)	0,183 (0,062)	0,170 (0,144-0,223)	
Grado de diferenciación				0,120
G1	15 (33,3%)	0,174 (0,067)	0,169 (0,112-0,224)	
G2	25 (55,6%)	0,221 (0,067)	0,218 (0,175-0,263)	
G3	5 (11,1%)	0,181 (0,082)	0,200 (0,120-0,222)	
Patrón de crecimiento tumoral				0,797
Expansivo	28 (62,2%)	0,204 (0,068)	0,201 (0,163-0,243)	
Infiltrativo	17 (37,8%)	0,196 (0,078)	0,187 (0,124-0,243)	
Tumor budding				0,904
No	15 (33,3%)	0,206 (0,076)	0,200 (0,162-0,255)	
Sí	30 (66,7%)	0,198 (0,069)	0,206 (0,142-0,243)	
Estado MSI				0,913
MSI-	35 (77,8%)	0,200 (0,067)	0,198 (0,163-0,244)	
MSI+	10 (22,2%)	0,206 (0,089)	0,201 (0,161-0,243)	

La Tabla 77 muestra los valores de los índices de diversidad en función del estadiaje del tumor colorrectal diagnosticado, no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 77. Microbiota de los pacientes según estadio clínico

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	p
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Estadio				0,627
0-I-II	20 (44,4%)	3,20 (0,35)	3,16 (3,00-3,39)	
III-IV	18 (40,0%)	3,05 (0,38)	3,16 (2,78-3,27)	
IV	7 (15,6%)	3,11 (0,24)	3,12 (2,87-3,31)	
Estadio T				0,491
Tis-T1-T2	5 (11,1%)	3,05 (0,55)	2,87 (2,82-3,03)	
T3	27 (60,0%)	3,12 (0,34)	3,15 (2,87-3,33)	
T4	13 (28,9%)	3,17 (0,28)	3,19 (2,95-3,27)	
Estadio N				0,902

N0	22 (48,9%)	3,19 (0,34)	3,16 (2,94-3,45)	
N1	11 (24,4%)	3,07 (0,30)	3,12 (2,78-3,24)	
N2	12 (26,7%)	3,05 (0,39)	3,16 (2,84-3,29)	
Estadio M				0,950
M0	38 (84,4%)	3,13 (0,37)	3,16 (2,87-3,33)	
M1	7 (15,6%)	3,11 (0,24)	3,12 (2,87-3,31)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Estadio				0,540
0-I-II	20 (44,4%)	0,918 (0,027)	0,915 (0,899-0,933)	
III	18 (40,0%)	0,904 (0,045)	0,909 (0,882-0,931)	
IV	7 (15,6%)	0,903 (0,032)	0,897 (0,879-0,933)	
Estadio T				0,833
Tis-T1-T2	5 (11,1%)	0,909 (0,035)	0,900 (0,895-0,907)	
T3	27 (60,0%)	0,909 (0,038)	0,912 (0,894-0,933)	
T4	13 (28,9%)	0,914 (0,032)	0,928 (0,882-0,931)	
Estadio N				0,538
N0	22 (48,9%)	0,918 (0,027)	0,915 (0,898-0,939)	
N1	11 (24,4%)	0,903 (0,033)	0,897 (0,869-0,929)	
N2	12 (26,7%)	0,903 (0,050)	0,915 (0,887-0,932)	
Estadio M				0,434
M0	38 (84,4%)	0,912 (0,037)	0,913 (0,895-0,931)	
M1	7 (15,6%)	0,903 (0,032)	0,897 (0,879-0,933)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Estadio				0,409
0-I-II	20 (44,4%)	0,188 (0,057)	0,199 (0,153-0,229)	
III	18 (40,0%)	0,202 (0,080)	0,198 (0,161-0,243)	
IV	7 (15,6%)	0,235 (0,081)	0,270 (0,162-0,300)	
Estadio T				0,868
Tis-T1-T2	5 (11,1%)	0,192 (0,073)	0,223 (0,164-0,233)	
T3	27 (60,0%)	0,205 (0,068)	0,214 (0,162-0,243)	
T4	13 (28,9%)	0,197 (0,082)	0,175 (0,161-0,270)	
Estadio N				0,424
N0	22 (48,9%)	0,190 (0,061)	0,199 (0,142-0,233)	
N1	11 (24,4%)	0,218 (0,071)	0,222 (0,169-0,276)	
N2	12 (26,7%)	0,206 (0,089)	0,177 (0,161-0,246)	
Estadio M				0,188
M0	38 (84,4%)	0,195 (0,068)	0,199 (0,161-0,233)	
M1	7 (15,6%)	0,235 (0,081)	0,270 (0,162-0,300)	

La Tabla 78 resume los valores de los índices de diversidad en función del resultado de las pruebas de marcadores tumorales, sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 78. Microbiota de los pacientes según resultado de las pruebas de marcadores tumorales

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Mutación del gen KRAS				0,750
No mutado	21 (46,7%)	3,12 (0,37)	3,18 (2,87-3,32)	
Mutado	24 (53,3%)	3,13 (0,33)	3,12 (2,88-3,32)	
Mutación del gen NRAS				0,968
No mutado	41 (91,1%)	3,13 (0,33)	3,15 (2,87-3,32)	
Mutado	4 (8,9%)	3,12 (0,22)	3,16 (2,98-3,26)	
Mutación del gen BRAF				0,285
No mutado	39 (86,7%)	3,12 (0,32)	3,12 (2,87-3,33)	
Mutado	6 (13,3%)	3,15 (0,52)	3,27 (3,23-3,32)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Mutación del gen KRAS				0,666
No mutado	21 (46,7%)	0,910 (0,042)	0,914 (0,897-0,928)	
Mutado	24 (53,3%)	0,911 (0,030)	0,909 (0,884-0,934)	
Mutación del gen NRAS				0,523
No mutado	41 (91,1%)	0,909 (0,037)	0,909 (0,886-0,933)	
Mutado	4 (8,9%)	0,920 (0,010)	0,922 (0,911-0,928)	
Mutación del gen BRAF				0,713
No mutado	39 (86,7%)	0,912 (0,029)	0,909 (0,886-0,933)	
Mutado	6 (13,3%)	0,900 (0,068)	0,921 (0,898-0,931)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Mutación del gen KRAS				0,633
No mutado	21 (46,7%)	0,199 (0,078)	0,198 (0,161-0,243)	
Mutado	24 (53,3%)	0,203 (0,066)	0,218 (0,162-0,243)	
Mutación del gen NRAS				0,264
No mutado	41 (91,1%)	0,204 (0,074)	0,214 (0,162-0,241)	
Mutado	4 (8,9%)	0,170 (0,023)	0,170 (0,153-0,187)	
Mutación del gen BRAF				0,526
No mutado	39 (86,7%)	0,197 (0,065)	0,198 (0,162-0,243)	
Mutado	6 (13,3%)	0,231 (0,104)	0,221 (0,161-0,284)	

5.6.3 Relación con la infiltración tumoral

La Tabla 79 resume los valores de los índices de diversidad en función de la infiltración tumoral observada. No se observan diferencias significativas para ninguno de los tres índices.

Tabla 79. Microbiota de los pacientes según infiltraciones analizadas

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Infiltración vascular				0,835
No	37 (82,2%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,31)	
Sí	8 (17,8%)	3,13 (0,36)	3,11 (2,86-3,40)	
Infiltración linfática				0,866
No	30 (66,6%)	3,12 (0,37)	3,13 (2,87-3,32)	
Sí	15 (33,3%)	3,13 (0,30)	3,17 (2,84-3,34)	
Infiltración perineural				0,137
No	33 (73,3%)	3,17 (0,38)	3,19 (2,89-3,44)	
Sí	12 (26,7%)	3,01 (0,22)	2,95 (2,84-3,20)	
Infiltración macrofágica CD163+				0,862
No	5 (17,2%)	3,09 (0,36)	2,94 (2,84-3,21)	
Sí	24 (82,8%)	3,07 (0,37)	3,15 (2,83-3,33)	
Infiltración macrofágica CD14+				0,844
No	4 (14,3%)	2,99 (0,64)	3,07 (2,54-3,44)	
Sí	24 (85,7%)	3,13 (0,37)	3,15 (2,83-3,34)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Infiltración vascular				0,953
No	37 (82,2%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,895-0,929)	
Sí	8 (17,8%)	0,911 (0,038)	0,913 (0,880-0,938)	
Infiltración linfática				0,885
No	30 (66,6%)	0,910 (0,038)	0,911 (0,895-0,929)	
Sí	15 (33,3%)	0,911 (0,032)	0,912 (0,879-0,935)	
Infiltración perineural				0,095
No	33 (73,3%)	0,914 (0,038)	0,921 (0,896-0,939)	
Sí	12 (26,7%)	0,899 (0,025)	0,903 (0,878-0,920)	
Infiltración macrofágica CD163+				0,453
No	5 (17,2%)	0,919 (0,027)	0,907 (0,907-0,924)	
Sí	24 (82,8%)	0,902 (0,041)	0,903 (0,881-0,927)	
Infiltración macrofágica CD14+				0,793
No	4 (14,3%)	0,890 (0,086)	0,915 (0,837-0,944)	
Sí	24 (85,7%)	0,911 (0,030)	0,907 (0,890-0,931)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Infiltración vascular				0,593
No	37 (82,2%)	0,203 (0,070)	0,200 (0,163-0,244)	
Sí	8 (17,8%)	0,192 (0,078)	0,197 (0,142-0,222)	
Infiltración linfática				0,904
No	30 (66,6%)	0,200 (0,071)	0,199 (0,162-0,244)	
Sí	15 (33,3%)	0,204 (0,074)	0,218 (0,161-0,243)	
Infiltración perineural				0,182
No	33 (73,3%)	0,192 (0,072)	0,178 (0,142-0,243)	
Sí	12 (26,7%)	0,226 (0,063)	0,220 (0,189-0,256)	
Infiltración macrofágica CD163+				0,225

No	5 (17,2%)	0,179 (0,059)	0,203 (0,178-0,218)	0,743
Sí	24 (82,8%)	0,218 (0,074)	0,224 (0,170-0,266)	
Infiltración macrofágica CD14+				
No	4 (14,3%)	0,214 (0,134)	0,191 (0,128-0,300)	
Sí	24 (85,7%)	0,201 (0,063)	0,220 (0,163-0,249)	

5.6.4 Relación con el subtipo molecular

La Tabla 80 resume los valores de los índices de diversidad en función del subtipo molecular de los pacientes, no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 80. Microbiota de los pacientes según subtipo molecular

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	0,883
Subtipo molecular				
CMS 1-4	11 (26,8%)	3,07 (0,39)	3,15 (2,94-3,27)	
CMS 2-3	30 (73,2%)	3,15 (0,35)	3,16 (2,87-3,34)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	0,837
Subtipo molecular				
CMS 1-4	11 (26,8%)	0,906 (0,051)	0,914 (0,897-0,933)	
CMS 2-3	30 (73,2%)	0,914 (0,029)	0,914 (0,895-0,929)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	0,814
Subtipo molecular				
CMS 1-4	11 (26,8%)	0,207 (0,084)	0,203 (0,161-0,243)	
CMS 2-3	30 (73,2%)	0,191 (0,059)	0,182 (0,163-0,233)	

5.6.5 Relación con la clasificación Inmunoscore

La Tabla 81 muestra la relación de los índices de diversidad con clasificación inmunoscore, no observándose significación estadística con ninguno de ellos.

Tabla 81. Microbiota de los pacientes según clasificación Inmunoscore

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	0,715
Inmunoscore				
Bajo	20 (87,0%)	3,05 (0,31)	3,07 (2,85-3,22)	
Medio-Alto	3 (13,0%)	2,99 (0,74)	3,31 (2,12-3,52)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	0,584
Inmunoscore				
Bajo	20 (87,0%)	0,903 (0,027)	0,899 (0,883-0,918)	

Medio-Alto	3 (13,0%)	0,884 (0,102)	0,933 (0,767-0,952)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Inmunoscore				0,648
Bajo	20 (87,0%)	0,212 (0,061)	0,223 (0,176-0,259)	
Medio-Alto	3 (13,0%)	0,220 (0,156)	0,162 (0,102-0,397)	

5.6.6 Relación con el tratamiento recibido

La Tabla 82 muestra un resumen de los índices de diversidad respecto a la intención de la cirugía en los pacientes que recibieron cirugía no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 82. Microbiota de los pacientes según tratamiento quirúrgico recibido

	Total	Media (DI)	Mediana (P25-P75)	<i>p</i>
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Intención quirúrgica				0,613
Curativa	40 (88,9%)	3,12 (0,36)	3,15 (2,86-3,33)	
Paliativa	5 (11,1%)	3,17 (0,25)	3,24 (2,95-3,31)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Intención quirúrgica				0,971
Curativa	40 (88,9%)	0,910 (0,036)	0,910 (0,894-0,930)	
Paliativa	5 (11,1%)	0,909 (0,037)	0,925 (0,883-0,933)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Intención quirúrgica				0,718
Curativa	40 (88,9%)	0,199 (0,069)	0,201 (0,162-0,243)	
Paliativa	5 (11,1%)	0,220 (0,094)	0,176 (0,162-0,300)	

En la Tabla 83 se puede ver la relación entre los índices de diversidad y el tiempo desde diagnóstico a cirugía y los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio en los pacientes que recibieron cirugía, no observándose significación estadística para ninguno de los coeficientes de correlación estimados.

Tabla 83. Relación entre la microbiota de los pacientes y características quirúrgicas

	Tiempo (meses) desde diag.	CEA preoperatorio
Índice de Shannon	-0,198 ($p = 0,193$)	-0,172 ($p = 0,331$)
Índice de Simpson	0,060 ($p = 0,696$)	0,188 ($p = 0,218$)
Índice de Berger-Parker	-0,156 ($p = 0,305$)	-0,217 ($p = 0,334$)

La Tabla 84 muestra un resumen de los índices de diversidad respecto al tratamiento de quimioterapia adyuvante, sin diferencias en el porcentaje de pacientes tratados.

Tabla 84. Microbiota de los pacientes según tratamiento quimioterapia adyuvante

	Total	Media (DT)	Mediana (P25-P75)	Total
Índice de Shannon	45 (100%)	3,12 (0,35)	3,15 (2,87-3,32)	
Quimioterapia adyuvante				0,380
No	29 (64,4%)	3,15 (0,38)	3,18 (2,94-3,32)	
Sí	16 (35,6%)	3,07 (0,29)	3,13 (2,84-3,28)	
Índice de Simpson	45 (100%)	0,910 (0,036)	0,912 (0,894-0,931)	
Quimioterapia adyuvante				0,319
No	29 (64,4%)	0,912 (0,040)	0,914 (0,895-0,933)	
Sí	16 (35,6%)	0,907 (0,028)	0,903 (0,881-0,928)	
Índice de Berger-Parker	45 (100%)	0,201 (0,071)	0,200 (0,162-0,243)	
Quimioterapia adyuvante				0,407
No	29 (64,4%)	0,197 (0,076)	0,187 (0,161-0,243)	
Sí	16 (35,6%)	0,209 (0,064)	0,220 (0,169-0,263)	

5.6.7 Relación con la supervivencia global

La Tabla 85 resume el estado de los pacientes al final del seguimiento del estudio, así como el efecto de los índices de diversidad en la supervivencia global.

Tabla 85. Supervivencia global según su microbiota

	Vivos (n=18)	Exitus (n=27)	HR	IC95%	p
Índice de Shannon					0,202
Media (DT)	3,08 (0,30)	3,16 (0,38)	2,222	0,652 7,571	
Índice de Simpson (x100)					0,982
Media (DT)	91,2 (2,8)	90,9 (4,1)	1,001	0,890 1,127	
Índ. Berger-Parker (x100)					0,505

Media (DT)	19,2 (5,6)	20,7 (8,0)	1,021	0,960	1,086
------------	------------	------------	-------	-------	-------

5.6.8 Relación con la supervivencia libre de progresión

La Tabla 86 resume el estado de los pacientes respecto a la progresión, así como el efecto de los índices de diversidad en la supervivencia libre de progresión.

Tabla 86. Supervivencia libre de progresión según su microbiota

	Progresión o		HR	IC95%	<i>p</i>
	Vivos	Exitus			
Índice de Shannon	(n=17)	(n=28)			0,496
Media (DT)	3,09 (0,30)	3,14 (0,37)	1,486	0,477	4,615
Índice de Simpson (x100)	(n=17)	(n=28)			0,699
Media (DT)	91,4 (2,7)	90,8 (4,0)	0,979	0,881	1,088
Índ. Berger-Parker (x100)	(n=17)	(n=28)			0,278
Media (DT)	18,7 (5,4)	20,9 (7,9)	1,032	0,975	1,093

VI - DISCUSIÓN

VI - DISCUSIÓN

El presente trabajo estudió las relaciones existentes entre los subtipos moleculares y variables clínicas y patológicas en pacientes con carcinoma colorrectal en particular el *tumor budding*, y de forma exploratoria, con el inmunoscore, la infiltración por macrófagos y la microbiota. De esta manera, se analizó una cohorte de 255 pacientes con diagnóstico de CCR en estadios mayoritariamente localizados y con un seguimiento medio de al menos 5 años.

6.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS

La mediana de edad fue de 68.7 años con un ligero predominio masculino (57.6%), siendo estos datos muy similares a los de los registros internacionales donde se observa una incidencia mayor en pacientes entre los 55-74 años y una ligera mayor incidencia en hombres⁽¹⁹⁶⁾.

Al igual que en otras publicaciones, en cuanto a presentación clínica, los síntomas más comunes encontrados en el presente estudio fueron sangrado (33.7%), anemia (23.9%) y dolor (15.7%) seguidos de alteración del tránsito intestinal (15.3%)⁽³⁰⁻³²⁾.

Alrededor de un 51.8% de los pacientes presentaban antecedentes de pólipos resecaados, o se detectaron pólipos sincrónicos durante la colonoscopia diagnóstica, dato no inusual ya que en distintas series se han reportado presencia de pólipos sincrónicos en torno a un 20-30% de pacientes diagnosticados de CCR⁽¹⁹⁷⁾. En el presente estudio el porcentaje si fue mayor, aunque esto podría estar justificado por el hecho que se han incluido pacientes con antecedentes de pólipos resecaados.

Anatómicamente, la localización del primario mostró una frecuencia de 44.3% en colon derecho, 36.9% en colon izquierdo y 18.8% en recto. Esta distribución se corresponde a otras series publicadas donde los porcentajes incluyen 43.6% para colon derecho y 56.4% para colon izquierdo y recto analizados en conjunto⁽¹⁹⁸⁾.

Se administró tratamiento adyuvante al 40,8% de los pacientes, predominantemente utilizando el régimen CAPOX, que combina capecitabina y oxaliplatino⁽¹⁹⁹⁾. La eficacia del régimen CAPOX en el cáncer de colon en estadio III, como lo destacan Twelves *et al.*⁽¹⁹⁹⁾, demuestra un equilibrio entre efectividad y toxicidad manejable.

6.2 CARACTERIZACIÓN PATOLÓGICA

6.2.1 Histología

La mayoría de los tumores fueron adenocarcinomas convencionales (34.5%), seguido de serrados (24.7%), comedo-cribiforme (16.5%) y mucinoso (7.8%). También se incluyó como una variante histológica a los MSI (16.5%). El porcentaje de pacientes en cada variante histológica en el presente estudio no se puede trasladar a la población general ya que fueron seleccionados con la intención de realizar un análisis exploratorio de relación con el resto de las variables inmunológicas y moleculares.

6.2.2 Invasión Linfocelular y Perineural

Se evaluó la invasión linfocelular y perineural observándose su presencia en 46.7% y 20.8% respectivamente, reflejando su correlación significativa con estadios más avanzados y mayor riesgo de recaída, en línea con su conocido valor pronóstico independiente^(200,201).

6.2.3 Patrón de Crecimiento Tumoral

Otro factor morfológico estudiado fue el patrón de crecimiento tumoral, encontrando en la presente serie un 58.8% de pacientes con crecimiento expansivo y un 38% infiltrativo. Destaca que la mayoría de los tumores MSI muestran márgenes expansivos, mientras que los adenocarcinomas convencionales presentan crecimiento infiltrativo. Estos hallazgos sugieren, en concordancia con la literatura, que los MSI, al ser mucho más inmunogénicos y con mayor

infiltración linfoide presentan mejor pronóstico al evitarse por dicha inflamación, la infiltración del tejido tumoral en el estroma circundante⁽²⁰²⁻²⁰⁴⁾.

6.2.4 Tumor Budding

Un hallazgo relevante fue la evaluación del *tumor budding* (TB), definido por la presencia de células tumorales individuales o pequeños grupos de hasta 4 células en el frente invasivo del CRC. Se emplearon tres categorías clínicas para su estratificación: <10, 10–19 y ≥20 focos, siguiendo criterios previamente utilizados por Ueno *et al.*⁽¹⁹³⁾, con el objetivo de identificar grupos pronósticos diferenciados. Aunque estos puntos de corte no están completamente estandarizados, se adaptaron según la distribución observada en este estudio.

En la presente cohorte, el TB no se asoció de forma estadísticamente significativa con variables como el sexo, edad al diagnóstico, ECOG, presencia de pólipos ni clínica de presentación, pero si se observó que se asocia a parámetros clínico-patológicos más adversos. Se ha observado que el TB alto se presentó con mayor frecuencia en estadios avanzados (pT3-T4/N+) que aquellos con TB bajo como esperable y observado en otros estudios⁽²⁰⁵⁾. Se objetivó también asociaciones estadísticamente significativas con respecto a la lateralidad, con mayor presencia de TB alto en colon izquierdo, hallazgo que concuerda con datos publicados⁽²⁰⁶⁾. La histología y el patrón de crecimiento también han demostrado una asociación estadísticamente significativa en concordancia con datos publicados, encontrando menor TB en pacientes MSI y con crecimiento expansivo, y mayor grado de TB en pacientes con histología serrada y en aquellos con invasión linfovascular y perineural demostrando su asociación con un perfil de CRC más agresivo.

En la presente serie, el grado de diferenciación también guardó relación con el TB, los adenocarcinomas pobremente diferenciados presentaron con mayor frecuencia TB en el borde infiltrativo. Nuevamente, esto es consistente con la literatura, que reporta una asociación significativa entre TB y tumores de alto grado, cuestión que podría reflejar en parte la pérdida de cohesión celular y diferenciación glandular, característica de los carcinomas de alto grado⁽²⁰⁷⁾.

En cuanto a las alteraciones moleculares, los pacientes de esta cohorte con mutaciones activadoras en la vía RAS/RAF mostraron mayor propensión a

presentar TB, específicamente mutaciones en *KRAS*. Adicionalmente, en la presente serie limitada de casos con mutaciones del *BRAF*, también se objetivó una tendencia a mayor TB; si bien el número de pacientes con mutaciones en *BRAF* (*BRAFm*) era bajo, es notable que otros autores hayan encontrado dicha correlación, sugiriendo que estas vías oncogénicas podrían estar involucradas en la regulación del proceso de *budding* o gemación^(205,207). Cabe destacar, como se ha demostrado tanto en la literatura previamente, como en el presente estudio de forma estadísticamente significativa, que las mutaciones *BRAF* suelen asociarse a dos contextos biológicos distintos, el primero a tumores MSI/CMS1 (con intensa respuesta inmune, donde el TB es bajo) y segundo a tumores MSS/CMS4 con fenotipo muy agresivo (donde el TB tiende a ser alto)^(208,209). Los datos del presente estudio apuntan a que son estos últimos (*BRAF* mutado MSS) los que exhiben TB alto, congruente con su mal pronóstico intrínseco. En conjunto, la conexión entre TB y mutaciones de la vía EGFR-RAS-MAPK refuerza la noción de que la biología intrínseca pro-tumorigénica (vía RAS/RAF activada) favorece un patrón histológico infiltrativo.

Como ya se mencionó previamente, otro hallazgo del presente estudio fue la relación del TB con invasión linfovascular y perineural. En particular, la invasión linfática (embolización de células tumorales en vasos linfáticos) se documentó de forma significativa en los casos de TB alto en comparación con aquellos de TB bajo. De modo semejante, la invasión venosa y la invasión perineural fueron hallazgos marcadamente más comunes en los carcinomas con presencia de TB. Estos datos respaldan la noción de que el TB refleja un fenotipo altamente invasivo a nivel loco-regional. La literatura es consistente con esta observación⁽²⁰⁸⁾. Prácticamente todos los tumores de esta serie con TB de >10 focos por campo presentaban al menos uno de estos factores de invasión loco-regional, mientras que aquellos con TB ausente o bajo rara vez mostraron invasión vasculolinfática o perineural. Un punto destacable es la relación entre TB, invasión linfática y metástasis ganglionar. El *tumor budding* se ha propuesto como un indicador morfológico de la capacidad de un tumor de desprender células viables que pueden migrar por vasos linfáticos al tejido ganglionar. De hecho, en aquellos tumores pT1, la presencia de TB alto se utiliza como factor de alto riesgo de metástasis ganglionar oculta, guiando la necesidad de una linfadenectomía

más extensa. Los presentes datos en enfermedad más avanzada sugieren que, incluso en tumores ya resecaados, la confluencia de TB alto con invasión linfática explica en gran medida la presencia de diseminación ganglionar. Esto se alinea con publicaciones recientes: Inagaki *et al.*⁽²¹⁰⁾ evaluaron específicamente el frente invasivo en pacientes con cáncer colorrectal submucoso y encontraron que una elevada densidad de macrófagos M2 en dicho frente, como se discutirá más adelante, se correlacionaba fuertemente con invasión linfovascular y con metástasis a ganglios linfáticos regionales.

Otro claro patrón observado, aunque no estadísticamente significativa, fue la relación entre el TB y la infiltración inmunitaria determinadas por el inmunoscore y la presencia de macrófagos asociados al tumor (TAMs). Los tumores con TB elevado mostraron inmunoscore bajo, es decir, escasez de linfocitos T citotóxicos tanto en el centro tumoral como en el frente invasivo. También presentaron una mayor infiltración de macrófagos (especialmente de fenotipo M2, CD163+) en el estroma peritumoral, aunque al igual que con el inmunoscore. Por el contrario, los carcinomas con TB bajo o ausente tendieron a exhibir un inmunoscore alto (abundantes TILs, linfocitos infiltrantes) y relativamente menos macrófagos en el microambiente tumoral. Estos hallazgos sugieren una asociación inversa entre la respuesta inmune antitumoral efectiva y el TB. La literatura reciente sustenta esta relación: dos artículos demostraron que existe una correlación inversa entre la densidad de linfocitos T citotóxicos y el grado de *tumor budding* y en contraste, la abundancia de macrófagos asociados al tumor (TAM) en el microambiente parece relacionarse con mayor TB^(211,212). Esto sugiere que la inmunidad citotóxica puede suprimir la diseminación microscópica de células tumorales.

Los hallazgos en el presente estudio corroboran la asociación del TB con tasas elevadas de recurrencia. Entre los pacientes que experimentaron recurrencia, el 70% presentaba TB positivo, lo que subraya el papel de este parámetro en la progresión tumoral y su potencial valor como diana terapéutica. Se observó que el TB elevado (≥ 20 focos) se correlacionó principalmente con progresión hepática (66,7%), mientras que los valores intermedios (10–19) se asociaron con progresión hepática y peritoneal (29,4%). Los casos con < 10 focos mostraron progresión hepática (40%), pulmonar (36%) y peritoneal (24%). La ausencia de TB se vinculó con progresión peritoneal (45%) y pulmonar (20%).

Estos hallazgos refuerzan la asociación entre TB elevado, comportamiento agresivo y metástasis hepáticas, en concordancia con estudios previos. La evaluación del TB resulta especialmente útil en estadios tempranos de CCR para identificar pacientes con mayor riesgo de progresión y recaída.

Como era esperable, el análisis de supervivencia realizado en pacientes con TB demostró que aquellos con 10 focos o más es inferior a la de aquellos sin TB o con menos de 10 focos, con una mediana de supervivencia global estimada de 200 meses para aquellos sin TB, de 116.8 meses para aquellos con TB < 10 focos y de 54.45 meses para TB > 10 focos; datos acordes con los publicados en múltiples series en las que la supervivencia global (SG) es inversamente proporcional al TB⁽²¹³⁻²¹⁵⁾. En modelos de regresión univariante de Cox, así como multivariante que modelizan la supervivencia para diferentes factores con respecto al TB, se observó que la edad mayor o igual a 65 años, el ECOG >1, la presencia de síntomas al diagnóstico, el patrón de crecimiento infiltrativo, la presencia de infiltración linfovascular y perineural, estadios avanzados (T4/N+/M1) y mutaciones en *BRAF* son factores relacionados significativamente con la SG, así como supervivencia libre de progresión (SLP). La quimioterapia adyuvante solo ha demostrado significación estadística en el modelo de regresión de Cox univariante para SLP. Estos datos no solo reflejan la importancia del TB como factor predictivo y pronóstico en CRC, sino que también su evaluación permite identificar pacientes con enfermedad en estadios tempranos que podrían beneficiarse de estrategias terapéuticas más intensivas.

6.3 CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LOS SUBTIPOS MOLECULARES

Los subtipos moleculares de consenso (CMS) han demostrado tener valor pronóstico y predictivo, y un desafío práctico es cómo implementarlos en la práctica clínica rutinaria, dado que la clasificación original descrita por Guinney *et al.*⁽⁸²⁾ requiere análisis transcriptómicos complejos no disponibles en todos los hospitales. En el presente estudio se utilizó un método alternativo, basado en marcadores valorables por inmunohistoquímica (IHQ), para aproximar la clasificación CMS en muestras fijadas e incluidas en parafina. Distintos grupos han propuesto paneles de IHQ como subrogados de los subtipos moleculares. En

concreto, varios paneles de inmunomarcadores tisulares han logrado distinguir principalmente el subtipo mesenquimal (CMS4) de los no mesenquimales. Trinh *et al.*⁽¹⁹²⁾ identificaron un conjunto de cuatro proteínas (CDX2, ZEB1, FRMD6 y HTR2B) cuyo patrón de expresión imita la asignación CMS por transcriptómica. Aplicando estos marcadores mediante IHQ en cortes de tejido, se puede obtener un clasificador CMS-IHQ, método validado por Ten Hoorn *et al.*^(191,216). Trinh *et al.* describieron un algoritmo secuencial: primero identificar CMS1 detectando la pérdida de expresión de proteínas MMR (o mediante PCR MSI) lo cual distingue los MSI inmunes y luego distinguir CMS4 de CMS2/3 mediante un panel de los 4 marcadores descritos anteriormente. Este esquema ha demostrado una concordancia aceptable con la clasificación transcriptómica, sobre todo para identificar CMS4 con alta especificidad. De hecho, en la cohorte de 185 pacientes publicada por Trinh *et al.*, la clasificación IHQ coincidió con el CMS transcriptómico en ~87% de los casos, y permitió estratificar pacientes con diferencias de supervivencia similares a las definidas por la clasificación CMS original. Dado que CMS2 y CMS3 comparten fenotipo epitelial MSS en gran medida, muchos métodos IHQ no los discriminan entre sí, de hecho, el presente estudio agrupó CMS2–3 por sus similitudes clínicas. Aun con esa limitación, la separación de tumores en tres categorías (CMS1, CMS2/3, CMS4) por IHQ es valiosa y parece reproducir las diferencias pronóstico-predictivas principales⁽²¹⁶⁾.

La distribución de subtipos moleculares en la presente cohorte difirió respecto a la reportada por Guinney *et al.*, hallándose con respecto a los porcentajes reportados por Guinney *et al.*, una mayor proporción de CMS1 (20,45%) y menor de CMS4 (10,2%). Esta diferencia podría atribuirse a la selección de pacientes según el estadio y la histología (predominantemente enfermedad localizada en un 81,2%). Dado que la inmunohistoquímica no permite discriminar entre CMS2 y CMS3, como se ha mencionado con anterioridad, se agruparon ambos subtipos bajo la categoría CMS2/3. Los subtipos epiteliales (CMS2/3) fueron los más prevalentes (69,4%) y comúnmente se asociaron con características epiteliales y mejor pronóstico, tal y como se discutirá más adelante.

En cuanto al sexo, se observó un mayor porcentaje de hombres estadísticamente significativo en el grupo CMS2/3, y menor en los CMS1 y CMS4 como ya está descrito por Guinney *et al.* en 2015⁽⁸²⁾.

Un hallazgo llamativo son las diferencias significativas en cuanto a la presencia de pólipos con una mayor frecuencia encontrada en los CMS1 (72.9%) y una menor presencia a en CMS2/3 (47.5%) y CMS4 (33.3%). Los datos publicados demuestran un mayor porcentaje en pacientes con CMS2 (69.5%) seguidos de CMS1 (21.9%), CMS3 (5.1%) y por ultimo CMS4 (1.6%)⁽²¹⁷⁾. Esta diferencia podría estar justificada por el porcentaje relativamente menor de adenocarcinomas convencionales (con frecuentes mutaciones en *APC*) en el presente estudio si lo comparamos con los hallados de forma habitual en la práctica clínica, y como valorado por Chang et al., los pólipos hiperplásicos y serrados tienen más probabilidades de clasificarse como CMS1 mientras que una parte significativa de los pólipos esporádicos, incluidos los adenomas, se clasifican como CMS2 sugiriendo que la vía canónica, a menudo iniciada por mutaciones en genes como *APC*, es un importante impulsor del desarrollo de adenomas.

Otros hallazgos de los CMS en el presente estudio y que, en su mayoría, concuerdan con datos de la literatura^(218,219) son las relaciones con la lateralidad, grado de diferenciación, patrón de crecimiento tumoral y *tumor budding*. En la cohorte analizada los pacientes con CMS1 presentaban mayoritariamente tumores en colon derecho (87.5%), pobremente diferenciados (45.8%), con crecimiento expansivo (83.3%) y llamativamente sin presencia de *tumor budding*. Los CMS2/3 fueron más frecuentes en colon izquierdo (64.5%), moderadamente diferenciados (66.7%), crecimiento expansivo (58.7%) y con presencia de TB (71.2%). En cuanto a los CMS4, fueron más frecuentes en colon izquierdo (66.6%), moderadamente diferenciados (75%), con crecimiento infiltrativo (58.3%) y TB presente (66.7%).

Como también se ha descrito en la literatura, los pacientes con CMS1 presentaron mutaciones en *BRAF* y se observa, como era de esperar, un mayor porcentaje de tumores metastásicos en el grupo CMS4.

Entre los pacientes con enfermedad localizada, 40 experimentaron recurrencias. La mayoría de estos casos correspondieron al subtipo CMS2/3 (57.5%), seguidos por CMS1 (20%) y CMS4 (10%). Este patrón sugiere que, a pesar de su mayor frecuencia, los subtipos CMS2/3 conllevan un riesgo sustancial de recaída, lo que podría justificar una vigilancia más estrecha y, en ciertos casos, estrategias adyuvantes más agresivas, incluso cuando los pacientes CMS2 presenta mejor supervivencia global tras la recaída⁽⁸²⁾.

Entre los factores relacionados con la supervivencia global para los CMS en modelos de regresión de Cox univariante y multivariante se puede observar que la edad mayor a 65 años, ECOG >1, tumores pobremente diferenciados, patrón de crecimiento infiltrativo, estadios localmente avanzados o metastásicos, mutaciones en *BRAF*, invasión linfovascular y perineural y ausencia de tratamiento adyuvante están significativamente relacionados con la SG y SLP en estos pacientes. Las curvas de supervivencia global en relación a los subtipos moleculares demuestran, a pesar del alto intervalo de confianza al 95% en CMS1 y CMS4 por el número reducido de pacientes, la mayor supervivencia de pacientes con CMS2/3 estadísticamente significativa al aplicar la prueba de Breslow con diferencias que rozan la significación estadística al aplicar Log-Rank y Tarone-Ware. La mediana de supervivencia en la presente cohorte para MS1 es de 64.5 meses, para CMS2/3 de 135.1 meses y de 71.2 meses para pacientes CMS4. Estos datos concuerdan con los publicados con anterioridad en los que se observa una, pero supervivencia para los CMS1 y mejor supervivencia para los subtipos epiteliales (CMS2 y 3). En un estudio publicado, la supervivencia general a cinco años para todos los estadios del CMS2 es la más alta de cualquier subtipo, con un 77%, en comparación con el 73%, el 75% y el 62%, respectivamente, para el CMS1, 3 y 4 (219). Otro estudio encontró una diferencia significativa en la SG entre los grupos CMS para todos los pacientes, independientemente del tratamiento de primera línea, en dicho estudio los CMS2 tuvieron la mejor SG (mediana 24,2 meses, IC del 95% 19,1-27,4), los CMS1 la peor (8,8 meses, IC95% 6,5-16,0), mientras que los CMS3 (17,6 meses, IC95% 11,3-24,6) y CMS4 (21,4 meses, IC95% 15,8-23,1) tuvieron una SG intermedia ⁽²²⁰⁾. Finalmente Stintzing *et al.* encontraron en su estudio que la mediana de SG más larga se observó en pacientes CMS2 [SG 29,0 meses IC95 % 26,7–31,4 meses], seguida de CMS4 [SG 24,8 meses (IC95% 22,6–27,1 meses)], CMS3 [18,6 meses (IC95% 15,4–21,7 meses)] y CMS1 [15,9 meses (IC95% 11,0–20,8 meses)] ⁽²²¹⁾. Entre los pacientes con enfermedad localizada, 40 experimentaron recurrencias, predominantemente en el grupo CMS2/3 (57,5%), seguido de los grupos CMS1 (20%) y CMS4 (10%). Este patrón de recurrencia sugiere que el CMS2/3, a pesar de ser más común, conlleva un riesgo considerable de recurrencia, lo que requiere una vigilancia más estrecha y posiblemente una terapia adyuvante más agresiva, a pesar de que el CMS2 presenta la mejor supervivencia global tras la recaída⁽⁸²⁾. Se encontró en el

presente estudio, que los pacientes con subtipos CMS2/3 presentaron mejores tasas de supervivencia tras el tratamiento adyuvante en comparación con CMS1 y CMS4, resultados coherentes con los publicados por Dienstmann *et al.*, 2017 y Guinney *et al.*, 2015, que señalaron una mejor respuesta a tratamiento sistémico en los subtipos epiteliales. Sin embargo, otras investigaciones han demostrado beneficios de supervivencia en CMS1, CMS2 y CMS4, pero ninguna ventaja clara para CMS3⁽²²²⁾. Esta discrepancia podría surgir de variaciones en el diseño del estudio, el tamaño de la muestra, los regímenes de tratamiento empleados en el entorno adyuvante o diferencias en las medidas de resultados.

La importancia de estos hallazgos radica en que el valor pronóstico y predictivo de la clasificación inmunohistoquímica de los CMS es robusta y la posibilidad de utilizar este método de clasificación podría ser una ventaja importante para la futura implementación de los CMS en la práctica clínica habitual en todos los centros. Es importante recordar que, hasta la fecha, la implementación clínica de los sistemas de clasificación molecular ha resultado compleja con la necesidad de elaborar de forma exhaustiva, perfiles genómicos y transcriptómicos de tumores, que requiere mucho tiempo y es sumamente costoso, y su rentabilidad aún no se ha demostrado.

6.4 CARACTERIZACIÓN INMUNOLÓGICA

El CCR presenta una heterogeneidad significativa tanto en cuanto a pronóstico como a la respuesta al tratamiento, influenciada notablemente por las interacciones entre las células tumorales y su microambiente, en particular por los componentes inmunitarios. A nivel genómico, el CCR se puede clasificar en tumores hipermutados (~15%), típicamente positivos para inestabilidad de microsatélites (MSI), con una rica infiltración inmunitaria y un pronóstico favorable, y tumores no hipermutados (~85%), a menudo cromosómicamente inestables (CIN), con una respuesta inmunitaria limitada y peores resultados⁽²²³⁾.

Las clasificaciones transcriptómicas recientes, en particular los Subtipos Moleculares de Consenso (CMS), han integrado la biología tumoral con el microambiente inmunitario. Los tumores CMS1 (subtipo inmunitario MSI) muestran una activación inmunitaria robusta, un pronóstico favorable y estados

de hipermutación; los subtipos CMS2 y CMS3 presentan entornos inmunológicamente más fríos con mínima infiltración inmunitaria. El CMS4 (subtipo mesenquimal) se caracteriza por una importante infiltración de células inmunitarias y estromales, angiogénesis, inflamación, inmunosupresión y mal pronóstico. El perfil inmunitario complementario de Thorsson *et al.*⁽²²⁴⁾ definió subtipos inmunitarios (IS) aplicables a distintos cánceres, identificando firmas inmunes específicas asociadas al pronóstico, independientemente de la localización tumoral. Los subtipos inmunitarios caracterizados por respuestas inflamatorias y citotóxicas se correlacionan positivamente con la supervivencia, mientras que los subtipos con depleción linfocitaria, inflamación inducida por macrófagos y predominio de TGF- β se asocian con peores resultados.

En el presente estudio se evaluó la caracterización inmunológica de pacientes con CRC en cuanto al inmunoscore y la infiltración por macrófagos dentro de una amplia cohorte de pacientes con CCR, evaluando dicha caracterización con perfiles clínicos y patológicos, así como su interacción con los CMS.

6.4.1 Infiltración por Macrófagos

En este estudio se evidencia la alta infiltración tumoral tanto por macrófagos CD14+ como CD163+ que va en consonancia con otros estudios publicados y que confiere un peor pronóstico en pacientes con cáncer colorrectal⁽¹⁶³⁾. Se observa que un 91.17% de los pacientes del presente estudio presentan infiltración por alguno o ambos fenotipos de macrófagos.

Otro dato analizado que destaca es el porcentaje de formas fusiformes en macrófagos CD14+ (49.6%) como en los CD163+ (53.4%). Analizando la literatura, los macrófagos M0 o inactivados son ligeramente alargados con un frente bien definido, los macrófagos proinflamatorios M1 son redondos, y que los macrófagos M2 (CD163+) o antiinflamatorios también son alargados⁽¹⁶⁷⁾. McWhorter *et al.* observaron que los macrófagos exhiben diferentes grados de elongación cuando se estimulan hacia los fenotipos M1 o M2 con citoquinas *in vitro*. Utilizando un enfoque de micropatrones para controlar directamente la forma de las células, encontraron que el alargamiento de las células inducía la polarización hacia un fenotipo M2 y que el alargamiento mejoró el efecto de las

citocinas inductoras de M2 e inhibió el efecto de las citocinas inductoras de M1, lo que sugiere que la forma celular juega un papel importante en la modulación de la polarización fenotípica de los macrófagos⁽¹⁶⁸⁾. Tendiendo esto en cuenta, el hecho que los CD14+ en un porcentaje elevado sean fusiformes sugiere que podrían ser macrófagos inactivos (M0), ya que aquellos macrófagos polarizados tanto a M1 como M2 dejan de expresar CD14. Se conoce que el cambio de las formas de los macrófagos es un fenómeno plástico y que depende de cambios en la matriz extracelular que a su vez depende del estímulo que recibe el microambiente en el que se encuentran. Analizando los porcentajes de pacientes con ambas isoformas (redondas y fusiformes) tanto para macrófagos CD14+ (50.3%) como CD163+ (46.5%) se puede pensar que en aquellos CD14+ que muestran ambas isoformas, podría indicar el inicio de polarización a la isoforma M1 en aquellos que muestran forma redondeada, aunque no se puede descartar que se trate de monocitos recientemente llegados a microambiente tumoral y que aún no hayan iniciado su transformación a macrófago. Los macrófagos que expresan CD163 están polarizados a M2 y en la mayoría de los casos se muestran de forma elongada (fusiforme) como describió previamente. Xu *et al.*⁽¹⁶⁹⁾, que demostraron que el fenotipo M2 de forma redonda promueve la neovascularización por lo que la morfología fusiforme no es exclusiva del fenotipo M1.

En cuanto a la relación de la infiltración por macrófagos CD163+ con las características demográficas se puede observar diferencias estadísticamente significativas en la edad de los pacientes, con mayores edades en aquellos con infiltración por ambas morfologías (redondeadas y fusiformes) respecto a los que presentan la infiltración únicamente por la morfología fusiforme. Este dato concuerda con la literatura en la que se conoce que los macrófagos M2 aumentan en el tejido tumoral con la edad, así como que mientras que los macrófagos M2 de forma fusiforme se asocian con progresión tumoral y un mal pronóstico, los macrófagos M2 redondeados pueden tener un papel menos definido⁽²²⁵⁻²²⁷⁾.

Otro hallazgo interesante es la asociación de macrófagos CD163+ con ciertas características del tumor. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a localización del primario con un mayor porcentaje de morfologías fusiformes en pacientes con localización en colon derecho y mayor porcentaje de

pacientes con infiltración por ambas morfologías en colon izquierdo. Este dato es novedoso y no analizado en la literatura. Khanduri *et al.*⁽²²⁸⁾ si encontró que aquellos pacientes con metástasis hepáticas por CRC que presentaban macrófagos M2 con una alta expresión de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el primario se localizaba en colon derecho y presentaban una mejor supervivencia libre de recurrencias (SLR) en toda la cohorte con una HR de 0.425 (IC95% 0,219-0,825, p=0.011), mientras que cuando el primario se localizaba en colon izquierdo la infiltración por M2 se acompañaba de mayor densidad de linfocitos T helper y citotóxicos y una peor SLR. Esto refleja la compleja interacción de los macrófagos con el tumor, el microambiente e incluso la localización, con sus diferencias no solo estructurales sino también moleculares. Del mismo modo, se observan diferencias estadísticamente significativas en el grado de diferenciación, ya que los que presentan macrófagos CD163+ con formas solo fusiformes tienen un mayor porcentaje de tumores G1 y G2, mientras que los que presentan ambas morfologías tienen un mayor porcentaje de tumores G-3. Este dato de nuevo escasamente documentado podría poner en evidencia que a pesar de que el grado de diferenciación no está directamente determinado por la presencia de macrófagos M2, éstos pueden influir, como se ha visto, en el crecimiento e infiltración, lo que puede afectar directamente al grado histológico. También se ha observado en la cohorte, diferencias significativas respecto a la histología, tanto para infiltración por CD163+ como por infiltración por CD14+. Se ha objetivado la mayor presencia de ambas isoformas (fusiformes y redondeadas) para ambos tipos de macrófagos en aquellos tumores MSI, mientras que los que presentan solo formas fusiformes de CD163+ y CD14+ tienen mayor presencia en el resto de subtipos. Este dato de nuevo ha sido poco estudiado, se sabe de acuerdo a la literatura publicada que el CRC con deficiencia en la reparación de errores del ADN (dMMR/MSI-H) representa una minoría de casos y responde favorablemente a inmunoterapia. En cambio, la mayoría de los CRC son competentes en la reparación del ADN (pMMR/MSI-L), presentan baja carga mutacional (TMB), escasa infiltración inmunitaria y no responden generalmente a la inmunoterapia. Sin embargo, un pequeño subgrupo (2-3%) de CRC pMMR/MSI-L presenta un fenotipo ultramutado por mutaciones en las polimerasas POLE o POLD, con alta infiltración de linfocitos T PD1+CD8+, macrófagos PD-L1+CD68+ y expresión elevada de citocinas inflamatorias y

puntos de control inmunitarios (PD-1, PD-L1, CTLA-4), lo que sugiere beneficio potencial con inhibidores de puntos de control inmunitario (ICB)⁽²²⁹⁻²³¹⁾. Por otro lado, en tumores MSI-H metastásicos, se observa una mayor expresión de PD-L1 en células tumorales y macrófagos M2 (CD68/CD163+), favoreciendo el escape inmunológico^(232,233). Por ello, los inhibidores PD-1/PD-L1 podrían ser particularmente prometedores en estos casos.

Respecto a la asociación de macrófagos con los CMS se debe recordar que los TAMs en el cáncer colorrectal pueden exhibir formas sorprendentemente diferentes, que van desde células ameboides redondeadas hasta células fusiformes alargadas y que estas formas morfológicas a menudo se correlacionan con el estado de activación de los macrófagos. Como ya se ha mencionado previamente, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los macrófagos tipo M1 activados clásicamente tienden a parecer más redondos y aplanados, mientras que los macrófagos tipo M2 activados alternativamente adoptan una morfología alargada y fusiforme. Dicha diversidad morfológica a menudo refleja la polarización funcional: las formas fusiformes alargadas se asocian frecuentemente con un fenotipo promotor de tumores similar a M2, mientras que las formas redondeadas son típicas de los macrófagos tipo M1 clásicamente activados. Es importante recordar que en el presente estudio no se analizaron marcadores de macrófagos M1 por lo que no es posible saber si los macrófagos CD14+ (marcador pan-macrófágico) de morfología redonda corresponden a este estado de polarización. En la cohorte de pacientes de este estudio se observa una mayor asociación del CMS1 con macrófagos CD14+ y CD163+ de ambas formas mientras que los CMS2/3 se asocian con macrófagos CD14+ y CD163+ con la morfología fusiforme. Los tumores CMS1 suelen contener una población mixta de TAMs, lo que concuerda con una activación tanto similar a M1 como a M2, de hecho, como ya descrito en publicaciones previas, en los CMS1 se observan tanto macrófagos redondeados inmunoestimuladores como macrófagos alargados inmunosupresores debido a que, histológicamente, los tumores CMS1 a menudo muestran macrófagos que infiltran el epitelio tumoral, así como el estroma peritumoral, y esta distribución espacial también puede producir macrófagos intraepiteliales redondeados y macrófagos estromales fusiformes^(234,235). Respecto a la infiltración en CMS2/3, tumores conocidos por tener un microambiente inmune

relativamente “frío”, llama la atención el alto porcentaje de infiltración por macrófagos en el presente estudio, dato que no va en línea con los hallazgos en otras publicaciones. Esto fue estudiado por Khaliq *et al.*⁽²³⁶⁾ quienes describieron que los CMS1 y los CMS4 mostraron una fuerte infiltración de linfocitos T NK y CD8+, mientras que los de CMS2 y CMS3 presentaron un enriquecimiento reducido de estos linfocitos T, en consonancia con datos previos aunque encontraron que los CMS2 y CMS3 al igual que los CMS1 con mal pronóstico presentaban altas firmas de fibroblastos asociados al tumor (CAF) y TAMs C1Q+ (expresores de la proteína C1q del complemento). De esta forma, los niveles de infiltración por CAF y TAMs C1Q+ pudieron a su vez estratificar a todos los subgrupos de CMS en subgrupos de supervivencia alta y baja, más allá de la categorización de CMS. Por lo tanto, la clasificación CMS debería utilizarse como punto de partida para a partir de ahí, profundizar en la investigación sobre la biología del CCR ya que hasta la fecha no se ha caracterizado por completo la forma en que las células y el microambiente tumoral configuran el panorama tanto tumoral, estromal e inmunitario, dando lugar a subtipos específicos de CCR. Otro hallazgo llamativo en cuanto a la infiltración por macrófagos CD163+ es el alto porcentaje de pacientes CMS4 sin infiltración respecto a los CMS1 y CMS2/3 (33.3% vs 13.2% y 10% respectivamente). El motivo por el que llama la atención este hallazgo es debido a que se conoce que los tumores CMS4 (“mesenquimales”) muestran un entorno inmunogénico con alta infiltración mieloide (en particular, por TAMs) y un estroma desmoplásico extenso. Una explicación podría ser la distribución espacial “excluyente” en CMS4: el abundante estroma actúa como barrera física y funcional que impide la penetración profunda de células inmunitarias en el tumor, de hecho, se ha sugerido que los macrófagos tienden a acumularse en el margen invasor de tumores estromales, formando una especie de cinturón que limita la entrada de linfocitos citotóxicos al centro tumoral⁽²³⁷⁾. Un estudio encontró que en carcinomas colorrectales ricos en estroma las zonas del frente invasor presentaban 5 veces más macrófagos CD68+ y 3,5 veces más CD163+ que el núcleo del tumor, lo que sugiere que en CMS4 muchos macrófagos permanecen en la periferia (a menudo entre las fibras del estroma) y no infiltran extensamente al tumor⁽²¹²⁾. Esto podría llevar a conteos aparentes más bajos de CD163+ intratumorales cuando se comparan con otros subtipos. Otra posibilidad es que una proporción de

macrófagos en tumores CMS4 expresen otros marcadores M2 (como osteopontina/SPP1, C1Q, CD206)⁽²³⁷⁾ y relativamente menos CD163, lo que contribuiría a una infiltración CD163+ cuantitativamente menor al ser evaluada por inmunohistoquímica tradicional. En resumen, la exclusión inmune mediada por el estroma y la polarización diferencial de TAMs en CMS4 podrían explicar por qué, pese a su perfil mesenquimal e inmunosupresor, estos tumores pueden mostrar una infiltración aparentemente baja de macrófagos CD163, aunque esto se debería de estudiar más a fondo y en estudios prospectivos.

En relación con el inmunoscore, se ha observado en el grupo de pacientes con infiltración macrofágica CD14+, un porcentaje mayor de pacientes con inmunoscore medio/alto en los pacientes con ambas isoformas, resultados estadísticamente significativos.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en SG respecto a la infiltración por macrófagos CD163+ ni para macrófagos CD14+.

6.4.2 Inmunoscore

En el análisis del inmunoscore, se observó que el 80,6% de los pacientes presentaban inmunoscore bajo, mientras que el 19,4% mostraba inmunoscore intermedio a alto. Este marcador inmunológico tiene un reconocido valor pronóstico, ya que puntuaciones más altas se asocian con una mejor respuesta inmune y mejores resultados clínicos^(182,238,239). Aunque el sistema original de inmunoscore divide a los pacientes en cinco categorías (I0–I4), en este estudio se optó por una clasificación binaria (bajo: I0–I1; intermedio-alto: I2–I4), siguiendo el enfoque validado por Pagès et al.⁽¹⁸²⁾, que ha demostrado su utilidad pronóstica en cáncer colorrectal. Nuestros análisis confirmaron la consistencia de los resultados utilizando ambas clasificaciones, lo que respalda la robustez y aplicabilidad clínica del enfoque simplificado. Esto sugiere que la clasificación binaria mantiene el valor pronóstico, a la vez que proporciona un marco más práctico para la aplicación clínica. Los inmunoscores bajos se observaron con mayor frecuencia en adenocarcinomas convencionales y serrados. En particular, los adenocarcinomas serrados mostraron menor respuesta inmunitaria y escasa infiltración linfocitaria⁽²⁴⁰⁾, a pesar de haber sido clasificados dentro del subtipo CMS4⁽²⁴¹⁾. Esta

discordancia entre la clasificación histológica y molecular ha motivado la propuesta de una nueva entidad conocida como "adenocarcinoma serrado clásico", posiblemente asociado al subtipo CMS1^(240,241). En la presente cohorte, el estado MSI-H se correlacionó con inmunoscore intermedio-alto, en concordancia con los hallazgos de Galon *et al.* (2006)⁽²⁴²⁾, quienes demostraron que los tumores MSI-H son más inmunogénicos y generan una respuesta inmunitaria más potente.

La validación internacional del inmunoscore ha consolidado su capacidad predictiva para la supervivencia en cáncer de colon, superando a factores clínico-patológicos tradicionales. La incorporación del inmunoscore en la práctica clínica podría mejorar la estratificación del riesgo y la toma de decisiones terapéuticas⁽¹⁸²⁾.

Si bien estudios previos han establecido por separado el valor pronóstico del inmunoscore y el TB, los resultados en el presente estudio revelaron una relación previamente inexplorada entre estos factores dentro de subtipos moleculares específicos. Esto añade una nueva dimensión a la comprensión de la heterogeneidad del CCR y las posibles estrategias de tratamiento. Estos resultados abordan directamente las lagunas identificadas en la investigación actual al demostrar la asociación entre un inmunoscore bajo y TGB alto en los subtipos CMS2/3, lo que sugiere que estos tumores pueden haber desarrollado mecanismos para evadir la vigilancia inmunitaria mientras mantienen un comportamiento agresivo. El TB es un biomarcador pronóstico emergente en el cáncer colorrectal (CCR) que actualmente influye en la toma de decisiones en el CCR en estadios I y II. Estudios, como el análisis post-hoc del ensayo IDEA-France han demostrado que el TB intermedio y alto se asocia significativamente con una peor supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) en pacientes con CCR en estadio III. Además, la relación entre el TB y el inmunoscore es un área de investigación poco explorada. Evidencias recientes⁽²⁴³⁾ han destacado que la combinación de inmunoscore con TB mejora la precisión pronóstica en comparación con factores tradicionales como el estadio N, el estadio T y el MSI. Esta combinación también tuvo la mayor contribución relativa a la SLE en el CCR en estadios tempranos. Sin embargo, dada la limitada evidencia existente, los presentes hallazgos aportan nuevas perspectivas en este campo al demostrar una asociación significativa entre un inmunoscore bajo y un TB alto en los subtipos CMS2/3 de CCR, particularmente en la histología serrada. Esta asociación sugiere que estos tumores pueden evadir la vigilancia inmunitaria

mientras exhiben un comportamiento agresivo, como se refleja en mayores tasas de recurrencia. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de realizar más estudios para validar y ampliar estas observaciones, particularmente en cohortes prospectivas y a mayor escala, ya que ofrecen importantes implicaciones para refinar la estratificación del riesgo y adaptar los enfoques terapéuticos en pacientes con CCR CMS2/3.

6.5 MICROBIOTA

El microambiente tumoral es un entorno complejo y heterogéneo que ejerce una influencia significativa en la progresión del cáncer colorrectal (CCR), y estos factores, incluyendo el microbioma, influyen en el modo en que un individuo desarrolla cáncer⁽²⁴⁴⁾. Investigaciones recientes se han centrado en cómo el microbioma interactúa con el microambiente tumoral (TME), incluyendo al sistema inmunitario, tanto de forma directa como sistémica, resultando frecuentemente en la activación de diversas respuestas inmunológicas que, a su vez, modifican la progresión de la carcinogénesis^(245,246). Numerosos estudios han identificado asociaciones sólidas entre bacterias específicas, características moleculares y evolución clínica en pacientes con CCR. No obstante, aunque las asociaciones entre ciertas bacterias y la progresión del CCR han sido ampliamente documentadas, es crucial comprender los mecanismos subyacentes implicados. Como se sabe, tanto el microbioma intestinal como el microbioma residente en el tumor ejercen una influencia sobre las características moleculares, el perfil inmunológico y el microambiente tumoral del CCR, alterando así las vías implicadas en la carcinogénesis y los subtipos moleculares en los cuales se clasifican los tumores.

En el presente estudio se obtuvo el análisis de la microbiota de 45 pacientes. Se tuvo en cuenta la familia, el género, así como el índice de Shannon, Simpson y Berger-Parker, herramientas que permiten la evaluación de la diversidad de microorganismos dentro de la microbiota. El índice de Shannon considera tanto la riqueza o número de especies como la uniformidad o abundancia relativa de cada especie, cuanto mayor es su valor, mayor es la diversidad. El índice de Simpson

se enfoca en la dominancia de las especies más comunes, cuanto menor su valor mayor la diversidad, mientras que el índice de Berger-Parker mide la proporción de la especie más abundante. Se analizaron las posibles relaciones con características demográficas, clínico-patológicas al diagnóstico, con la infiltración por macrófagos, inmunoscore, con el subtipo molecular y la supervivencia, no encontrándose relaciones estadísticamente significativas. La ausencia de asociaciones estadísticamente significativas en estos análisis podría deberse al tamaño muestral reducido, lo que limita el poder estadístico y puede haber impedido la detección de efectos relevantes.

Un hallazgo que se pudo observar, aunque no estadísticamente significativo, es la frecuencia de la familia *Bacteroidaceae* en pacientes CMS2/3. De los 45 pacientes, 23 de ellos presentaban dicha familia como la más frecuente y de los 30 pacientes CMS2/3, 14 de ellos la presentaban. Aunque una baja biomasa bacteriana se ha asociado globalmente con los tumores CMS2, se observó que la mayor proporción de especies del filo *Bacteroidetes* se encontraba en tumores CMS2 en comparación con los subtipos CMS1, CMS3 y CMS4, siendo *Bacteroides fragilis* responsable de más del 50% de las bacterias identificadas⁽²⁴⁷⁾.

Aunque cada subtipo tumoral de CCR presenta una diversidad microbiana distintiva y altamente heterogénea, las limitaciones de tamaño muestral en el presente estudio impidieron establecer de forma robusta la influencia de la microbiota sobre la clasificación molecular, la relación inmunológica y la progresión tumoral. Esta limitación pone de relieve la complejidad de las interacciones entre el microbioma tumoral y el entorno inmunológico, metabólico y genómico del huésped, y refuerza la necesidad de estudios prospectivos con cohortes más amplias y caracterización microbiológica exhaustiva que permitan esclarecer los mecanismos funcionales subyacentes.

Si bien este estudio ofrece aportes valiosos, debe interpretarse considerando sus limitaciones. Su diseño retrospectivo y el tamaño muestral reducido limitan la generalización de los hallazgos. A pesar de ello, la inclusión de pacientes con distintos antecedentes terapéuticos enriquece la muestra y permite explorar el valor pronóstico de variables como el inmunoscore y los subtipos moleculares en un contexto más representativo de la práctica clínica. Futuros estudios prospectivos, con mayor tamaño muestral, serán esenciales para validar estos hallazgos y explorar su aplicabilidad clínica, incluyendo la personalización de

estrategias inmunoterapéuticas según el subtipo molecular y el perfil inmunológico tumoral.

En conclusión, este estudio destaca la intrincada interacción entre los subtipos moleculares, las respuestas inmunitarias y el comportamiento tumoral en el cáncer colorrectal (CCR), lo que enfatiza la necesidad de un enfoque transformador para las estrategias clínicas y la investigación. Al demostrar que los subtipos CMS2/3, especialmente los tumores serrados, presentan una baja respuesta inmunitaria y una alta gemación tumoral relacionada con la metástasis hepática, nuestros hallazgos subrayan la importancia de adaptar las intervenciones clínicas y la vigilancia. Además, si bien reconocemos las limitaciones del estudio, las investigaciones futuras deberían explorar la integración de datos genéticos, inmunológicos y morfológicos para perfeccionar las vías de tratamiento personalizadas y mejorar los resultados de los pacientes. Estos resultados no solo mejoran nuestra comprensión de la heterogeneidad del CCR, sino que también brindan una base práctica para impulsar la medicina de precisión en este campo.

VII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VII LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Este estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar, la selección de pacientes basada en subtipos histológicos, en lugar de un muestreo aleatorio, podría haber introducido un sesgo de selección, limitando así la representatividad de la cohorte. Este enriquecimiento retrospectivo, especialmente dirigido hacia fenotipos serrados y mucinosos, podría haber modificado el panorama del microambiente inmunológico. Además, se excluyeron pacientes cuando el tejido tumoral disponible fue insuficiente para el análisis inmunohistoquímico, reduciendo así el tamaño muestral para algunas variables y limitando el poder estadístico en ciertos análisis por subgrupos. Los datos faltantes se manejaron mediante exclusión caso a caso, reportando explícitamente los tamaños muestrales para asegurar transparencia.

En segundo lugar, la clasificación en subtipos moleculares se basó en un mini-clasificador inmunohistoquímico en lugar de un perfil transcriptómico completo. Aunque este método ha demostrado una concordancia sustancial con la clasificación CMS basada en expresión génica ($\kappa \approx 0,75$), no permite distinguir de forma fiable CMS2 de CMS3 ni identificar la categoría NOS (mixta). Por tanto, la posible clasificación errónea residual podría haber influido en las asociaciones específicas de subtipo. Adicionalmente, existe evidencia limitada e inconsistente sobre CMS3 en cáncer colorrectal en estadios iniciales, lo cual podría explicar parcialmente discrepancias con estudios previos.

En tercer lugar, todas las evaluaciones inmunológicas y de budding tumoral se realizaron en triplicado sobre microarrays tisulares (TMA) de 1,5 mm, en lugar de cortes completos. Aunque se observó una concordancia sustancial con evaluaciones de cortes completos en un subconjunto de validación ($n = 38$), el uso de TMA no puede capturar completamente la heterogeneidad espacial, particularmente en tumores inmuno-excluidos CMS2/3. Además, el budding tumoral se cuantificó en toda el área del TMA y se categorizó en <10 , $10-19$ o ≥ 20 focos. Estos umbrales, aunque basados en estudios previos, difieren de los

estándares ITBCC 2016, que utilizan un solo *hotspot* de 0,785 mm², y por tanto no son directamente comparables.

Asimismo, no se estratificó el análisis de patrones metastásicos según la localización anatómica del tumor primario. Los tumores rectales representaron el 18,8% de la cohorte y pueden seguir rutas de diseminación diferentes a los tumores colónicos, como una mayor propensión a metástasis pulmonares en lugar de hepáticas. Esta variabilidad anatómica podría actuar como factor de confusión en las asociaciones observadas entre el grado de *budding* tumoral y el sitio metastásico. Estudios futuros deberían considerar este factor en análisis multivariantes de tropismo metastásico.

Finalmente, para mejorar la interpretabilidad se dicotomizó el inmunoscore original de cinco niveles, realizando múltiples comparaciones exploratorias. Los análisis de sensibilidad utilizando la escala completa (I0–I4) proporcionaron resultados consistentes, y se aplicó una corrección por tasa de falsos descubrimientos (FDR) para reducir el riesgo de errores tipo I. No obstante, el tamaño reducido de algunos subgrupos, como CMS4 o pacientes recaídos con puntajes inmunes evaluables, podría haber limitado el poder estadístico, aumentando el potencial de error tipo II.

A pesar de estas limitaciones, nuestro estudio aporta información relevante sobre la interacción entre subtipos moleculares, respuesta inmune y comportamiento tumoral en cáncer colorrectal. Estudios prospectivos futuros con cohortes mayores y más diversas, así como validación transcriptómica, serán fundamentales para confirmar y extender estos hallazgos.

VIII – CONCLUSIONES

VIII – CONCLUSIONES

1. Es posible clasificar el cáncer colorrectal según subtipos moleculares específicos por técnicas inmunohistoquímicas y correlacionarlos con algunas características clínico-patológicas e inmunológicas. Los resultados en supervivencia de nuestra serie se correlacionan bien con los datos conocidos de los subtipos clasificados mediante transcriptómica. Los subtipos epiteliales, especialmente los de histología serrada, presentan inmunoscore bajo y *budding* tumoral alto, y se relacionan con mayor frecuencia de progresión/recaída hepática. CMS-1 y CMS-4 tienen peor supervivencia
2. La infiltración por macrófagos M2 es más prevalente en los subtipos inestables (CMS 1) y epiteliales (CMS 2/3), asociados a un inmunoscore intermedio-alto, lo que demuestra que hay una correlación directa entre microambiente inmunológico y pronóstico
3. No ha sido posible en nuestra serie relacionar los subtipos moleculares con la composición de la microbiota intestinal.

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory [Internet]. [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>
2. Pilleron S, Soto-Perez-de-Celis E, Vignat J, Ferlay J, Soerjomataram I, Bray F, et al. Estimated global cancer incidence in the oldest adults in 2018 and projections to 2050. *Int J Cancer*. febrero de 2021;148(3):601-8.
3. Siegel RL, Wagle NS, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*. marzo de 2023;caac.21772.
4. Colorectal Cancer Survival Rates | Colorectal Cancer Prognosis [Internet]. [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/colorectal-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>
5. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE--5-a population-based study. *Lancet Oncol*. enero de 2014;15(1):23-34.
6. Colorectal Cancer Screening (PDQ®)–Health Professional Version - NCI [Internet]. 2023 [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/types/colorectal/hp/colorectal-screening-pdq>
7. Hagggar F, Boushey R. Colorectal Cancer Epidemiology: Incidence, Mortality, Survival, and Risk Factors. *Clin Colon Rectal Surg*. noviembre de 2009;22(04):191-7.
8. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Ehemann C, Zaubler AG, Anderson RN, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer*. 2010;116(3):544-73.
9. Kahi CJ, Imperiale TF, Juliar BE, Rex DK. Effect of screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. julio de 2009;7(7):770-5; quiz 711.
10. Johnson CD, Hara AK, Reed JE. Computed tomographic colonography (Virtual colonoscopy): a new method for detecting colorectal neoplasms. *Endoscopy*. agosto de 1997;29(6):454-61.
11. Duarte RB, Bernardo WM, Sakai CM, Silva GL, Guedes HG, Kuga R, et al. Computed tomography colonography versus colonoscopy for the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ther Clin Risk Manag*. 21 de febrero de 2018;14:349-60.

12. Brenner H, Stock C, Hoffmeister M. Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. *BMJ*. 9 de abril de 2014;348:g2467.
13. Chorost MI, Datta R, Santiago RC, Lee B, Bollman J, Leitman IM, et al. Colon cancer screening: where have we come from and where do we go? *J Surg Oncol*. enero de 2004;85(1):7-13.
14. Rank KM, Shaukat A. Stool Based Testing for Colorectal Cancer: an Overview of Available Evidence. *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 1 de agosto de 2017 [citado 17 de enero de 2024];19(8). Disponible en: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=85025111105&partnerID=8YFLogxK>
15. Bailey JR, Aggarwal A, Imperiale TF. Colorectal Cancer Screening: Stool DNA and Other Noninvasive Modalities. *Gut Liver*. marzo de 2016;10(2):204-11.
16. Ministerio de Sanidad - Áreas - Estrategia en cáncer [Internet]. [citado 17 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/areas/calidadAsistencial/estrategias/cancer/home.htm>
17. Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright L. Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. *Annu Rev Med*. 1995;46:371-9.
18. Weiss JM, Gupta S, Burke CA, Axell L, Chen LM, Chung DC, et al. NCCN Guidelines® Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Version 1.2021. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. 15 de octubre de 2021;19(10):1122-32.
19. Locker GY, Lynch HT. Genetic factors and colorectal cancer in Ashkenazi Jews. *Fam Cancer*. 2004;3(3-4):215-21.
20. Wang L, Baudhuin LM, Boardman LA, Steenblock KJ, Petersen GM, Halling KC, et al. MYH mutations in patients with attenuated and classic polyposis and with young-onset colorectal cancer without polyps. *Gastroenterology*. julio de 2004;127(1):9-16.
21. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, Giles GG, et al. Prevalence and Penetrance of Major Genes and Polygenes for Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. marzo de 2017;26(3):404-12.
22. Koessler T, Oestergaard MZ, Song H, Tyrer J, Perkins B, Dunning AM, et al. Common variants in mismatch repair genes and risk of colorectal cancer. *Gut*. agosto de 2008;57(8):1097-101.

23. Watson P, Vasen HFA, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Järvinen HJ, et al. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer*. 15 de julio de 2008;123(2):444-9.
24. Cali RL, Pitsch RM, Thorson AG, Watson P, Tapia P, Blatchford GJ, et al. Cumulative incidence of metachronous colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. abril de 1993;36(4):388-93.
25. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *N Engl J Med*. 5 de marzo de 1992;326(10):658-62.
26. Tuohy TMF, Rowe KG, Mineau GP, Pimentel R, Burt RW, Samadder NJ. Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: a population-based study in Utah. *Cancer*. 1 de enero de 2014;120(1):35-42.
27. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med*. 1 de noviembre de 1990;323(18):1228-33.
28. 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*. noviembre de 1994;35(11):1590-2.
29. Abualkhair WH, Zhou M, Ahnen D, Yu Q, Wu XC, Karlitz JJ. Trends in Incidence of Early-Onset Colorectal Cancer in the United States Among Those Approaching Screening Age. *JAMA Netw Open* [Internet]. enero de 2020 [citado 17 de enero de 2024];3(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7042874/>
30. Moreno CC, Mittal PK, Sullivan PS, Rutherford R, Staley CA, Cardona K, et al. Colorectal Cancer Initial Diagnosis: Screening Colonoscopy, Diagnostic Colonoscopy, or Emergent Surgery, and Tumor Stage and Size at Initial Presentation. *Clin Colorectal Cancer*. marzo de 2016;15(1):67-73.
31. Saidi HS, Karuri D, Nyaim EO. Correlation of clinical data, anatomical site and disease stage in colorectal cancer. *East Afr Med J*. junio de 2008;85(6):259-62.
32. Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT. How does colorectal cancer present? Symptoms, duration, and clues to location. *Am J Gastroenterol*. octubre de 1999;94(10):3039-45.
33. Pretzsch E, Bösch F, Neumann J, Ganschow P, Bazhin A, Guba M, et al. Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol*. 19 de septiembre de 2019;2019:7407190.
34. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep*. 15 de julio de 2016;6:29765.

35. Sundermeyer ML, Meropol NJ, Rogatko A, Wang H, Cohen SJ. Changing patterns of bone and brain metastases in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. julio de 2005;5(2):108-13.
36. Mulder SA, Kranse R, Damhuis RA, de Wilt JHW, Ouwendijk RJT, Kuipers EJ, et al. Prevalence and prognosis of synchronous colorectal cancer: a Dutch population-based study. *Cancer Epidemiol*. octubre de 2011;35(5):442-7.
37. Świdarska M, Choromańska B, Dąbrowska E, Konarzewska-Duchnowska E, Choromańska K, Szczurko G, et al. The diagnostics of colorectal cancer. *Contemp Oncol*. 2014;18(1):1-6.
38. Pickhardt PJ. CT Colonography: The Role of Radiologist Training. *Radiology*. 15 de febrero de 2022;303(2):371-2.
39. Atkin W, Dadswell E, Wooldrage K, Kralj-Hans I, Wagner C von, Edwards R, et al. Computed tomographic colonography versus colonoscopy for investigation of patients with symptoms suggestive of colorectal cancer (SIGGAR): a multicentre randomised trial. *The Lancet*. 6 de abril de 2013;381(9873):1194-202.
40. González-Suárez B, Llach J. Nueva generación de cápsula endoscópica colónica: ¿una opción no invasiva en el cribado del cáncer colorrectal? *Gastroenterol Hepatol*. 1 de mayo de 2011;34(5):346-51.
41. Spada C, Hassan C, Barbaro B, Iafrate F, Cesaro P, Petruzzello L, et al. Colon capsule versus CT colonography in patients with incomplete colonoscopy: a prospective, comparative trial. *Gut*. 1 de febrero de 2015;64(2):272-81.
42. Rondonotti E, Borghi C, Mandelli G, Radaelli F, Paggi S, Amato A, et al. Accuracy of capsule colonoscopy and computed tomographic colonography in individuals with positive results from the fecal occult blood test. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. agosto de 2014;12(8):1303-10.
43. van der Schouw YT, Verbeek AL, Wobbles T, Segers MF, Thomas CM. Comparison of four serum tumour markers in the diagnosis of colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. julio de 1992;66(1):148-54.
44. Macdonald JS. Carcinoembryonic antigen screening: pros and cons. *Semin Oncol*. octubre de 1999;26(5):556-60.
45. Liu Z, Zhang Y, Niu Y, Li K, Liu X, Chen H, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic and Prognostic Serum Biomarkers of Colorectal Cancer. *PLoS ONE*. 8 de agosto de 2014;9(8):e103910.
46. Sajid KM, Parveen R, Durr-e-Sabih null, Chaouachi K, Naeem A, Mahmood R, et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) levels in hookah smokers, cigarette smokers and non-smokers. *JPMA J Pak Med Assoc*. diciembre de 2007;57(12):595-9.

47. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(2):93-9.
48. Sloothak D a. M, Sahami S, van der Zaag-Loonen HJ, van der Zaag ES, Tanis PJ, Bemelman WA, et al. The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* marzo de 2014;40(3):263-9.
49. NCCN [Internet]. [citado 17 de enero de 2024]. Guidelines Detail. Disponible en: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail>
50. Horton KM, Abrams RA, Fishman EK. Spiral CT of colon cancer: imaging features and role in management. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc.* 2000;20(2):419-30.
51. Nerad E, Lahaye MJ, Maas M, Nelemans P, Bakers FCH, Beets GL, et al. Diagnostic Accuracy of CT for Local Staging of Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *AJR Am J Roentgenol.* noviembre de 2016;207(5):984-95.
52. Hundt W, Braunschweig R, Reiser M. Evaluation of spiral CT in staging of colon and rectum carcinoma. *Eur Radiol.* 1999;9(1):78-84.
53. Thoeni RF. Colorectal cancer. Radiologic staging. *Radiol Clin North Am.* marzo de 1997;35(2):457-85.
54. Lonneux M. FDG-PET and PET/CT in Colorectal Cancer. *PET Clin.* abril de 2008;3(2):147-53.
55. Bipat S, Glas AS, Slors FJM, Zwinderman AH, Bossuyt PMM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology.* septiembre de 2004;232(3):773-83.
56. Lu YY, Chen JH, Ding HJ, Chien CR, Lin WY, Kao CH. A systematic review and meta-analysis of pretherapeutic lymph node staging of colorectal cancer by 18F-FDG PET or PET/CT. *Nucl Med Commun.* noviembre de 2012;33(11):1127-33.
57. Fuster D, Lafuente S, Setoain X, Navales I, Perissinotti A, Pavia J, et al. [Dual-time point images of the liver with (18)F-FDG PET/CT in suspected recurrence from colorectal cancer]. *Rev Espanola Med Nucl E Imagen Mol.* 2012;31(3):111-6.
58. Valk PE, Pounds TR, Tesar RD, Hopkins DM, Haseman MK. Cost-effectiveness of PET imaging in clinical oncology. *Nucl Med Biol.* 1 de agosto de 1996;23(6):737-43.

59. Schnitzer ML, Münchhausen N von, Biechele G, Runtemund J, Grawe F, Geyer T, et al. Cost-effectiveness analysis of MRI, CE-CT and 18F-FDG PET/CT for detecting colorectal liver metastases eligible for hepatic resection. *Front Oncol* [Internet]. 2023 [citado 17 de enero de 2024];13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10405934/>
60. Park IJ, Kim HC, Yu CS, Ryu MH, Chang HM, Kim JH, et al. Efficacy of PET/CT in the accurate evaluation of primary colorectal carcinoma. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. noviembre de 2006;32(9):941-7.
61. Llamas-Elvira JM, Rodríguez-Fernández A, Gutiérrez-Sáinz J, Gomez-Rio M, Bellon-Guardia M, Ramos-Font C, et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose PET in the preoperative staging of colorectal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. junio de 2007;34(6):859-67.
62. Curvo-Semedo L. Rectal Cancer: Staging. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. febrero de 2020;28(1):105-15.
63. Brown G, Radcliffe AG, Newcombe RG, Dallimore NS, Bourne MW, Williams GT. Preoperative assessment of prognostic factors in rectal cancer using high-resolution magnetic resonance imaging. *Br J Surg*. marzo de 2003;90(3):355-64.
64. Beets-Tan RGH, Lambregts DMJ, Maas M, Bipat S, Barbaro B, Curvo-Semedo L, et al. Magnetic resonance imaging for clinical management of rectal cancer: Updated recommendations from the 2016 European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology (ESGAR) consensus meeting. *Eur Radiol*. abril de 2018;28(4):1465-75.
65. Kalisz KR, Enzerra MD, Paspulati RM. MRI Evaluation of the Response of Rectal Cancer to Neoadjuvant Chemoradiation Therapy. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc*. 2019;39(2):538-56.
66. Sahani DV, Bajwa MA, Andrabi Y, Bajpai S, Cusack JC. Current status of imaging and emerging techniques to evaluate liver metastases from colorectal carcinoma. *Ann Surg*. mayo de 2014;259(5):861-72.
67. Niekel MC, Bipat S, Stoker J. Diagnostic imaging of colorectal liver metastases with CT, MR imaging, FDG PET, and/or FDG PET/CT: a meta-analysis of prospective studies including patients who have not previously undergone treatment. *Radiology*. diciembre de 2010;257(3):674-84.
68. Colorectal cancer - Symptoms, diagnosis and treatment | BMJ Best Practice US [Internet]. [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/258>
69. Xiao JB, Leng AM, Zhang YQ, Wen Z, He J, Ye GN. CUEDC2: multifunctional roles in carcinogenesis. *Front Biosci Landmark Ed*. 1 de marzo de 2019;24(5):935-46.

70. Disoma C, Zhou Y, Li S, Peng J, Xia Z. Wnt/ β -catenin signaling in colorectal cancer: Is therapeutic targeting even possible? *Biochimie*. abril de 2022;195:39-53.
71. Zhao H, Ming T, Tang S, Ren S, Yang H, Liu M, et al. Wnt signaling in colorectal cancer: pathogenic role and therapeutic target. *Mol Cancer*. 14 de julio de 2022;21(1):144.
72. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg*. 1 de julio de 2002;89(7):845-60.
73. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*. enero de 2020;158(2):291-302.
74. Arends MJ. Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM*. marzo de 2013;21(2):97-102.
75. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 29 de marzo de 2013;339(6127):1546-58.
76. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*. octubre de 2008;135(4):1079-99.
77. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*. junio de 2010;138(6):2059-72.
78. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 15 de noviembre de 1998;58(22):5248-57.
79. Yamane L, Scapulatempo-Neto C, Reis RM, Guimarães DP. Serrated pathway in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 14 de marzo de 2014;20(10):2634-40.
80. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature*. 29 de agosto de 2002;418(6901):934.
81. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 18 de julio de 2012;487(7407):330-7.
82. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. noviembre de 2015;21(11):1350-6.
83. Umar A, Risinger JI, Hawk ET, Barrett JC. Testing guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Nat Rev Cancer*. febrero de 2004;4(2):153-8.

84. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 20 de julio de 1999;96(15):8681-6.
85. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 27 de junio de 2002;417(6892):949-54.
86. Kambara T, Simms LA, Whitehall VLJ, Spring KJ, Wynter CVA, Walsh MD, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut*. 1 de agosto de 2004;53(8):1137-44.
87. Borowsky J, Dumenil T, Bettington M, Pearson SA, Bond C, Fennell L, et al. The role of APC in WNT pathway activation in serrated neoplasia. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. marzo de 2018;31(3):495-504.
88. García-Solano J, Turpin MC, Torres-Moreno D, Huertas-López F, Tuomisto A, Mäkinen MJ, et al. Two histologically colorectal carcinomas subsets from the serrated pathway show different methylome signatures and diagnostic biomarkers. *Clin Epigenetics*. 9 de noviembre de 2018;10(1):141.
89. Bird AP. CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*. 15 de mayo de 1986;321(6067):209-13.
90. IARC. Colorectal Cancer Screening [Internet]. [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Handbooks-Of-Cancer-Prevention/Colorectal-Cancer-Screening-2019>
91. Manne U, Shanmugam C, Katkooi VR, Bumpers HL, Grizzle WE. Development and progression of colorectal neoplasia. *Cancer Biomark Sect Dis Markers*. 2010;9(1-6):235-65.
92. Colorectal Cancer Stages | Rectal Cancer Staging | Colon Cancer Staging [Internet]. [citado 14 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/staged.html>
93. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterol Res*. agosto de 2018;11(4):264-73.
94. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. marzo de 2017;15(3):411-9.
95. Gervaz P, Bucher P, Morel P. Two colons-two cancers: paradigm shift and clinical implications. *J Surg Oncol*. 15 de diciembre de 2004;88(4):261-6.
96. Bosman FT, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, editores. WHO classification of tumours of the digestive

system. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2010. 417 p. (World Health Organization classification of tumours).

97. Kakar S, Smyrk TC. Signet ring cell carcinoma of the colorectum: correlations between microsatellite instability, clinicopathologic features and survival. *Mod Pathol*. febrero de 2005;18(2):244-9.

98. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. julio de 2000;124(7):979-94.

99. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*. enero de 2007;50(1):113-30.

100. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 17 de agosto de 2000;406(6797):747-52.

101. Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *The Oncologist*. septiembre de 2006;11(8):868-77.

102. Rakha EA, Green AR. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology (Phila)*. febrero de 2017;49(2):111-9.

103. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. 1 de septiembre de 1988;319(9):525-32.

104. Iacopetta B. Are there two sides to colorectal cancer? *Int J Cancer*. 10 de octubre de 2002;101(5):403-8.

105. Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Muraoka M, Onda A, Okumura Y, et al. Molecular nature of colon tumors in hereditary nonpolyposis colon cancer, familial polyposis, and sporadic colon cancer. *Gastroenterology*. agosto de 1996;111(2):307-17.

106. Salahshor S, Kressner U, Pählman L, Glimelius B, Lindmark G, Lindblom A. Colorectal cancer with and without microsatellite instability involves different genes. *Genes Chromosomes Cancer*. noviembre de 1999;26(3):247-52.

107. Jass JR, Biden KG, Cummings MC, Simms LA, Walsh M, Schoch E, et al. Characterisation of a subtype of colorectal cancer combining features of the suppressor and mild mutator pathways. *J Clin Pathol*. junio de 1999;52(6):455-60.

108. Jass JR, Barker M, Fraser L, Walsh MD, Whitehall VLJ, Gabrielli B, et al. APC mutation and tumour budding in colorectal cancer. *J Clin Pathol*. enero de 2003;56(1):69-73.

109. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite

instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* julio de 2006;38(7):787-93.

110. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1 de marzo de 1997;57(5):808-11.

111. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJV, Lightfoot TJ, Coxhead J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53--alternative genetic pathways to colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 de julio de 2002;99(14):9433-8.

112. Whitehall VLJ, Wynter CVA, Walsh MD, Simms LA, Purdie D, Pandeya N, et al. Morphological and molecular heterogeneity within nonmicrosatellite instability-high colorectal cancer. *Cancer Res.* 1 de noviembre de 2002;62(21):6011-4.

113. Chirieac LR, Shen L, Catalano PJ, Issa JP, Hamilton SR. Phenotype of microsatellite-stable colorectal carcinomas with CpG island methylation. *Am J Surg Pathol.* abril de 2005;29(4):429-36.

114. Hawkins NJ, Tomlinson I, Meagher A, Ward RL. Microsatellite-stable diploid carcinoma: a biologically distinct and aggressive subset of sporadic colorectal cancer. *Br J Cancer.* enero de 2001;84(2):232-6.

115. Tang R, Changchien CR, Wu MC, Fan CW, Liu KW, Chen JS, et al. Colorectal cancer without high microsatellite instability and chromosomal instability—an alternative genetic pathway to human colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 1 de mayo de 2004;25(5):841-6.

116. Shen L, Toyota M, Kondo Y, Lin E, Zhang L, Guo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 20 de noviembre de 2007;104(47):18654-9.

117. Chan AOO, Issa JPJ, Morris JS, Hamilton SR, Rashid A. Concordant CpG island methylation in hyperplastic polyposis. *Am J Pathol.* febrero de 2002;160(2):529-36.

118. Nazemalhosseini Mojarad E, Kuppen PJ, Aghdaei HA, Zali MR. The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2013;6(3):120-8.

119. Issa JPJ, Shen L, Toyota M. CIMP, at last. *Gastroenterology.* septiembre de 2005;129(3):1121-4.

120. Zlobec I, Bihl MP, Foerster A, Ruffe A, Terracciano L, Lugli A. Stratification and Prognostic Relevance of Jass's Molecular Classification of Colorectal Cancer. *Front Oncol.* 27 de febrero de 2012;2:7.

121. Rodríguez-Salas N, Dominguez G, Barderas R, Mendiola M, García-Albéniz X, Maurel J, et al. Clinical relevance of colorectal cancer molecular subtypes. *Crit Rev Oncol Hematol*. enero de 2017;109:9-19.
122. De Sousa E Melo F, Wang X, Jansen M, Fessler E, Trinh A, de Rooij LPMH, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med*. mayo de 2013;19(5):614-8.
123. Sadanandam A, Lyssiotis CA, Homicsko K, Collisson EA, Gibb WJ, Wullschlegel S, et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med*. mayo de 2013;19(5):619-25.
124. Marisa L, de Reyniès A, Duval A, Selves J, Gaub MP, Vescovo L, et al. Gene expression classification of colon cancer into molecular subtypes: characterization, validation, and prognostic value. *PLoS Med*. 2013;10(5):e1001453.
125. Roepman P, Schlicker A, Tabernero J, Majewski I, Tian S, Moreno V, et al. Colorectal cancer intrinsic subtypes predict chemotherapy benefit, deficient mismatch repair and epithelial-to-mesenchymal transition. *Int J Cancer*. 1 de febrero de 2014;134(3):552-62.
126. Pellino G, Gallo G, Pallante P, Capasso R, De Stefano A, Maretto I, et al. Noninvasive Biomarkers of Colorectal Cancer: Role in Diagnosis and Personalised Treatment Perspectives. *Gastroenterol Res Pract*. 13 de junio de 2018;2018:2397863.
127. Patel JN, Fong MK, Jagosky M. Colorectal Cancer Biomarkers in the Era of Personalized Medicine. *J Pers Med*. 14 de enero de 2019;9(1):3.
128. Margonis GA, Spolverato G, Kim Y, Karagkounis G, Choti MA, Pawlik TM. Effect of KRAS Mutation on Long-Term Outcomes of Patients Undergoing Hepatic Resection for Colorectal Liver Metastases. *Ann Surg Oncol*. diciembre de 2015;22(13):4158-65.
129. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 de octubre de 2014;20(20):5322-30.
130. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. octubre de 2020;31(10):1291-305.
131. Geh I, Gollins S, Renehan A, Scholefield J, Goh V, Prezzi D, et al. Association of Coloproctology of Great Britain & Ireland (ACPGBI): Guidelines

for the Management of Cancer of the Colon, Rectum and Anus (2017) - Anal Cancer. *Colorectal Dis.* 1 de julio de 2017;19:82-97.

132. Otchy D, Hyman NH, Simmang C, Anthony T, Buie WD, Cataldo P, et al. Practice parameters for colon cancer. *Dis Colon Rectum.* agosto de 2004;47(8):1269-84.

133. Yarbrow JW, Page DL, Fielding LP, Partridge EE, Murphy GP. American Joint Committee on Cancer prognostic factors consensus conference. *Cancer.* 1 de diciembre de 1999;86(11):2436-46.

134. van der Geest LGM, Lam-Boer J, Koopman M, Verhoef C, Elferink MAG, de Wilt JHW. Nationwide trends in incidence, treatment and survival of colorectal cancer patients with synchronous metastases. *Clin Exp Metastasis.* 1 de junio de 2015;32(5):457-65.

135. Lee RM, Cardona K, Russell MC. Historical perspective: Two decades of progress in treating metastatic colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2019;119(5):549-63.

136. Razenberg LGEM, van Gestel YRBM, Creemers GJ, Verwaal VJ, Lemmens VEPP, de Hingh IHJT. Trends in cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for the treatment of synchronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin in the Netherlands. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* abril de 2015;41(4):466-71.

137. Simkens GA, van Oudheusden TR, Nieboer D, Steyerberg EW, Rutten HJ, Luyer MD, et al. Development of a Prognostic Nomogram for Patients with Peritoneally Metastasized Colorectal Cancer Treated with Cytoreductive Surgery and HIPEC. *Ann Surg Oncol.* 1 de diciembre de 2016;23(13):4214-21.

138. Jawed I, Wilkerson J, Prasad V, Duffy AG, Fojo T. Colorectal Cancer Survival Gains and Novel Treatment Regimens: A Systematic Review and Analysis. *JAMA Oncol.* 1 de septiembre de 2015;1(6):787-95.

139. Grávalos C, Rodríguez-Dapena S, Alcalde J, Ignacio Martínez-Pueyo J, Castells V, Ruiz-López P. Desarrollo de una vía clínica para mejorar el proceso de tratamiento adyuvante del Carcinoma de colon. *Rev Calid Asist.* 1 de enero de 2001;16(3):173-80.

140. André T, de Gramont A, Vernerey D, Chibaudel B, Bonnetain F, Tijeras-Raballand A, et al. Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 de diciembre de 2015;33(35):4176-87.

141. Yothers G, O'Connell MJ, Allegra CJ, Kuebler JP, Colangelo LH, Petrelli NJ, et al. Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 de octubre de 2011;29(28):3768-74.

142. Schmoll HJ, Cartwright T, Tabernero J, Nowacki MP, Figer A, Maroun J, et al. Phase III Trial of Capecitabine Plus Oxaliplatin As Adjuvant Therapy for Stage III Colon Cancer: A Planned Safety Analysis in 1,864 Patients. *J Clin Oncol*. enero de 2007;25(1):102-9.
143. André T, Meyerhardt J, Iveson T, Sobrero A, Yoshino T, Souglakos I, et al. Effect of duration of adjuvant chemotherapy for patients with stage III colon cancer (IDEA collaboration): final results from a prospective, pooled analysis of six randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. diciembre de 2020;21(12):1620-9.
144. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer | Signal Transduction and Targeted Therapy [Internet]. [citado 19 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41392-020-0116-z>
145. Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, Fruth B, Greene C, O'Neil BH, et al. Impact of primary (1°) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol*. 20 de mayo de 2016;34(15_suppl):3504-3504.
146. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lupi C, Sensi E, Lonardi S, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol*. 1 de octubre de 2015;16(13):1306-15.
147. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability–High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 3 de diciembre de 2020;383(23):2207-18.
148. Tabernero J, Grothey A, Van Cutsem E, Yaeger R, Wasan H, Yoshino T, et al. Encorafenib Plus Cetuximab as a New Standard of Care for Previously Treated BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Updated Survival Results and Subgroup Analyses from the BEACON Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 de febrero de 2021;39(4):273-84.
149. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 26 de enero de 2013;381(9863):303-12.
150. Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, Yoshino T, Garcia-Carbonero R, Mizunuma N, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 14 de mayo de 2015;372(20):1909-19.
151. Prager GW, Taieb J, Fakih M, Ciardiello F, Van Cutsem E, Elez E, et al. Trifluridine-Tipiracil and Bevacizumab in Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 4 de mayo de 2023;388(18):1657-67.

152. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Bencardino K, Lonardi S, Bergamo F, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* junio de 2016;17(6):738-46.
153. van Gijn W, Marijnen CAM, Nagtegaal ID, Kranenbarg EMK, Putter H, Wiggers T, et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer: 12-year follow-up of the multicentre, randomised controlled TME trial. *Lancet Oncol.* junio de 2011;12(6):575-82.
154. Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A, Michalski W, Bebenek M, Kryj M. Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer. *Br J Surg.* octubre de 2006;93(10):1215-23.
155. Palma DA, Olson R, Harrow S, Gaede S, Louie AV, Haasbeek C, et al. Stereotactic ablative radiotherapy versus standard of care palliative treatment in patients with oligometastatic cancers (SABR-COMET): a randomised, phase 2, open-label trial. *The Lancet.* 18 de mayo de 2019;393(10185):2051-8.
156. Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, Marsoni S, Monges G, Labianca R, et al. DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst.* 8 de junio de 2011;103(11):863-75.
157. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 de julio de 2010;28(20):3219-26.
158. Pinto ML, Rios E, Durães C, Ribeiro R, Machado JC, Mantovani A, et al. The Two Faces of Tumor-Associated Macrophages and Their Clinical Significance in Colorectal Cancer. *Front Immunol.* 2019;10:1875.
159. Liu J, Geng X, Hou J, Wu G. New insights into M1/M2 macrophages: key modulators in cancer progression. *Cancer Cell Int.* 21 de julio de 2021;21(1):389.
160. Edin S, Wikberg ML, Dahlin AM, Rutegård J, Öberg Å, Oldenborg PA, et al. The distribution of macrophages with a M1 or M2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer. *PloS One.* 2012;7(10):e47045.
161. Li C, Luo X, Lin Y, Tang X, Ling L, Wang L, et al. A Higher Frequency of CD14+CD169+ Monocytes/Macrophages in Patients with Colorectal Cancer. *PLoS ONE.* 28 de octubre de 2015;10(10):e0141817.
162. CLUSTER OF DIFFERENTIATION (CD) ANTIGENS. *Immunol Guideb.* 2004;47-124.

163. Erreni M, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated Macrophages (TAM) and Inflammation in Colorectal Cancer. *Cancer Microenviron.* 17 de septiembre de 2010;4(2):141-54.
164. Nagorsen D, Voigt S, Berg E, Stein H, Thiel E, Loddenkemper C. Tumor-infiltrating macrophages and dendritic cells in human colorectal cancer: relation to local regulatory T cells, systemic T-cell response against tumor-associated antigens and survival. *J Transl Med.* 29 de noviembre de 2007;5:62.
165. Ålgars A, Irjala H, Vaittinen S, Huhtinen H, Sundström J, Salmi M, et al. Type and location of tumor-infiltrating macrophages and lymphatic vessels predict survival of colorectal cancer patients. *Int J Cancer.* 2012;131(4):864-73.
166. Braster R, Bögels M, Beelen RHJ, van Egmond M. The delicate balance of macrophages in colorectal cancer; their role in tumour development and therapeutic potential. *Immunobiology.* enero de 2017;222(1):21-30.
167. Wosik J, Suarez-Villagran M, Miller JH, Ghobrial RM, Kloc M. Macrophage phenotype bioengineered by magnetic, genetic, or pharmacologic interference. *Immunol Res.* febrero de 2019;67(1):1-11.
168. McWhorter FY, Wang T, Nguyen P, Chung T, Liu WF. Modulation of macrophage phenotype by cell shape. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 22 de octubre de 2013;110(43):17253-8.
169. Xu N, Sun T, Wang Y, Tong X, Lu S, Yang F, et al. Dynamic changes in macrophage morphology during the progression of choroidal neovascularization in a laser-induced choroidal neovascularization mouse model. *BMC Ophthalmol.* 6 de octubre de 2023;23:401.
170. HEIKKINEN J, MÖTTÖNEN M, ALANEN A, LASSILA O. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clin Exp Immunol.* mayo de 2004;136(2):373-8.
171. Shivhare SB, Bulmer JN, Lash GE. Chapter 114 - Immunity at the Maternal-Fetal Interface. En: Mestecky J, Strober W, Russell MW, Kelsall BL, Cheroutre H, Lambrecht BN, editores. *Mucosal Immunology (Fourth Edition)* [Internet]. Boston: Academic Press; 2015 [citado 17 de mayo de 2024]. p. 2231-50. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124158474001142>
172. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol.* octubre de 2002;2(10):735-47.
173. Células T CD8+ | British Society for Immunology [Internet]. [citado 19 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.immunology.org/es/public-information/inmunolog%C3%ADa-bitesized/celulas/celulas-t-cd8>
174. Farhood B, Najafi M, Mortezaee K. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review. *J Cell Physiol.* junio de 2019;234(6):8509-21.

175. Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H, et al. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 15 de agosto de 1998;58(16):3491-4.
176. Chiba T, Ohtani H, Mizoi T, Naito Y, Sato E, Nagura H, et al. Intraepithelial CD8+ T-cell-count becomes a prognostic factor after a longer follow-up period in human colorectal carcinoma: possible association with suppression of micrometastasis. *Br J Cancer.* 1 de noviembre de 2004;91(9):1711-7.
177. Prall F, Dührkop T, Weirich V, Ostwald C, Lenz P, Nizze H, et al. Prognostic role of CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in stage III colorectal cancer with and without microsatellite instability. *Hum Pathol.* julio de 2004;35(7):808-16.
178. Pagès F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Asslaber M, Tosolini M, Bindea G, et al. In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 de diciembre de 2009;27(35):5944-51.
179. Zlobec I, Karamitopoulou E, Terracciano L, Piscuoglio S, Iezzi G, Muraro MG, et al. TIA-1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein improves the prognostic performance of CD8 in mismatch repair-proficient colorectal cancer. *PLoS One.* 10 de diciembre de 2010;5(12):e14282.
180. Angell HK, Bruni D, Barrett JC, Herbst R, Galon J. The Immunoscore: Colon Cancer and Beyond. *Clin Cancer Res.* 15 de enero de 2020;26(2):332-9.
181. Galon J, Pagès F, Marincola FM, Angell HK, Thurin M, Lugli A, et al. Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force. *J Transl Med.* 3 de octubre de 2012;10(1):205.
182. Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou FS, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet Lond Engl.* 26 de mayo de 2018;391(10135):2128-39.
183. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol.* 1977;31:107-33.
184. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut.* febrero de 2016;65(2):330-9.
185. Zur Hausen H. The search for infectious causes of human cancers: where and why. *Virology.* 15 de septiembre de 2009;392(1):1-10.
186. Handa O, Naito Y, Yoshikawa T. Helicobacter pylori: a ROS-inducing bacterial species in the stomach. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc Al.* diciembre de 2010;59(12):997-1003.

187. Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe*. 14 de agosto de 2013;14(2):207-15.
188. Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, et al. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *mBio*. 5 de noviembre de 2013;4(6):e00692-00613.
189. Lin C, Cai X, Zhang J, Wang W, Sheng Q, Hua H, et al. Role of Gut Microbiota in the Development and Treatment of Colorectal Cancer. *Digestion*. 2019;100(1):72-8.
190. Conesa-Zamora P, García-Solano J, García-García F, Turpin M del C, Trujillo-Santos J, Torres-Moreno D, et al. Expression profiling shows differential molecular pathways and provides potential new diagnostic biomarkers for colorectal serrated adenocarcinoma. *Int J Cancer*. 2013;132(2):297-307.
191. Ten Hoorn S, Trinh A, de Jong J, Koens L, Vermeulen L. Classification of Colorectal Cancer in Molecular Subtypes by Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2018;1765:179-91.
192. Trinh A, Trumpi K, De Sousa E Melo F, Wang X, de Jong JH, Fessler E, et al. Practical and Robust Identification of Molecular Subtypes in Colorectal Cancer by Immunohistochemistry. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 de enero de 2017;23(2):387-98.
193. Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot IC. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology*. 2002;40(2):127-32.
194. Jiang W, Yu X, Dong X, Long C, Chen D, Cheng J, et al. A nomogram based on collagen signature for predicting the immunoscore in colorectal cancer. *Front Immunol [Internet]*. 14 de septiembre de 2023 [citado 30 de marzo de 2025];14. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1269700/full>
195. Turpín-Sevilla MDC, Pérez-Sanz F, García-Solano J, Sebastián-León P, Trujillo-Santos J, Carbonell P, et al. Global Methylome Scores Correlate with Histological Subtypes of Colorectal Carcinoma and Show Different Associations with Common Clinical and Molecular Features. *Cancers*. 14 de octubre de 2021;13(20):5165.
196. SEER [Internet]. [citado 16 de abril de 2025]. Cancer of the Colon and Rectum - Cancer Stat Facts. Disponible en: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>

197. Demetriades H, Kanellos I, Blouhos K, Tsachalis T, Vasiliadis K, Pramateftakis MG, et al. Synchronous polyps in patients with colorectal cancer. *Tech Coloproctology*. noviembre de 2004;8 Suppl 1:s72-75.
198. Granger SamP, Preece RyanAD, Thomas MichaelG, Dixon StevenW, Chambers AdamC, Messenger DavidE. Colorectal cancer incidence trends by tumour location among adults of screening-age in England: a population-based study. *Colorectal Dis*. 2023;25(9):1771-82.
199. Twelves CJ, Butts CA, Cassidy J, Conroy T, Braud F de, Diaz-Rubio E, et al. Capecitabine/oxaliplatin, a safe and active first-line regimen for older patients with metastatic colorectal cancer: post hoc analysis of a large phase II study. *Clin Colorectal Cancer*. julio de 2005;5(2):101-7.
200. Zhang L, Deng Y, Liu S, Zhang W, Hong Z, Lu Z, et al. Lymphovascular invasion represents a superior prognostic and predictive pathological factor of the duration of adjuvant chemotherapy for stage III colon cancer patients. *BMC Cancer*. 3 de enero de 2023;23(1):3.
201. Johncilla M, Yantiss RK. Histology of Colorectal Carcinoma: Proven and Purported Prognostic Factors. *Surg Pathol Clin*. septiembre de 2020;13(3):503-20.
202. Bazzi ZA, Sneddon S, Zhang PGY, Tai IT. Characterization of the immune cell landscape in CRC: Clinical implications of tumour-infiltrating leukocytes in early- and late-stage CRC. *Front Immunol*. 8 de febrero de 2023;13:978862.
203. Ferkel SAM, Holman EA, Sojwal RS, Rubin SJS, Rogalla S. Tumor-Infiltrating Immune Cells in Colorectal Cancer. *Neoplasia*. 1 de enero de 2025;59:101091.
204. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic Review of Microsatellite Instability and Colorectal Cancer Prognosis. *J Clin Oncol*. 20 de enero de 2005;23(3):609-18.
205. Graham RP, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Laird PW, Weisenberger DJ, et al. Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-based Cohort. *Am J Surg Pathol*. octubre de 2015;39(10):1340-6.
206. Canguçu AL, Valério E, Peixoto RBP, Felismino TC, de Mello CAL, Neotti T, et al. The prognostic influence of tumour budding in Western patients with stage II colorectal cancer. *ecancermedicalscience*. 29 de octubre de 2020;14:1130.
207. Zlobec I, Berger MD, Lugli A. Tumour budding and its clinical implications in gastrointestinal cancers. *Br J Cancer*. 1 de septiembre de 2020;123(5):700-8.
208. Trinh A, Ladrach C, Dawson HE, Ten Hoorn S, Kuppen PJK, Reimers MS, et al. Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype

- and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data. *Br J Cancer*. noviembre de 2018;119(10):1244-51.
209. Hatthakarnkul P, Quinn JA, Matly AAM, Ammar A, Van Wyk HC, McMillan DC, et al. Systematic review of tumour budding and association with common mutations in patients with colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2021 [citado 17 de abril de 2025];167. Disponible en: <https://eprints.gla.ac.uk/253977/>
210. Inagaki K, Kunisho S, Takigawa H, Yuge R, Oka S, Tanaka S, et al. Role of tumor-associated macrophages at the invasive front in human colorectal cancer progression. *Cancer Sci*. julio de 2021;112(7):2692-704.
211. Fujiyoshi K, Väyrynen JP, Borowsky J, Papke DJ, Arima K, Haruki K, et al. Tumour budding, poorly differentiated clusters, and T-cell response in colorectal cancer. *EBioMedicine*. julio de 2020;57:102860.
212. Trumpi K, Frenkel N, Peters T, Korthagen NM, Jongen JM, Raats D, et al. Macrophages induce "budding" in aggressive human colon cancer subtypes by protease-mediated disruption of tight junctions. *Oncotarget*. 13 de abril de 2018;9(28):19490-507.
213. Dawson H, Assarzagdegan N, Riddell R, Kirsch R, Blank A, Zlobec I, et al. Tumor budding is a strong predictor of disease-free survival in stage II colorectal cancer: Validation study based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) recommendations. *J Clin Oncol*. febrero de 2017;35(4_suppl):594-594.
214. Mitrovic B, Handley K, Assarzagdegan N, Chang HL, Dawson HAE, Grin A, et al. Prognostic and Predictive Value of Tumor Budding in Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 1 de septiembre de 2021;20(3):256-64.
215. Qu Q, Wu D, Li Z, Yin H. Tumor budding and the prognosis of patients with metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 24 de mayo de 2023;38(1):141.
216. ten Hoorn S, de Back TR, Sommeijer DW, Vermeulen L. Clinical Value of Consensus Molecular Subtypes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2 de junio de 2021;114(4):503-16.
217. Chang K, Willis JA, Reumers J, Taggart MW, San Lucas FA, Thirumurthi S, et al. Colorectal premalignancy is associated with consensus molecular subtypes 1 and 2. *Ann Oncol*. octubre de 2018;29(10):2061-7.
218. Rejali L, Seifollahi Asl R, Sanjabi F, Fatemi N, Asadzadeh Aghdaei H, Saeedi Niasar M, et al. Principles of Molecular Utility for CMS Classification in Colorectal Cancer Management. *Cancers*. 13 de mayo de 2023;15(10):2746.

219. Thanki K, Nicholls ME, Gajjar A, Senagore AJ, Qiu S, Szabo C, et al. Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and their Clinical Implications. *Int Biol Biomed J.* 2017;3(3):105-11.
220. Mooi JK, Wirapati P, Asher R, Lee CK, Savas P, Price TJ, et al. The prognostic impact of consensus molecular subtypes (CMS) and its predictive effects for bevacizumab benefit in metastatic colorectal cancer: molecular analysis of the AGITG MAX clinical trial. *Ann Oncol.* 1 de noviembre de 2018;29(11):2240-6.
221. Stintzing S, Wirapati P, Lenz HJ, Neureiter D, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. Consensus molecular subgroups (CMS) of colorectal cancer (CRC) and first-line efficacy of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab in the FIRE3 (AIO KKK-0306) trial. *Ann Oncol.* noviembre de 2019;30(11):1796-803.
222. van de Weerd S, Torang A, van den Berg I, Lammers V, van den Bergh S, Brouwer N, et al. Benefit of adjuvant chemotherapy on recurrence free survival per consensus molecular subtype in stage III colon cancer. *Int J Cancer.* 15 de enero de 2025;156(2):456-66.
223. Soldevilla B, Carretero-Puche C, Gomez-Lopez G, Al-Shahrour F, Riesco MC, Gil-Calderon B, et al. The correlation between immune subtypes and consensus molecular subtypes in colorectal cancer identifies novel tumour microenvironment profiles, with prognostic and therapeutic implications. *Eur J Cancer.* 1 de diciembre de 2019;123:118-29.
224. Thorsson V, Gibbs DL, Brown SD, Wolf D, Bortone DS, Yang THO, et al. The Immune Landscape of Cancer. *Immunity.* 17 de abril de 2018;48(4):812-830.e14.
225. Li Y, Zhao Y, Gao Y, Li Y, Liu M, Xu N, et al. Age-related macrophage alterations are associated with carcinogenesis of colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 1 de noviembre de 2022;43(11):1039-49.
226. Zhang Q, Sioud M. Tumor-Associated Macrophage Subsets: Shaping Polarization and Targeting. *Int J Mol Sci.* 19 de abril de 2023;24(8):7493.
227. Herwig MC, Bergstrom C, Wells JR, Höller T, Grossniklaus HE. M2/M1 Ratio of Tumor Associated Macrophages and PPAR-gamma Expression in Uveal Melanomas with Class 1 and Class 2 Molecular Profiles. *Exp Eye Res.* febrero de 2013;107:52-8.
228. Khanduri I, Maki H, Verma A, Katkhuda R, Anandappa G, Pandurengan R, et al. New Insights into Macrophage Polarization and its Prognostic Role in Patients with Colorectal Cancer Liver Metastasis. *Res Sq.* 19 de octubre de 2023;rs.3.rs-3439308.
229. Jansen AM, van Wezel T, van den Akker BE, Ventayol Garcia M, Ruano D, Tops CM, et al. Combined mismatch repair and POLE/POLD1 defects explain

unresolved suspected Lynch syndrome cancers. *Eur J Hum Genet.* julio de 2016;24(7):1089-92.

230. Domingo E, Freeman-Mills L, Rayner E, Glaire M, Briggs S, Vermeulen L, et al. Somatic POLE proofreading domain mutation, immune response, and prognosis in colorectal cancer: a retrospective, pooled biomarker study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* noviembre de 2016;1(3):207-16.

231. Wang C, Gong J, Tu TY, Lee PP, Fakhri M. Immune profiling of microsatellite instability-high and polymerase ϵ (POLE)-mutated metastatic colorectal tumors identifies predictors of response to anti-PD-1 therapy. *J Gastrointest Oncol.* junio de 2018;9(3):404-15.

232. Keir ME, Liang SC, Guleria I, Latchman YE, Qipo A, Albacker LA, et al. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med.* 17 de abril de 2006;203(4):883-95.

233. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:677-704.

234. Butkute A, Baltramonaitis M, Malmige S, Darinskas A, Pasukoniene V, Mlynska A. Targeting stemness pathways modulates macrophage polarization and reprograms the tumor microenvironment. *Front Immunol.* 14 de marzo de 2025;16:1513404.

235. De Smedt L, Lemahieu J, Palmans S, Govaere O, Tousseyn T, Van Cutsem E, et al. Microsatellite instable vs stable colon carcinomas: analysis of tumour heterogeneity, inflammation and angiogenesis. *Br J Cancer.* julio de 2015;113(3):500-9.

236. Khaliq AM, Erdogan C, Kurt Z, Turgut SS, Grunvald MW, Rand T, et al. Refining colorectal cancer classification and clinical stratification through a single-cell atlas. *Genome Biol.* 11 de mayo de 2022;23:113.

237. Qi J, Sun H, Zhang Y, Wang Z, Xun Z, Li Z, et al. Single-cell and spatial analysis reveal interaction of FAP+ fibroblasts and SPP1+ macrophages in colorectal cancer. *Nat Commun.* 1 de abril de 2022;13(1):1742.

238. Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 de febrero de 2011;29(6):610-8.

239. Mlecnik B, Bindea G, Pagès F, Galon J. Tumor immunosurveillance in human cancers. *Cancer Metastasis Rev.* marzo de 2011;30(1):5-12.

240. García-Solano J, Conesa-Zamora P, Trujillo-Santos J, Mäkinen MJ, Pérez-Guillermo M. Tumour budding and other prognostic pathological features at invasive margins in serrated colorectal adenocarcinoma: a comparative study with conventional carcinoma. *Histopathology.* diciembre de 2011;59(6):1046-56.

241. Nakanishi Y, Duran A, L'Hermitte A, Shelton PM, Nakanishi N, Reina-Campos M, et al. Simultaneous Loss of Both Atypical Protein Kinase C Genes in the Intestinal Epithelium Drives Serrated Intestinal Cancer by Impairing Immunosurveillance. *Immunity*. 18 de diciembre de 2018;49(6):1132-1147.e7.
242. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 29 de septiembre de 2006;313(5795):1960-4.
243. Haddad TS, Bokhorst JM, Berger MD, Dobbelaar LVD, Simmer F, Ciompi F, et al. Combining immunoscore and tumor budding in colon cancer: an insightful prognostication based on the tumor-host interface. *J Transl Med*. 2 de diciembre de 2024;22(1):1090.
244. Flemer B, Lynch DB, Brown JMR, Jeffery IB, Ryan FJ, Claesson MJ, et al. Tumour-associated and non-tumour-associated microbiota in colorectal cancer. *Gut*. abril de 2017;66(4):633-43.
245. Yu T, Guo F, Yu Y, Sun T, Ma D, Han J, et al. *Fusobacterium nucleatum* Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy. *Cell*. 27 de julio de 2017;170(3):548-563.e16.
246. Ternes D, Tsenkova M, Pozdeev VI, Meyers M, Koncina E, Atatri S, et al. The gut microbial metabolite formate exacerbates colorectal cancer progression. *Nat Metab*. 2022;4(4):458-75.
247. Purcell RV, Visnovska M, Biggs PJ, Schmeier S, Frizelle FA. Distinct gut microbiome patterns associate with consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Sci Rep*. 14 de septiembre de 2017;7:11590.

X - ANEXOS

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D^a Laly Gómez Sannicolás, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Sta. M^a del Rosell, Áreas II y VIII de Salud del Servicio Murciano de Salud

CERTIFICA QUE,

1º En reunión celebrada del día 30/04/19, acta nº 04/19 ha evaluado la propuesta del Promotor/investigador referida al estudio:

Tipo de estudio:

Estudio Observacional

Cod. Protocolo	Nº EudraCT
CSM-CCR	No procede
Clasificación de Subtipos Moleculares específicos y su Correlación con Características Clínico-Patológicas en Cáncer Colorrectal.	

Evaluando los aspectos del estudio requeridos por la legislación vigente:

- La realización del estudio en el Área II de salud es pertinente.
- El estudio cumple con los requisitos reglamentarios correspondientes al tipo de estudio.
- El diseño del estudio es adecuado para obtener las conclusiones objetivo del mismo.
- Los criterios de selección y retirada de los sujetos están indicados y son adecuados.
- Requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación a los objetivos del estudio y justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad de los investigadores y los medios disponibles apropiados para llevar a cabo el estudio.
- El grupo control ha sido adecuadamente elegido y es correcto.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiera con el respeto a los postulados éticos.
- Cumplimiento de los preceptos éticos formulados en la orden SAS 3470/2009 y la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones.

En base a lo expuesto este comité emite el siguiente dictamen:

INFORME FAVORABLE

Investigador y Centros:

Eduardo Feliciangeli Moreno, Sº Oncología Del HGUSL

Lo que firmo en Cartagena, 28 de mayo de 2019.

Fdo.: D^a Laly Gómez Sannicolás



1º EN reunión celebrada del día 30/04/19, acta nº 04/19 se decidió emitir el informe correspondiente al proyecto de Investigación anteriormente referido.

2º En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en las legislaciones vigentes:

-RD 223/2004 (regulación de Ensayos Clínicos con medicamentos) - Orden SAS 3470/2009 (Directrices sobre estudios postautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano, para que la decisión del CEIC sea válida.

3º El CEIC "H. S. M. del Rosell", tanto en su composición, como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95)

4º La composición actual del CEIC que ha evaluado la propuesta fue la siguiente:

Presidente:	D. A. Javier Trujillo Santos	Médico Adjunto Medicina Interna/Infecciosa.
Vicepresidente:	D. José Valverde Molina.	Jefe Sección, S ^a Pediatría
Secretaria:	D ^a Laly Gómez Sannicolás,	Secretaria Unidad Investigación.
Vocales:	D. José M. Bueno Ortiz,	Médico Adjunto Centro de Salud de Fuente Álamo.
	D. Francisco Sánchez Rodríguez	Responsable Farmacia, adscrito a la GAP Área II.
	D. Blas García Rojo	Médico Adjunto Servicio Anestesiología y Reanimación.
	D. Federico Soria Arcos	Médico Adjunto Servicio Cardiología.
	D ^a M ^a Teresa Roldan Chicano	Enfermera Diplomada.
	D ^a Ruth L. Manrique Medina	Médico Adjunto Gerencia A. Primaria. Técnico de Salud
	D. Javier Aranda Lorca	Licenciado en Derecho
	D. Luis Escondrillas Gómez	Responsable Farmacia del HGUSL
	D. Eduardo Osuna Carrillo de Albornoz	Catedrático Medicina Legal y Forense.

En el caso de que se evaluara algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.



DATOS DEL PROYECTO

Título:	“Clasificación de subtipos moleculares específicos y su correlación con características clínico-patológicas en cáncer colorrectal”	
Investigador Principal	Nombre	Correo-e
Dr.	Pablo Conesa Zamora	pconesa@ucam.edu

INFORME DEL COMITÉ

Fecha	26/07/2019
--------------	-------------------

Código	CE071916
---------------	-----------------

Tipo de Experimentación

Investigación experimental clínica con seres humanos	
Utilización de tejidos humanos procedentes de pacientes, tejidos embrionarios o fetales	
Utilización de tejidos humanos, tejidos embrionarios o fetales procedentes de bancos de muestras o tejidos	X
Investigación observacional con seres humanos, psicológica o comportamental en humanos	
Uso de datos personales, información genética, etc.	X
Experimentación animal	
Utilización de agentes biológicos de riesgo para la salud humana, animal o las plantas	
Uso de organismos modificados genéticamente (OMGs)	

Comentarios Respecto al Tipo de Experimentación

Nada Obsta

Comentarios Respecto a la Metodología de Experimentación

Nada Obsta



Sugerencias al Investigador

A la vista de la solicitud de informe adjunto por el Investigador y de las recomendaciones anteriormente expuestas el dictamen del Comité es:

Emitir Informe Favorable	X
Emitir Informe Desfavorable	
Emitir Informe Favorable condicionado a Subsanación	

MOTIVACIÓN
Incrementará conocimientos en su área

Vº Bº El Presidente,



Fdo.: José Alberto Cánovas Sánchez

El Secretario,




Fdo.: José Alarcón Teruel

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el *Hospital General Universitario Santa Lucía*, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área II* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

Muestras biológicas e información asociada: En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II* del *Hospital General Universitario Santa Lucía* hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia **RD09/0076/00065**, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados

por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

Protección de datos y confidencialidad: Las muestras se conservarán codificadas.

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

*Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.
Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia*

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia
Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia
Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital General Universitario Santa Lucía es gratuita.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos

gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.

Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO

Nombre y Apellidos (donante).....		
Etiqueta Identificativa Paciente		
Edad:	Sexo:	DNI:.....

Persona del centro que informa
.....
DNI:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

Confirmo que:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur *Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales

SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

.....

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante).....

Etiqueta Identificativa Paciente

Edad: Sexo: DNI:.....

Persona del centro que informa

.....

DNI:.....

Nombre y apellidos del testigo que firma..... DNI.....

Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante confirma que el donante:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales

SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

.....

.....

.....

5. Me autoriza a firmar en su nombre.

TESTIGO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante).....		
<i>Etiqueta Identificativa Paciente</i>		
Edad:	Sexo:	DNI:.....

Persona del centro que informa
.....
DNI:.....

Nombre y apellidos del tutor legal que firma..... DNI.....
 Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

El abajo firmante confirma que:

1. Se me ha informado que, llegada la mayoría de edad de mi representado, este tendrá derecho a revocar o modificar este consentimiento, para lo cual deberá estar debidamente informado. En caso de que no ejerza dicho derecho, se considerará que el actual documento de consentimiento informado sigue vigente.
 SI NO
2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....
3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:
4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

5. Me autoriza a firmar en su nombre.

TUTOR	ASENTIMIENTO DEL MENOR CAPACITADO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

POR EL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI anulo el consentimiento prestado en fecha..... de.....de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II**, que doy por finalizada al día de hoy.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI, Como representante legal de D/Dña....., con DNI....., anulo el consentimiento prestado en fecha.....de.....de 20.....y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II**, que doy por finalizada al día de hoy.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....