



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA

**Título: CORRELACIÓN DE LA PRESENCIA DE METÁSTASIS
GANGLIONARES CON LA INMUNORREACTIVIDAD DE P53 Y BETA-
CATENINA, EN CARCINOMA COLORECTAL.**

DRA. CARMEN ISABEL SÁNCHEZ ACOSTA

ASESOR
DR. CUAUHTÉMOC OROS OVALLE

CO – ASESORES
DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ SIERRA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

TÍTULO DE TESIS
**CORRELACIÓN DE LA PRESENCIA DE METÁSTASIS GANGLIONARES
CON LA INMUNORREACTIVIDAD DE P53 Y BETA-CATENINA, EN
CARCINOMA COLORECTAL**

PRESENTA
DRA. CARMEN ISABEL SÁNCHEZ ACOSTA

Firmas

DR. CUAUHTÉMOC OROS OVALLE, Jefe del departamento de Anatomía Patológica, Posgrado. Asesor	
DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ SIERRA, Postgrado. Co – asesores	
Sinodales	
M.C. NADIA JUDITH GÓMEZ HERNÁNDEZ. PRESIDENTE.	
DRA. MARY CARMEN GUTIÉRREZ GIL.	
DR. DAVID MARTÍNEZ GALLA.	
M.C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefe del Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	M. en C. Nadia Judith Gómez Hernández Coordinador de la Especialidad en Anatomía Patológica.

RESUMEN

Introducción.

En México el carcinoma colorrectal (CCR) se encuentra dentro de las tres primeras causas de mortalidad por neoplasia, se estima una supervivencia a 3 años de un 56.3%. La transformación de la mucosa normal a carcinoma invasor requiere de alteraciones genéticas y epigenéticas acumuladas que se definen por diferentes vías de carcinogénesis. Por lo que en nuestro estudio buscamos la asociación de la expresión de marcadores de inmunohistoquímica con la metástasis ganglionar en el CCR.

Objetivos.

General: Determinar si existe asociación entre la expresión de p53 y B-catenina* y las metástasis ganglionares en CCR.

Específicos: Identificar posibles diferencias en la expresión de p53 y B-catenina con la presencia o ausencia de metástasis.

Diseño del estudio.

Es un estudio transversal, analítico y prolectivo.

Material y métodos.

Se obtuvo la aceptación del Comité de Ética en Investigación, para la recolección de datos del Sistema Estandarizado del Servicio de Anatomía Patológica de la institución, de los pacientes que tuvieran un informe histopatológico de carcinoma colorrectal, en el periodo comprendido del 01 de enero del 2010 al 01 de mayo del 2018. Se evaluó y seleccionó uno de los bloques de tumor, por técnica de inmunohistoquímica se realizaron reacciones con p53 y B-catenina en cada uno de los cortes; con la evaluación y estimación de casos positivos y negativos.

Resultados.

En el estudio se analizaron muestras de 101 pacientes, el 58% (59 casos) son mujeres y 42% (42 casos) son hombres, con una edad promedio de 57 años. El 46.5% de las muestras obtenidas presentaban ganglios positivos. Con respecto al análisis bivariado se calculó la correlación entre metástasis ganglionares y la expresión de p53 y B-catenina, así como las demás variables confusoras; en las se encontró únicamente asociación positiva entre B-catenina y Dukes con la presencia de metástasis. Sin embargo, en el análisis multivariado también se observó una tendencia entre el grado de diferenciación y metástasis con p53.

Conclusiones.

La expresión de p53 no reveló asociación significativa lo que quizá podría relacionarse con el número de muestra.

La expresión de B-catenina como factor pronóstico se ha estudiado en los últimos años, no obstante, existen publicaciones contradictorias. En nuestro estudio encontramos asociación estadísticamente significativa con la presencia de expresión nuclear y la presencia de metástasis ($p=0.03$) además de la asociación positiva con la escala de Dukes con una $p=0.0001$.

ÍNDICE

RESUMEN	4
DEDICATORIAS	I
RECONOCIMIENTOS.....	II
AGRADECIMIENTOS	III
ANTECEDENTES.	I
JUSTIFICACIÓN.	6
HIPÓTESIS.	7
OBJETIVOS.	7
SUJETOS Y MÉTODOS.	8
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	12
ÉTICA.....	13
RESULTADOS.	15
DISCUSIÓN.	25
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.	27
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA.	29
ANEXOS.	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Variables	9
Tabla 2 Distribución etaria de pacientes estudiados	16
Tabla 3 Subtipo histológico de los carcinomas estudiados.....	17
Tabla 4 Variables estudiadas en función a la presencia de metástasis ganglionar.....	20
Tabla 5 Regresión logit p53.....	21
Tabla 6 Regresión logit B-catenina.....	22

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Total población estudiada por sexo	15
Gráfica 2 Distribución por tipo de espécimen	16
Gráfica 3 Grado de diferenciación	17
Gráfica 4 Grado de invasión (pT)	18
Gráfica 5 Distribución de metástasis ganglionares en los casos (pN).....	19
Gráfica 6 Pacientes con metástasis ganglionares en relación a la expresión de B-catenina.....	23
Gráfica 7 Pacientes con metástasis ganglionares en relación a la expresión de B-catenina.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

IHQ: Inmunohistoquímica

WHO: World Health Organization

CCR: Carcinoma colorectal

B-Catenina: Betacatenina

B-Cat: Betacatenina

TNM: Sistema de estadificación de cáncer



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Medicina
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en

DEDICATORIAS

A mi esposo, Andrés.

A mi familia.



RECONOCIMIENTOS

A mi asesor de tesis y maestro Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle.

A todos mis maestros estos años de residencia, Dra. Nadia Gómez, Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil, Dra. Claudia Peña Zepeda y Dr. David M. Martínez Galla, gracias por todas sus enseñanzas, su calidez, por su guía, su paciencia y dedicación.

A mis compañeras Hortencia Elizabeth Mendoza Lara, Patricia Anchondo Núñez y Karen Selene Abonce Villagomez, por su apoyo.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Medicina
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en

AGRADECIMIENTOS

Al personal del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, que durante el periodo de elaboración de tesis me apoyaron con trabajo e influyeron de manera positiva en mi formación profesional.

1. ANTECEDENTES.

El adenocarcinoma colorrectal es el proceso maligno más frecuente del tubo digestivo y una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en todo el mundo (10% de las muertes por cáncer¹). En México representa 7.4% de las muertes relacionadas con cáncer², mientras que en EE. UU. es la segunda causa de muerte en hombres y la tercera en mujeres³. Tiene una incidencia máxima entre la sexta y séptima décadas de la vida, siendo considerada como la tercera causa de muerte en pacientes con cáncer según la OMS.

Aproximadamente el 50% de los carcinomas se sitúan en el área rectosigmoidea. Existe correlación entre características clínicas y subsitio anatómico de la localización del tumor: En ancianos, negros y pacientes con enfermedad diverticular; son más comunes en el lado derecho y son multicéntricos en 3- 6% de los casos⁴.

La resección quirúrgica es el pilar del tratamiento, mientras el examen patológico es la clave para determinar el pronóstico y guiar la terapia oncológica adyuvante.

CARCINOGENESIS

La carcinogénesis colorrectal es heterogénea e incluye anomalías genéticas y epigenéticas. A la fecha, se han descrito diferentes vías genéticas, dentro de las principales se encuentran la vía APC/ β -catenina (adenoma-carcinoma) y de inestabilidad de los microsatélites. Ambas vías implican la acumulación paulatina de varias mutaciones, pero los genes implicados y los mecanismos son diferentes. Otras mutaciones, como las activadoras de K-RAS, promueven el crecimiento e impiden la apoptosis; ésta se asocia a un suceso tardío. El gen supresor tumoral TP53 se encuentra mutado en el 70-80% de estas neoplasias, pero su afección es infrecuente en los adenomas. Se consideran deleciones cromosómicas y metilación de genes promotores y el

locus de inicio de la transcripción.

Aunque la morfología no puede definir los episodios moleculares subyacentes que conducen a la carcinogénesis, se han encontrado algunas correlaciones con la deficiencia de la reparación de errores y la inestabilidad de los microsatélites. Esas alteraciones son frecuentes en los adenomas sésiles serrados y los adenocarcinomas que se originan a partir de ellos. Además, los carcinomas invasores con inestabilidad de los microsatélites muestran diferenciación mucinosa con infiltrado linfocítico peritumoral prominente.

La World Health Organization (WHO), en su cuarta edición del año 2010, divide histológicamente los tumores de carcinoma colorrectal en adenocarcinoma comedo tipo cribiforme; medular; micropapilar; serrado; carcinoma con células en anillo de sello; carcinoma de células escamosas; carcinoma adenoescamoso; carcinoma de células fusiformes y carcinoma indiferenciado⁵. Según la extensión de las formaciones glandulares, estos carcinomas se dividen de acuerdo a su grado en bien, moderadamente y poco diferenciados. Otra forma de categorizarlos es en bajo grado (que incluyen los adenocarcinomas bien diferenciados y moderadamente diferenciados) y de alto grado (poco diferenciados y carcinomas indiferenciados). Los adenocarcinomas mal diferenciados deben mostrar al menos cierta formación de glándulas o producción de moco; las glándulas están típicamente contorneadas y distorsionadas. Cuando un carcinoma tiene heterogeneidad en la diferenciación, la clasificación debe basarse en el componente menos diferenciado, sin incluir el frente principal de la invasión.

El porcentaje del tumor que muestra la formación de estructuras similares a glándulas puede ser utilizado para definir el grado.

- Grado 1 (bien diferenciado). Exhiben estructuras glandulares en >95% del tumor.
- Grado 2 (moderadamente diferenciado). Tiene 50-95% de glándulas
- Grado 3 (pobremente diferenciado). 5-50%, que incluyen el

adenocarcinoma mucinoso y el carcinoma de células en anillo de sello.

- Grado 4 (indiferenciado). Tiene <5%, que incluye al carcinoma medular con inestabilidad microsatelital de alto grado.

Aunque los adenocarcinomas poco diferenciados y mucinosos se asocian a un mal pronóstico, los dos factores más importantes corresponden a la profundidad de la invasión y la presencia o ausencia en ganglios linfáticos. Se ha reportado que al momento del diagnóstico 20% de los pacientes tienen enfermedad metastásica⁶; la localización más frecuente de metástasis es en ganglios regionales, pulmones, hígado y huesos (excepto los carcinomas de la región anal). Los principales señaladores de supervivencia a 5 años son las metástasis ganglionares en conjunto con el tamaño tumoral.

Los biomarcadores pronósticos actuales son todavía insuficientes para identificar alto riesgo de recurrencias y de mortalidad, así como la selección de pacientes con bajo riesgo de recurrencia que podría evitar la morbilidad y costo de terapias adyuvantes posteriores a la cirugía⁷.

La disección de ganglios linfáticos es una parte vital para estadificar el tumor, el promedio aceptado son al menos de 12, pero la mayor parte de los patólogos trata de obtener 18 o más. El sistema de estadificación de Dukes (Ver Apéndice 1) tiene ventaja y simplicidad por lo que aún se utiliza, pero un pronóstico más sofisticado es posible mediante el uso del TNM (Ver Apéndice 2). La invasión tumoral venosa es un indicador importante para la recomendación de quimioterapia adyuvante (con ganglios negativos), aunque no se encuentra claramente incluido en los sistemas de estadificación²².

p53

Es un gen supresor localizado en el brazo corto del cromosoma 17p13.11, con un peso molecular de 53KDa⁸, es un factor de transcripción de supresión tumoral. Su activación puede ser por una amplia variedad de

señales de estrés intracelular incluidos el daño del ADN, activación del oncogén, hipoxia, etc. Estas señales activan la proteína p53 a través de modificaciones postraduccionales: fosforilación, acetilación, metilación, etc.

Su mutación no sólo genera pérdida de la función supresora sino también aumenta nuevas actividades para promover la tumorigénesis independientemente de p53, incluida la sobreexpresión y/o amplificación de reguladores negativos como MDM2, MDM4, Cop1, Pirh2, Trim32 y LIF. Esta proteína a menudo se acumula a niveles altos en los tumores, lo que contribuye a la progresión maligna⁹, su acumulación es nuclear y las células tumorales invasoras generan un microambiente desmoplásico, lo que promueve la invasión y la metástasis de tumores intestinales¹⁰. De acuerdo con estos datos algunos autores sugieren un tratamiento más agresivo para reducir el riesgo de recaída o metástasis.

Debido a la frecuencia de mutación y su papel en la progresión del cáncer, p53 se ha convertido en un objetivo para la terapia contra el cáncer. Actualmente se están desarrollando compuestos que lo centran como terapia clave¹¹; lo cual podría dar nuevas expectativas a largo plazo al presente estudio de investigación.

BETA-CATENINA.

Es una proteína de 88 kD de la familia de proteínas que son componentes importantes del citoesqueleto. Es miembro de la señalización de la cascada Wnt, la activación de esta ha sido asociada con muchos tipos de tumores, especialmente en el CCR. Actúa como activador transcripcional que activa genes necesarios para la proliferación celular, diferenciación y crecimiento invasivo, por lo que se estudia su relación con el comportamiento en el carcinoma colorrectal. S. El-Gendi y col. encontraron un aumento en la expresión citoplásmica y nuclear de B-catenina en el centro del tumor, así como su asociación con angiоinvasión venosa, infiltración linfática y ganglios linfáticos regionales metastásicos. Su correlación no fue significativa en los tumores con invasión en “ciernes” o involucro de la serosa¹².

En otros estudios su expresión se ha correlacionado con tumores de alto grado histológico y porcentaje bajo de supervivencia libre de enfermedad, así como con la presencia de metástasis ganglionares con inmunexpresión nuclear¹³. Kasem y col., encontraron una asociación positiva entre COX-2 y B-catenina con mayor frecuencia en tumores grado II¹⁴, por lo cual sugieren una interacción coordinada de estas moléculas para el crecimiento e invasión del CCR.

ASOCIACIÓN INMUNOEXPRESIÓN p53 Y B-CATENINA EN CARCINOMAS COLORRECTALES

Faris L. N. y col., estudiaron la expresión conjunta de los dos marcadores en adenomas colorrectales, que aunque no son las únicas lesiones precancerosas son las más comunes. En este estudio consideran parámetros valiosos como marcadores que se correlacionan con el tamaño y grado de displasia de los adenomas colorrectales¹⁵.

En otro estudio se buscó la expresión de p53 y B-catenina, con resultados significativos. La relación de los pacientes con alta expresión de p53, se asoció a mal pronóstico y se correlacionó con el tamaño tumoral principalmente en pacientes en estadios II y III; mientras que la B-catenina se correlacionó significativamente en el tumor en ciernes con mayor expresión así como a la aparición de recurrencia local del tumor, metástasis a distancia en ganglios linfáticos¹⁶.

2. JUSTIFICACIÓN.

La incidencia del CCR tiene según datos de la OMS continúa en ascenso, debido a la complejidad de la carcinogénesis en el CCR ha abierto amplias líneas de investigación para determinar las mutaciones responsables del desarrollo de la progresión hacia el carcinoma. Sin embargo, en los últimos años se buscan marcadores que puedan establecer factores pronósticos en pacientes con poca respuesta a tratamiento o metástasis.

Wang L. y colaboradores, estudiaron en 254 pacientes la expresión de PD- L1, p53 y Ki67 en adenocarcinomas esporádicos sin quimioterapia o radioterapia, su trabajo arrojó una asociación positiva para los tumores con inmunexpresión a los tres marcadores con la tasa de libre de enfermedad a 5 años.

El actual trabajo buscará la correlación entre la expresión de p53 y B-catenina con la presencia de metástasis, que se han considerado factores expresados en etapas clínicas avanzadas. No existen actualmente, investigaciones que correlacionen las vías carcinogénicas que representan los anticuerpos. Proponemos una asociación económica y accesible al patólogo general, que puede reflejarse en la detección temprana de factores pronósticos con repercusión clínica.



3. HIPÓTESIS.

Existe asociación independiente entre mayor número de marcadores (p53 y B-catenina) que se correlaciona con la presencia de metástasis ganglionares en pacientes con carcinoma colorrectal.

4. OBJETIVOS.

Objetivo general:

- Determinar si existe asociación independiente entre la expresión de p53, y B-catenina con la presencia de metástasis ganglionares en CCR.

Objetivos específicos:

- Estimar la presencia de metástasis con cada uno de los marcadores de proliferación celular.
- Identificar posibles diferencias en la Inmunoexpresión de p53 y Beta-Catenina en los pacientes con metástasis.
- Determinar si la existe asociación entre cada uno de los marcadores y correlaciona con la presencia de metástasis ganglionares.

Objetivos secundarios:

- Estimar la frecuencia de Ca. de colon del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.
- Registrar los datos epidemiológicos de los pacientes con CCR.

Objetivos exploratorios:

- Determinar la mayor fuerza de asociación de la inmunoexpresión de los marcadores.

5. SUJETOS Y MÉTODOS.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, en San Luis Potosí, San Luis Potosí.

UNIVERSO DE ESTUDIO: Pacientes con diagnóstico de carcinoma colorrectal registrados en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central “Ignacio Morones Prieto”.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Inclusión:

- Diagnóstico histopatológico de carcinoma colorrectal con resección de segmento intestinal.
- Disponibilidad de bloques de parafina en el archivo.

Exclusión:

- Casos de revisión en los que el espécimen de colectomía no fue analizado en el laboratorio
- Casos de metástasis de carcinoma colorrectal sin resección en el hospital.

Eliminación:

- Casos en los que no se disponga de los bloques de parafina.
- Resecciones intestinales sin disección ganglionar o que sean menores a 4 ganglios linfáticos.

VARIABLES EN EL ESTUDIO

- Variables Dependientes: Presencia de metástasis ganglionar.
- Variable Independiente: inmunexpresión de p53 y Beta-catenina.
- Variables de confusión/sociodemográficas: edad del paciente y sexo.

Tabla 1. Variables				
Dependiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
	Presencia de metástasis ganglionares	Sí No	-	Dicotómica
Independiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Inmunoexpresión de p53	Presencia de inmunoreacción en las células neoplásicas con patrón nuclear de p53	<10%= Negativo + 10%= Positivo	0 1	Nominal
Inmunoexpresión de B-catenina	Presencia de inmunoreacción en las células neoplásicas con patrón nuclear de B-catenina	<5%= Negativo + 5%= Positivo	0 1	Nominal
Variables de confusión / sociodemográficas				
Variable	Definición Operacional	Valores posibles	unidades	Tipo de variable
Edad	Años cumplidos por el paciente	<50 años >50 años	Años	Continua
Sexo	Sexo biológico del paciente	Masculino Femenino	M F	Nominal

TIPO DE MUESTREO. Se seleccionaron de manera consecutiva los casos con diagnóstico de carcinoma colorrectal en los registros del laboratorio de anatomía patológica, comprendido del 1 de enero de 2010 a 01 mayo de 2018. En dicho período existe una media de 16 resecciones intestinales por año, de las cuales se elegirán los casos de acuerdo a los criterios de inclusión considerados.

MATERIAL Y MÉTODOS.

1. Se obtuvo la aceptación del Comité de Ética en Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” para la recolección de datos del Sistema Estandarizado del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, de los pacientes que tuvieran un informe histopatológico de carcinoma colorrectal, durante el periodo comprendido del 01 de enero del 2010 al 01 de mayo del 2018.

2. Se recabaron y evaluaron la calidad de las muestras de tejido de las piezas quirúrgicas de los pacientes diagnosticados con carcinoma colorrectal.

3. Se realizaron dos cortes histológicos en promedio para la aplicación de la técnica de inmunohistoquímica:

- Se realizaron cortes de 3-4 micras, que se mantienen en desparafinado por 12 horas a una temperatura de 60°. Posteriormente se mantienen a temperatura ambiente para colocarlos en xileno (10 minutos) con hidratación progresiva pasando por alcoholes absoluto, 96°, 80° y agua destilada.
- Con la colocación del buffer de desenmascaramiento Diva Decloacker, Biocare® con empleo de olla de presión automatizada (Decloacker Chamber, Biocare®)
- Agua destilada por 5 min, con exposición a H3O3 por 15min, enjuagándolos posteriormente y colocar Buffer TBS.

- Los anticuerpos B-catenina (B-catenin-1, Dako) y p53 (Cell Marque) se colocaron en cámara húmeda por 40min.
 - Se realiza enjuague con TBS y se contratiñeron con hematoxilina.
5. Posterior a un análisis de concordancia inter e intraobservador, se determinó la expresión de p53 y B-catenina en los cortes histológicos del tumor. La evaluación de los cortes se realizó por microscopía de luz y la expresión nuclear de las células tumorales fue recabada en escala cuantitativa, categorizándola como negativo o positivo sin considerar la intensidad de la expresión. Así pues, la evaluación se realizó en los cortes histológicos que mostraban la mayor invasión.
6. Se analizaron los datos y se hicieron inferencias estadísticas de los resultados obtenidos.



6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Regresión logística

Tamaño de la muestra = número de factores x 10 (regresión logística)
÷probabilidad del evento.

Metástasis ganglionares= p53, B-catenina

$$\begin{aligned} \mathbf{SS} &= \frac{(\text{Número de variables (2)}) \times 10}{= 100 \text{ Incidencia del evento}} = \frac{20}{0.2} \end{aligned}$$

Tamaño de la muestra = 101

PRUEBAS ESTADÍSTICAS.

Los resultados se obtuvieron en función a análisis multivariado y regresión logit, empatando cada una de las variables con la presencia de metástasis ganglionares.

7. ÉTICA.

Investigación sin riesgo. En el presente estudio no será necesario hacer partícipe a los pacientes de manera directa, ya que será basado en los informes histopatológicos y los bloques de parafina disponibles en archivo. Cada caso se identificará con el número de quirúrgico asignado, y los datos de cada uno de ellos se manejarán con estricta confidencialidad. Por lo tanto, no se precisará obtener el consentimiento informado. Todos los datos, se mantuvieron en estricta confidencialidad y se hicieron todos los esfuerzos necesarios para que la información no pueda ser relacionada con la persona de quien proviene, conforme a lo referido por las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos. Elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2017:41), la Declaración de la 18ª Asamblea Mundial de Helsinki, Finlandia, en su revisión 2013, (46) y a la NOM-012-SSA3-2012.

Durante todo el proceso se siguió en forma estricta la metodología y buenas prácticas clínicas que marca el manual de bioseguridad del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

8. RESULTADOS

Características de la población estudiada.

El presente estudio retrospectivo transversal se realizó en un total de 101 pacientes seleccionados con diagnóstico de cáncer colorrectal, desde 2010 hasta 2018, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión del estudio. Durante el periodo mencionado se encontraron 196 resecciones intestinales con diagnóstico de CCR, 14 de las cuales se excluyeron por contar con una resección ganglionar menor a 4 ganglios linfáticos y 81 de estos no se contaba con el material en el departamento.

La información demográfica y clínica se registró en una base de datos que incluye edad, sexo, localización de tumor, tumor, grado de diferenciación, ganglios linfáticos y estadiaje TNM.

De los 101 pacientes, el 58% (59 casos) son mujeres y 42% (42 casos) son hombres (Gráfico 1).

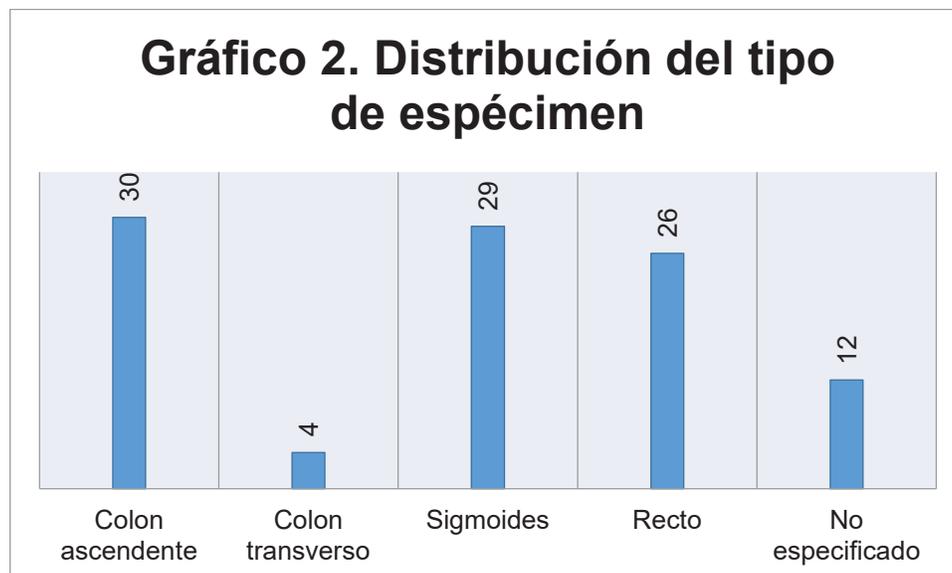


La edad promedio de los casos fue de 57 años, con una distribución entre 23 a 85 años (Tabla 1).

Tabla 2. Distribución etaria de pacientes estudiados

<30	4
30-45	23
46-65	42
>66	32

Los tejidos de los especímenes se obtuvieron de bloques de parafina de la resección tumoral, de acuerdo a los protocolos de procedimientos del laboratorio de patología: 26 pacientes con tumor de recto (incluyendo resecciones anteriores bajas y exenteraciones pélvicas), 29 resecciones de sigmoides, y 30 pacientes con tumor primario de colon ascendente y 4 resecciones de colon transversal; además de 12 especímenes de los que no se especificó el tipo de procedimiento quirúrgico (Gráfico 2).



El grado de diferenciación fue predominantemente moderado, seguido del bien diferenciado como se observa en la gráfica 3; el subtipo histológico se distribuyeron como lo indican las tabla 3, e incluyen de tipo intestinal, mucinoso, de células en anillo sello y un caso categorizado como carcinoma medular. El tamaño tumoral que se distribuye entre 1cm y 15cm, con una media de 6.27cm.

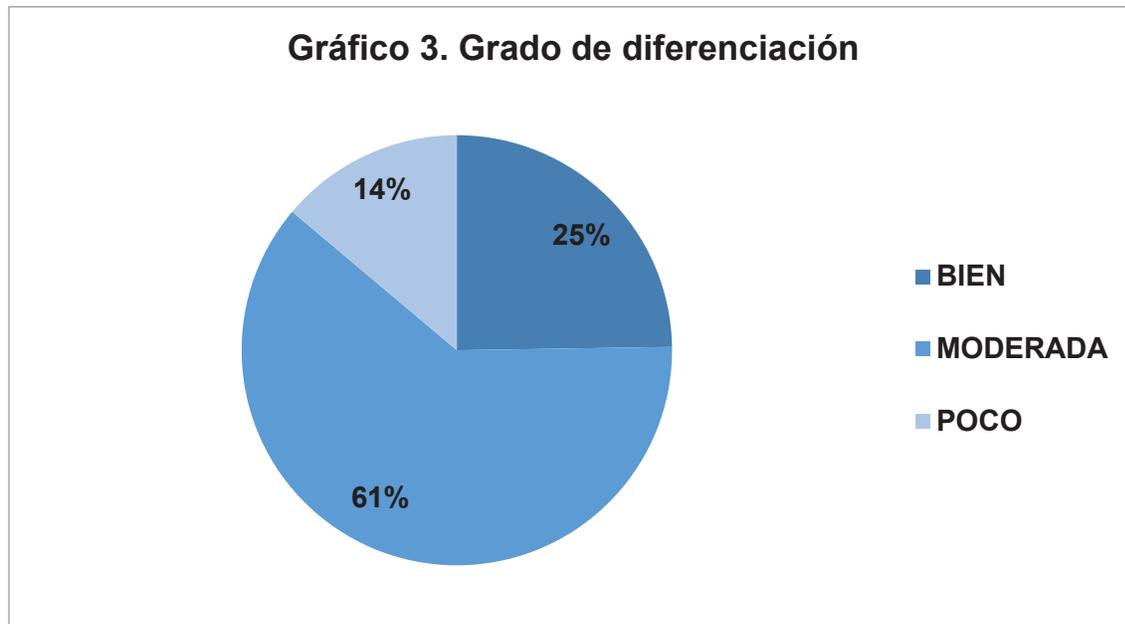
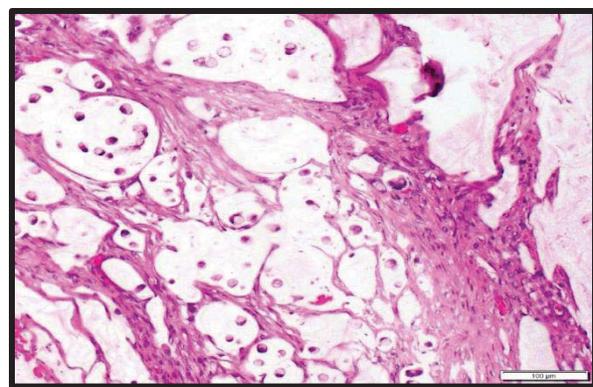
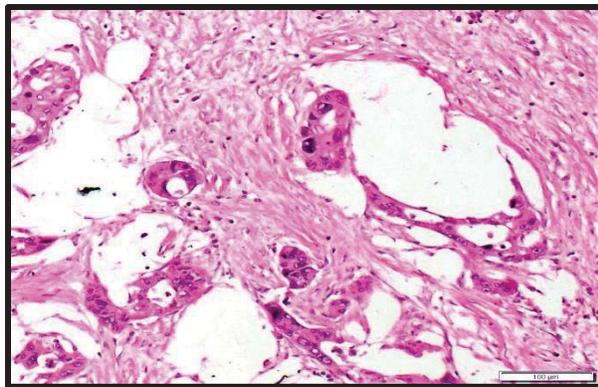
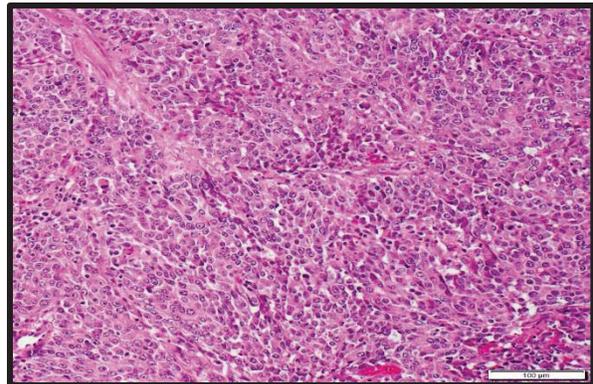
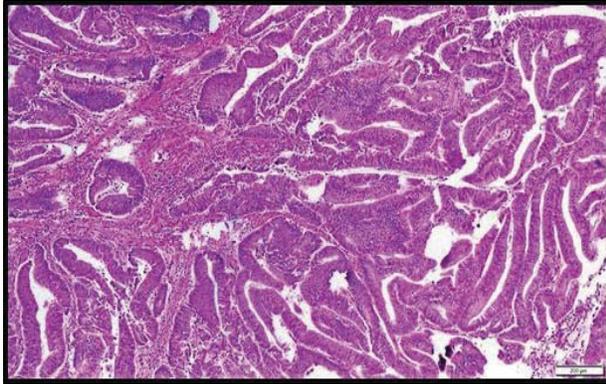
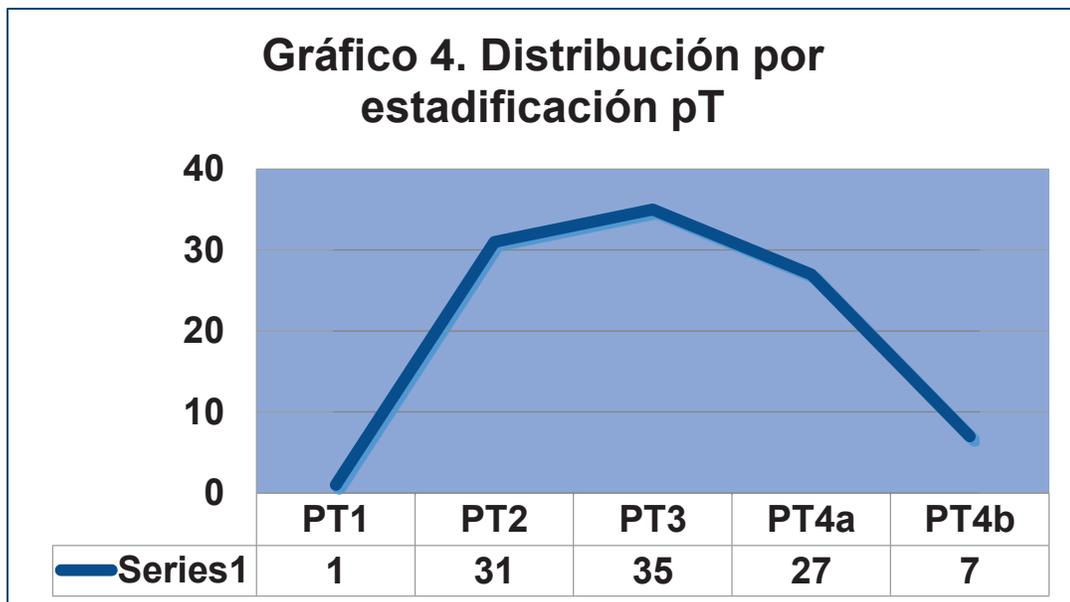


Tabla 3. Subtipo histológico de los carcinomas estudiados.

INTESTINAL	89
CÉLULAS EN ANILLO DE SELLO	3
MUCINOSO	6
MEDULAR	1
MIXTO	2

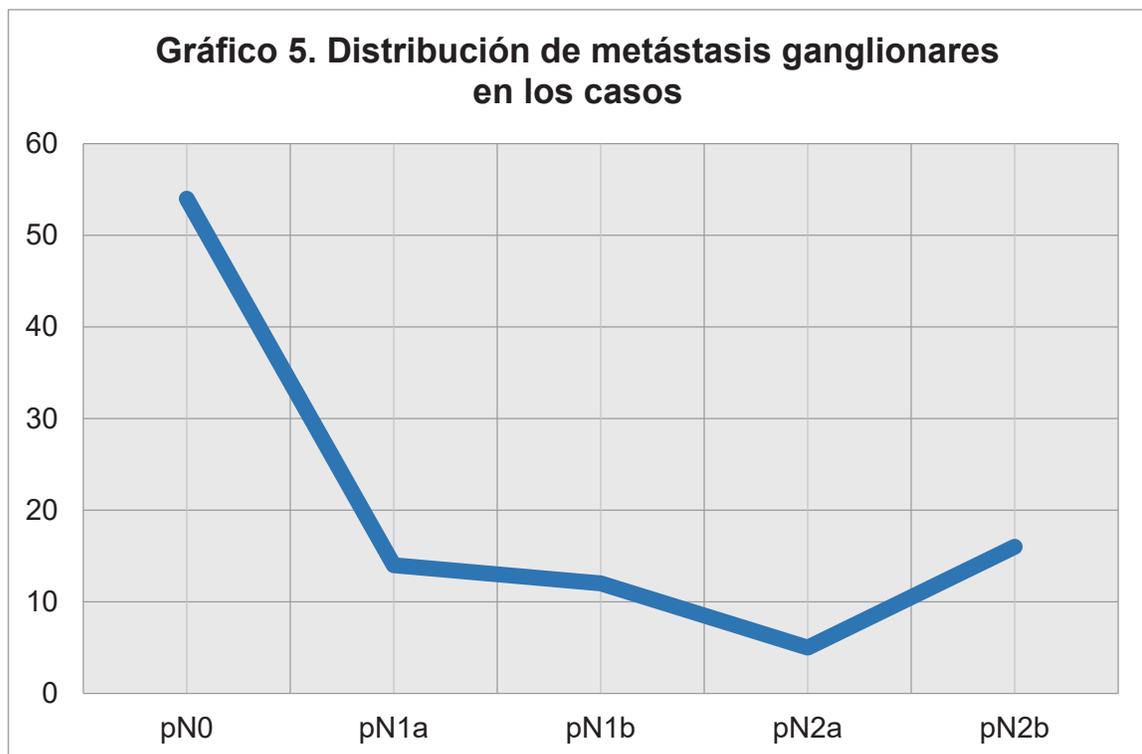


Variantes histológicas encontradas: tipo intestinal, medular, mucinoso y con células en anillo de sello, respectivamente.



Dentro de los datos recabados también se clasificaron de acuerdo a la etapa clínica y grado de invasión; en los siguientes gráficos 3 y tabla 4, se muestra la distribución del grado de invasión y metástasis ganglionares por medio del TNM.

El 46.5% de las muestras obtenidas presentaban ganglios positivos, y en la gráfica 4 se observa la dispersión del número de ganglios, los cuales se encuentran agrupados de acuerdo al TNM, considerando: pN0=sin metástasis ganglionares regionales, pN1a: un ganglio linfático positivo, pN1b: dos o tres ganglios linfáticos positivos, pN1c: depósitos tumorales (en los casos estudiados no se encontraron reportados), pN2: cuatro o más positivos, pN2a: de cuatro a seis, pN2b: siete o más ganglios linfáticos positivos.



Con respecto al análisis bivariado se calculó la correlación entre el p53 y B-catenina y las demás variables confusoras con las metástasis ganglionares.

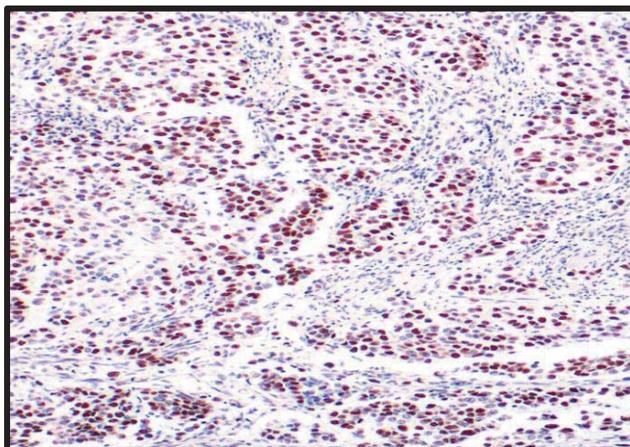


En la Tabla 4 se presentan las variables estudiadas asociadas con metástasis ganglionares; dentro de las que existe únicamente asociación entre B-catenina y Dukes con la presencia de metástasis. Sin embargo, en el análisis multivariado también se observó una tendencia entre el grado de diferenciación y metástasis con p53 (Tabla 5).

Tabla 4. Variables estudiadas en función a la presencia de metástasis ganglionar				
Variables	Total	Positiva Metástasis	Negativa Metástasis	<i>p</i>
GENERO				
Hombre	42 (41.5)	18	24	0.53
Mujer	59 (58.4)	29	30	
EDAD DEL DIAGNÓSTICO				
<50	35 (34.6)	18	17	0.73
>50	66 (65.3)	29	37	
LOCALIZACIÓN DE TUMOR				
Colon ascendente	30 (29.7)	14	16	
Colon transverso	4 (3.9)	0	4	
Sigmoides	29 (28.7)	15	14	
Recto (Resección anterior baja, exenteración...)	26 (25.7)	12	14	
No especificado	12 (11.8)	6	6	
GRADO DE DIFERENCIACIÓN				
Bien	25 (24.7)	8	17	0.08
Moderadamente	63 (62.3)	30	33	
Poco	13 (12.8)	9	4	
Grado de invasión (TNM)				
pT1	1 (0.9)	0	1	0.11
pT2	31 (30.6)	9	22	
pT3	35 (34.6)	19	16	
pT4a	27 (26.7)	16	11	
pT4b	7 (6.9)	3	4	
Dukes				
B1	1 (0.9)	0	1	0.0001
B2	53 (52.4)	0	53	
C1	9 (8.9)	9	0	
C2	38 (37.6)	38	0	
p53 nuclear				
POSITIVO	53 (52.4)	28	25	0.18
NEGATIVO	48 (47.5)	19	29	
B-catenina nuclear				
POSITIVO	25 (24.7)	7	18	0.03
NEGATIVO	76 (75.2)	40	36	

El análisis estadístico se realizó por regresión logit, empleando la expresión de p53 en los pacientes con metástasis ganglionares y emparentando las demás variables como se muestra en la Tabla 5.

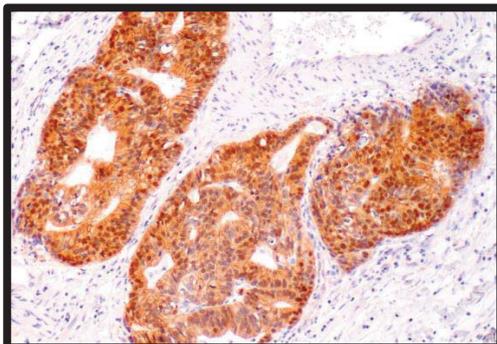
Tabla 5. Regresión logit p53				
Effect	Degr. of Freedom	Log-Likelihood	Chi-Square	p
Intercept	1	-69.7651		
DUKES MODIFICADA	3	-0.0000	139.5302	0.000000
GRADO DE DIFERENCIACIÓN	2	-0.0000	0.0000	1.000000
P53 NUCLEAR % (0=<10, 1=>10)	1	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/GRADO DE DIFERENCIACIÓN	4	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/p53 NUCLEAR	2	-0.0000	0.0000	1.000000
GRADO DE DIFERENCIACIÓN/p53 NUCLEAR	2	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/GRADO DE DIFERENCIACIÓN/p53	2	-0.0000	0.0000	1.000000



La figura de la derecha muestra la inmunorrección de p53.

En el análisis multivariado se incluyó B-catenina, Escala de Dukes y grado de diferenciación; así como sus interacciones, se encontró que la asociación positiva existe y es estadísticamente significativa entre la inmunorreacción neoplásica a B-catenina y el grado en la Escala de Dukes (Tabla 6).

Tabla 6. Regresión logit B-catenina				
Effect	Degr. of Freedom	Log-Likelihood	Chi-Square	p
Intercept	1	-69.7651		
B-CATENINA NUCLEAR % (0=<5, 1=>5)	1	-67.3977	4.7348	0.29559
DUKES MODIFICADA	3	-0.0000	134.7954	0.000000
GRADO DE DIFERENCIACIÓN	2	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/GRADO DE DIFERENCIACIÓN	4	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/B-CATENINA NUCLEAR	1	-0.0000	0.0000	1.000000
GRADO DE DIFERENCIACIÓN/p5B-CATENINA NUCLEAR	2	-0.0000	0.0000	1.000000
DUKES MODIFICADA/GRADO DE DIFERENCIACIÓN/B-CATENINA NUCLEAR	1	-0.0000	0.0000	1.000000



La figura de la derecha muestra la inmunorrección de B-catenina.

A continuación, en los gráficos 5 y 6, se muestra la distribución de la expresión de B-catenina en asociación con las metástasis ganglionares.

Gráfico 6. Pacientes con metástasis ganglionares en relación a expresión de Beta-catenina.

■ B-CAT POSITIVO ■ B-CAT NEGATIVO

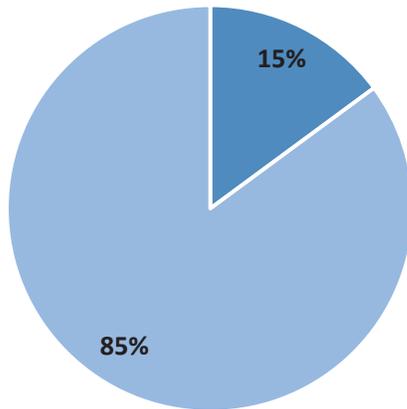
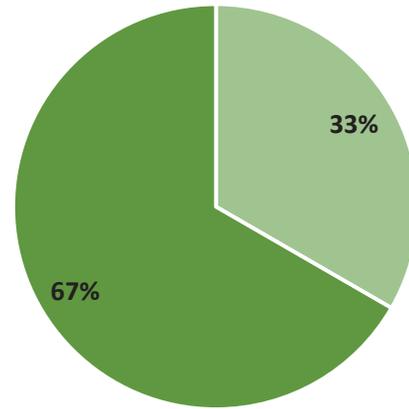


Gráfico 7. Pacientes sin metástasis ganglionares en relación a expresión de Beta-catenina.

■ B-CAT POSITIVO ■ B-CAT NEGATIVO



9. DISCUSIÓN

El carcinoma colorrectal es una de las neoplasias con mayor incidencia en países occidentales. En la población mexicana se encuentra dentro de las tres causas neoplásicas de mortalidad con una supervivencia a 3 años de un 56.3%, por lo que se han propuesto programas de prevención y detección temprana que han tenido poco impacto en la población general.

La transformación de la mucosa colónica normal a carcinoma invasor requiere de alteraciones genéticas y epigenéticas acumuladas; éstas pueden generarse por diferentes vías: la inestabilidad cromosómica, inestabilidad microsatelital y metilación aislada CpG (CIMP), anormalidades cariotípicas como aneuploidia, pérdidas y heterocigocidad. Por lo que mediante nuestro estudio buscamos la asociación de la expresión de biomarcadores que incluyen la vía APC y genes supresores de tumor con la metástasis ganglionar y por ende el pronóstico en el CCR.

Dentro de los parámetros estudiados con los que se encuentra una relación mayor a la supervivencia se encuentran el grado de invasión y el número de ganglios linfáticos regionales positivos. Así pues, en el presente estudio comparamos la expresión de factores de transcripción nuclear con la presencia de metástasis ganglionares positivas.

La mutación de p53 se ha estimado en el 54.5% de los carcinomas colorrectales¹⁷, la cual tiene una buena correlación con la expresión de inmunohistoquímica. En nuestro estudio no se encontró asociación significativa; sin embargo, en el análisis multivariado se observa una tendencia positiva.

Icopetta et al¹⁸, encontraron asociación entre la expresión de p53 como factor pronóstico, su estudio se enfocó en pacientes con etapas clínicas avanzadas, el cual arrojó diferencias en el patrón del crecimiento tumoral y mayormente expresado en tumores de colon izquierdo, lo que en nuestro estudio no resultó significativo.

Wang MD et al.⁷ estudiaron 254 casos en los que encontraron la expresión de p53 como predictor de pronóstico adverso en pacientes con CCR, con diferencias entre estadio II y III, lo cual en nuestro estudio no pudo ser

comprobado, quizá por el número de casos estudiados, ya que las tendencias en el análisis multivariado indicaban una probable asociación.

En cuanto a la expresión de B-catenina con factor pronóstico, existen publicaciones contradictorias en las que se ha evaluado como probable factor de buen pronóstico u otras en las que se expone asociación a metástasis y menor tasa de supervivencia. En nuestro estudio encontramos asociación con la presencia de expresión nuclear y la presencia de metástasis ($p=0.03$).

Nazemalhosseini Mojarad et al.¹³, demostraron asociación significativa con disminución en el estatus de supervivencia y la expresión nuclear de B-catenina; lo que traduciríamos en nuestro estudio con la presencia o no de metástasis.

J.D. Prieto et al.¹⁶, evaluaron la expresión conjunta de B-catenina y p53, con una diferencia significativa de la expresión de B-catenina y supervivencia a 20 meses; sin embargo, no encontraron asociación con el grado de diferenciación o grado de invasión.

Contrario a los hallazgos de Pancione et al.¹⁹, nuestro estudio relacionó como factor predictivo de metástasis, ellos demostraron que el subgrupo negativo para B-catenina, positivo para p53 guardaba relación con metástasis a distancia y bajo periodo de supervivencia. Asimismo, se menciona que la expresión de B-catenina como protector con diferencia significativa sobre la presencia o no de metástasis.

Por último, en la clasificación Dukes uno de los parámetros evaluados es la presencia de metástasis, por lo que los resultados que muestran diferencia significativa pudieran mostrar algún sesgo.



10. LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

Líneas abiertas de investigación:

- i. Realizar seguimiento y periodo libre de enfermedad de los pacientes.
- ii. Incrementar el número de muestra para definir la significancia del p53 en relación a metástasis ganglionares.

Los resultados y conclusiones obtenidos podrían permitirnos buscar la inmunexpresión de B-catenina en los pacientes con metástasis a distancia y la comparación de esta con la expresión de p53 y el estatus de supervivencia, periodos libres de enfermedad.

Así pues, se podría ampliar la investigación y definir las posibles asociaciones entre los marcadores de inmunohistoquímica con factores pronóstico como periodo libres de enfermedad y metástasis a distancia.

11. CONCLUSIONES

La incidencia de carcinoma colorrectal va en incremento a nivel mundial y en nuestro medio, por lo que se necesitan investigaciones que marquen nuevas pautas terapéuticas, sin embargo debe existir generación de estudios dirigidos a factores pronóstico en los pacientes con este diagnóstico. La presente investigación se enfocó en la búsqueda de marcadores de inmunohistoquímica de acuerdo a vías de carcinogénesis diferentes.

La expresión de p53 no reveló asociación significativa lo que podría relacionarse con el número de muestra. Mientras que la expresión de B-catenina mostró asociación con la expresión nuclear y una mayor presencia de metástasis ($p=0.03$) además de la asociación positiva con la escala de Dukes con una $p=0.0001$. Es decir, a mayor el Grado de Dukes se presenta mayor positividad de B- Catenina, con resultados estadísticamente significativos.

Por lo antes descrito, el uso de beta-catenina, es una herramienta útil como factor predictivo en el CCR, para valorar el riesgo de observar metástasis ganglionares y mayor riesgo según la Escala de Dukes en estadificación inicial del paciente.

12. BIBLIOGRAFÍA.

¹ Kumar V, Abul K, Jon. Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional. 9ª Ed. España: Elsevier; 2015.

² Vilches CN, Luévano GA, Barboza QO, Garza GR, Ancer RJ, Flores GJP y col. Carcinoma colorrectal: comparación histopatológica entre pacientes mayores y menores de 51 años. Patol Rev Latinoam 2010; 48 (1). Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/patrevlat/rlp-2010/rlp101d.pdf

³ Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. CA Cancer J Clin 2017; 67:7-30. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21387/full#caac21387-note-0004>

⁴ Rosai, Juan y Lauren V Ackerman. Patología Quirúrgica, Vol. 2. 10a ed., España: Amolca, Elsevier Inc; 2011.

⁵ Bosman F. T., Carneiro F., Hruban R. H., Theise N. D. WHO Classification of Tumours of the Digestive System, Fourth Edition 2010.

⁶ Riihimäki, M. et al. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. Sci. Rep. 6, 29765; doi: 10.1038/srep29765 (2016). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep29765.pdf>

⁷ Wang L., Liu Z., Fisher K. W., Ren F., Lv J., Davidson D. D., et al, Prognostic value of programmed death ligand 1, p53, and Ki-67 in patients with advanced stage colorectal cancer, Hum Pathol. 2017 Aug 4. pii: S0046-8177(17)30266-6. Disponible en: [http://www.humanpathol.com/article/S0046-8177\(17\)30266-6/fulltext](http://www.humanpathol.com/article/S0046-8177(17)30266-6/fulltext)

- ⁸ Mardi K, Sharma M, Bhardwaj M, Rao M. p53 expression in colorectal carcinomas and its correlation with clinicopathological parameters. *Clin Cancer Investig J* [serial online] 2017 [cited 2017 Nov 29];6:26-9. Disponible en: <http://www.cci-j-online.org/text.asp?2017/6/1/26/209157>
- ⁹ Yue X, Zhao Y, Xu Y, Zheng M, Feng Z, Hu W, Mutant p53 in Cancer: Accumulation, Gain-of-Function, and Therapy. *J Mol Biol.* 2017 Jun 2;429(11):1595-1606. Epub 2017 Apr 6. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283617301638?via%3Dihub>
- ¹⁰ Nakayama M, Sakai E, Echizen K, Yamada Y, Oshima H, Han TS, et al. Intestinal cancer progression by mutant p53 through the acquisition of invasiveness associated with complex glandular formation. *Oncogene.* 2017 Oct 19;36(42):5885- 5896. Epub 2017 Jun 19. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/onc2017194>
- ¹¹ Duffy MJ, Synnott NC, Crown J. Mutant p53 as a target for cancer treatment, *Eur J Cancer.* 2017 Sep;83:258-265. Epub 2017 Jul 28. Disponible en [http://www.ejancer.com/article/S0959-8049\(17\)31074-2/fulltext](http://www.ejancer.com/article/S0959-8049(17)31074-2/fulltext)
- ¹² S. El-Gendi, A. Al-Gendi, Assessment of tumor budding in colorectal carcinoma: Correlation with b-catenin nuclear expression, *Journal of the Egyptian National Cancer Institute* (2011) 23, 1–9. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110036211000021>
- ¹³ Nazemalhosseini Mojarad E, Kashfi SM, Mirtalebi H, Almasi S, Chaleshi V, Kishani Farahani R; et al. Prognostic significance of nuclear β -Catenin Expression in patients with Colorectal Cancer from Iran, *Iran Red Crescent Med J.* 2015 Jul 22;17(7):e22324. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4584109/pdf/ircmj-17-07-22324.pdf>

¹⁴ Amani Kazem, Khaled El Sayed, Yasser El Kerm. Prognostic significance of COX- 2 and b-catenin in colorectal carcinoma, *Alexandria Journal of Medicine* (2014) 50, 211–220, disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajme.2013.05.007>

¹⁵ Faris Lutfi Nussrat, Hussam Hasson Ali, Haider Ghazi Hussein, Raghad Jawad Al-Ukash, Immunohistochemical expression of Ki-67 and p53 in colorectal adenomas: A Clinicopathological Study, *Oman Med J.* 2011 Jul; 26(4): 229–234. Disponible en: [10.5001/omj.2011.57](http://dx.doi.org/10.5001/omj.2011.57)

¹⁶ Juan Daniel Prieto, Martina Álvarez, María Isabel Hierro, Isabel García, Luis Vicioso, Beta-catenin and p53 expression in topographic compartments of colorectal cancer and its prognostic value following surgery, *Annals of Diagnostic Pathology* 31 (2017) 1–8, disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.05.014>

¹⁷ López I, P Oliveira L, Tucci P, Alvarez-Valín F, A Coudry R, Marín M. Different mutation profiles associated to P53 accumulation in colorectal cancer. *Gene* 2012; 499: 81-87 [PMID: 22373952 DOI: 10.1016/j.gene.2012.02.011]

¹⁸ Iacopetta B, Russo A, Bazan V, et a. Functional categories of TP53 mutation in colorectal cancer: results of an International Collaborative Study. *Ann Oncol* 2006; 17:842-847 [PMID: 16524972 DOI: 10.1093/annonc/mdl035]

¹⁹ Pancione M, Forte N, Sabatino L. Reduced β -catenin and PPAR γ expression levels are associated with colorectal cancer metastatic progression: correlation with tumor-associated macrophages, cyclooxygenase - 2, and patient outcome. *Hum Sci* 2009;40:714–25.

²⁰ Amin, M.B., Edge, S., Greene, F., Byrd, D.R., Brookland, R.K., Washington, M.K., Gershenwald, J.E., Compton, C.C., Hess, K.R., Sullivan, D.C., Jessup, J.M.,



Brierley, J.D., Gaspar, L.E., Schilsky, R.L., Balch, C.M., Winchester, D.P., Asare, E.A., Madera, M., Gress, D.M., Meyer, L.R. (Eds.). *AJCC Cancer Staging Manual (8th edition)*. Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017.

²¹ Lim SB, Yu CS, Jang SJ, Kim TW, Kim JH, Kim JC. Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(4):377-384.

²² Nasc imbeni R, Burgart LJ, Nivatvongs S, Larson DR. Risk of lymph node metastasis in T1 carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 2002;45(2):200-6

²³ Liebig C, Ayala G, Wilks J, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5131-5137.

²⁴ Robert D. Odze, John R. Goldblum. *Odze And Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*. Philadelphia, A:Saunders/Elsevier, 2015. Print.

13. ANEXOS.

Hoja de recolección de datos

RESULTADOS DE INMUNOHISTOQUIMICA H-08-18														
NUM. QUIRÚRGICO	NÚM. INVESTIGACIÓN	EDAD	SEXO	TIPO DE ESPECÍMEN	TAMAÑO TUMORAL	GRADO INVASIÓN	DUKES MODIFICADA	GRADO DE DIFERENCIACIÓN	P53 NUCLEAR %	B-CAT NUCLEAR %	METS. GANGLIONAR	pN	POSITIVOS	TOTAL
Q10-2359	CASO 1	62	M	4	5 X 5	PT4B	B2	2	0	0	NO	NO	0	19
Q10-2844	CASO 2	43	M	1	8 X 6	PT3	C2	1	0	0	SI	N1a	1	21
Q17-5351	CASO 3	71	M	3	5.5 X 3.5 X 2	PT2	B2	2	0	0	NO	NO	0	23
Q10-3817	CASO 4	44	M	1	10 X 8	PT2	C1	2	0	0	SI	N2b	8	50
Q10-4183	CASO 5	67	M	3	8 X 4.5	PT3	B2	3	40	1	NO	NO	0	7
Q10-5241	CASO 6	69	M	3	6 X 3	PT2	B2	1	70	0	NO	NO	0	52
Q10-6156	CASO 7	34	F	1	10 X 6	PT3	C2	1	0	0	SI	N2b	12	16
Q10-7340	CASO 8	74	M	0	8 X 4	PT3	B2	2	0	1	NO	NO	0	10
Q10-7162	CASO 9	30	F	1	11 X 8	PT3	C2	2	10	0	SI	N1b	2	16
Q10-8517	CASO 10	50	M	2	4 X 3.5	PT4A	B2	1	20	0	NO	NO	0	12
Q10-8605	CASO 11	63	F	4	4X4	PT4A	C2	2	0	0	SI	N1b	2	15
Q10-9981	CASO 12	30	F	1	4X4.5	PT4A	C2	3	0	0	SI	N2b	17	17
Q16-2489	CASO 13	58	M	3	6X4X3.5	PT3	B2	2	90	0	NO	NO	0	12
Q11-1314	CASO 14	44	F	1	11	PT3	B2	2	10	0	NO	NO	0	17
Q11-1635	CASO 15	34	F	0	5X4	PT2	B2	2	0	0	NO	NO	0	7
Q11-1992	CASO 16	55	F	3	7	PT4A	C2	2	80	0	SI	N1b	3	5
Q11-2718	CASO 17	60	M	3	4	PT4A	C2	2	60	0	SI	N1a	1	8
Q11-3947	CASO 18	46	F	4	6X5	PT4A	B2	2	70	0	NO	NO	0	20
Q11-4069	CASO 19	61	F	1	5.5X4	PT2	B2	1	10	0	NO	NO	0	15
Q17-5921	CASO 20	70	M	1	11X7X4	PT4A	B2	2	5	0	NO	NO	0	22
Q11-6809	CASO 21	72	F	3	1X0.3	PT4A	C2	2	90	0	SI	N2b	11	12
Q17-5996	CASO 22	73	F	4	6.3X5	PT4B	B2	2	5	1	NO	NO	0	18
Q11-8212	CASO 23	77	F	1	4X4	PT3	C2	2	90	0	SI	N2b	13	14
Q11-8116	CASO 24	45	F	0	2X1.6	PT4A	C2	2	20	0	SI	N2b	15	15
Q11-10441	CASO 25	78	M	3	4.50	PT2	B2	1	0	0	NO	NO	0	6
Q11-10792	CASO 26	49	F	1	3.5	PT4A	C2	3	80	0	SI	N2b	10	24

Q11-15750	CASO 27	37	F	1	4	PT2	B2	1	10	0	NO	NO	0	8
Q18-0233	CASO 28	63	F	0	4.5X3X1.5	PT2	C1	2	50	0	SI	N2a	6	9
Q11-12434	CASO 29	60	F	1	8X5.5	PT4A	B2	2	10	1	NO	NO	0	8
Q18-1342	CASO 30	61	F	3	4.5X4.5X4	PT3	B2	1	5	0	NO	NO	0	35
Q12-0136	CASO 31	78	F	0	12X10	PT4A	B2	2	0	1	NO	NO	0	10
Q18-2159	CASO 32	56	F	1	5X4	PT2	B2	3	10	0	NO	NO	0	25
Q12-0788	CASO 33	25	M	3	2	PT3	B2	3	0	0	NO	NO	0	5
Q12-1481	CASO 34	80	M	3	5X4	PT3	B2	1	10	1	NO	NO	0	17
Q17-6830	CASO 35	30	F	4	2X1.9	PT2	B2	2	100	0	NO	NO	0	10
Q18-3327	CASO 36	50	M	3	5X4X1	PT2	C1	2	40	0	SI	N1a	1	21
Q12-5961	CASO 37	68	M	1	8	PT2	B2	2	0	0	NO	NO	0	17
Q12-6286	CASO 38	75	M	4	2X1.5	PT4A	C2	2	10	1	SI	N2b	9	28
Q12-6649	CASO 39	63	M	4	9X4	PT3	C2	2	30	0	SI	N2a	4	16
Q17-6893	CASO 40	53	M	1	6X5	PT4A	C2	1	0	1	SI	N1b	2	26
Q17-3111	CASO 41	48	F	1	3.5	PT4A	B2	2	0	0	NO	NO	0	17
Q12-10923	CASO 42	25	F	4	1.5X1.5	PT2	C1	2	20	0	SI	N2b	11	11
Q12-10605	CASO 43	70	F	4	3.5X2.5	PT2	B2	1	0	1	NO	NO	0	6
Q12-11195	CASO 44	64	M	4	6X5	PT4A	C2	2	60	0	SI	N1b	2	9
Q12-10539	CASO 45	64	M	0	11X7	PT3	C2	3	0	0	SI	N1a	1	20
Q12-13823	CASO 46	62	M	3	5x3.5	PT2	C1	2	80	0	SI	N1a	1	13
Q12-13975	CASO 47	82	M	3	4.5X4	PT3	C2	3	90	0	SI	N2b	7	9
Q12-13831	CASO 48	80	F	0	3.5X2.8	PT4B	C2	2	80	0	SI	N1a	1	21
Q13-1874	CASO 49	44	M	4	3	PT2	B2	2	10	0	NO	NO	0	7
Q13-2419	CASO 50	23	F	1	8.5X6	PT3	C2	2	0	0	SI	N1a	1	11
Q17-3768	CASO 51	55	M	1	4.5	PT4A	B2	2	1	0	NO	NO	0	30
Q13-2847	CASO 52	48	M	4	6X5	PT2	B2	2	0	0	NO	NO	0	18
Q17-3929	CASO 53	84	F	1	9.5X9X4.5	PT2	C1	3	20	0	SI	N1a	1	21
Q13-5836	CASO 54	64	F	4	2	PT3	C2	2	0	0	SI	N2b	8	12
Q17-4556	CASO 55	49	F	3	5.6X4.5	PT4A	B2	2	0	0	NO	NO	0	21
Q13-6155	CASO 56	64	F	4	3X2.5	PT2	B2	2	10	0	NO	NO	0	29
Q13-6857	CASO 57	79	F	3	3X2.6	PT3	C2	2	0	0	SI	N1b	3	10
Q13-6984	CASO 58	75	M	4	9.5X3	PT4A	B2	2	5	1	NO	NO	0	7
Q13-7062	CASO 59	53	M	4	4X2	PT3	C2	2	20	0	SI	N1a	1	6
Q13-7612	CASO 60	44	F	1	4.5	PT4A	C2	1	0	0	SI	N2b	7	21

Q13-8535	CASO 61	73	M	4	3X2.5	PT3	B2	2	0	0	NO	NO	0	25
Q14-0224	CASO 62	72	M	4	7	PT3	B2	2	0	1	NO	NO	0	21
Q14-1366	CASO 63	67	F	4	5	PT4B	B2	2	70	1	NO	NO	0	10
Q14-1465	CASO 64	55	F	3	8	PT2	B2	2	90	0	NO	NO	0	18
Q14-1732	CASO 65	45	F	4	5.5	PT4B	C2	2	0	1	SI	N1b	3	25
Q14-2084	CASO 66	82	F	3	10	PT3	C2	2	90	0	SI	N2a	4	9
Q14-2866	CASO 67	46	F	3	7	PT3	B2	2	0	1	NO	NO	0	29
Q14-2862	CASO 68	45	F	3	3	PT4A	C2	2	5	1	SI	N2b	10	11
Q14-3803	CASO 69	52	F	2	5X4.5	PT3	B2	2	5	0	NO	NO	0	15
Q14-3829	CASO 70	76	F	4	4	PT3	C2	1	10	0	SI	N1a	1	11
Q14-4173	CASO 71	56	M	3	5X4	PT2	C1	2	50	0	SI	N1a	1	9
Q14-5004	CASO 72	46	M	3	7.5	PT2	C1	2	50	0	SI	N1b	3	20
Q14-5495	CASO 73	70	F	0	10	PT3	B2	3	0	0	NO	NO	0	20
Q14-5783	CASO 74	48	M	4	13X6	PT3	C2	3	80	0	SI	N2b	7	30
Q14-6059	CASO 75	43	M	1	15X8	PT2	B2	1	0	0	NO	NO	0	28
Q14-7386	CASO 76	72	F	3	7	PT3	C2	2	0	0	SI	N1a	1	20
Q14-7037	CASO 77	38	F	1	2 Y 2.5	PT3	B2	2	0	0	NO	NO	0	18
Q15-0563	CASO 78	36	F	1	9.5X4	PT4A	C2	1	0	1	SI	N2b	13	26
Q15-0920	CASO 79	53	F	1	6	PT3	C2	3	80	0	SI	N1b	3	10
Q15-1119	CASO 80	40	M	1	11X9.5	PT4A	B2	2	10	1	NO	NO	0	22
Q15-1172	CASO 81	73	M	3	8.2	PT2	B2	1	10	0	NO	NO	0	18
Q15-1208	CASO 82	59	M	2	4.5	PT3	B2	1	30	1	NO	NO	0	11
Q15-2081	CASO 83	38	M	3	7X6	PT4B	C2	2	20	1	SI	N1a	1	19
Q15-2127	CASO 84	85	F	1	11	PT2	C1	1	5	0	SI	N1b	3	19
Q15-2638	CASO 85	62	F	0	5X4	PT4A	C2	2	100	0	SI	N2b	8	10
Q15-3586	CASO 86	42	M	4	11	PT3	C2	3	80	0	SI	N2a	4	5
Q15-5131	CASO 87	63	M	4	2.50	PT2	B2	2	90	0	NO	NO	0	11
Q16-0323	CASO 88	73	F	3	5	PT3	B2	2	100	0	NO	NO	0	6
Q16-0413	CASO 89	75	F	4	2.6	PT3	C2	3	0	0	SI	N1b	2	12
Q16-3018	CASO 90	67	F	0	3.5X3	PT4A	C2	2	0	0	SI	N2a	4	16
Q16-3497	CASO 91	44	F	0	15X15X8	PT2	B2	1	10	0	NO	NO	0	60
Q16-3730	CASO 92	44	F	1	3X2.5X1.5	PT1	B1	1	30	0	NO	NO	0	39
Q16-4226	CASO 93	27	F	1	4X2.5	PT2	B2	1	0	1	NO	NO	0	12
Q16-4917	CASO 94	56	F	1	11X7X4	PT3	B2	1	0	1	NO	NO	0	21
Q16-5764	CASO 95	63	F	3	2.5	PT3	C2	1	0	0	SI	N1b	2	21
Q17-0095	CASO 96	39	M	3	10X6	PT4A	C2	2	10	1	SI	N1a	1	88
Q17-0391	CASO 97	62	F	4	3.5	PT2	B2	1	0	0	NO	NO	0	33
Q17-1618	CASO 98	55	F	2	7	PT4A	B2	2	0	1	NO	NO	0	8
Q17-1893	CASO 99	51	F	1	10	PT2	B2	1	90	1	NO	NO	0	23
Q17-2589	CASO 100	53	F	0	9	PT4B	B2	2	0	0	NO	NO	0	21
Q17-2874	CASO 101	64	M	3	2.5	PT2	B2	2	10	1	NO	NO	0	15



Apéndice 1. Clasificación Dukes modificada.

Dukes A: tumor limitado a la pared del intestino, ganglios negativos.
Dukes B: el tumor se diseminó más allá de la muscularis propia, los ganglios linfáticos negativos.
Dukes C1: ganglios linfáticos positivos, pero el nódulo más alto libre.
Dukes C2: el nódulo linfático más alto involucrado.

Apéndice 2

Clasificación TNM

pTX: tumor primario no puede ser evaluado.

pT0: sin evidencia de tumor primario.

pTis: Carcinoma *in situ*, carcinoma intramucoso (afectación de la lámina propia sin extensión a través de la mucosa muscular).

pT1: el tumor invade la submucosa (a través de la *muscularis* mucosa pero no en la muscular propia).

pT2: el tumor invade la *muscularis* propia.

pT3: el tumor invade a través de la *muscularis* propia en tejidos pericolorectales.

pT4: el tumor invade el peritoneo visceral o invade o se adhiere al órgano o estructura adyacente.

pT4a: el tumor invade el peritoneo visceral (incluida la perforación macroscópica del intestino a través del tumor y la invasión continua del tumor a través de áreas de inflamación a la superficie del peritoneo visceral).

pT4b: el tumor invade directamente o se adhiere a órganos o estructuras adyacentes.

pNX: no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

pN0: sin metástasis ganglionares regionales.

pN1: de uno a tres ganglios linfáticos regionales son positivos (tumor en los ganglios linfáticos que miden ≥ 0.2 mm), o cualquier cantidad de depósitos tumorales están presentes y todos los ganglios linfáticos identificables son negativos.

pN1a: un ganglio linfático regional es positivo.

pN1b: dos o tres ganglios linfáticos regionales son positivos.

pN1c: no hay ganglios linfáticos regionales positivos, pero hay depósitos tumorales en la subserosa, el mesenterio o los tejidos pericólicos no peritonealizados o perirrectal / mesorrectales.

pN2: cuatro o más ganglios linfáticos regionales son positivos.

pN2a: de cuatro a seis ganglios linfáticos regionales son positivos.

pN2b: siete o más ganglios linfáticos regionales son positivos.

pM1: se identifica metástasis en uno o más sitios u órganos distantes o metástasis peritoneales.

pM1a: se identifica metástasis en un sitio u órgano sin metástasis peritoneal.

pM1b: se identifica metástasis en dos o más sitios u órganos sin metástasis peritoneal.

pM1c: la metástasis a la superficie peritoneal se identifica sola o con otras metástasis en el sitio u órgano.

Apéndice 3
Tabla comparativa de escalas de etapificación.

	Dukes	Astler-Coller	TNM
Invasión tumoral confinada a la mucosa.	A	A	Tis, N0
Invasión tumoral limitada a submucosa, sin ganglios linfáticos involucrados	A	B1	T1, N0
Invasión tumoral limitada a submucosa, con involucro de ganglios linfáticos.	C	C1	T1, N1-2
Invasión tumoral limitada a capa muscular, sin ganglios linfáticos involucrados	A	B2	T2, N0
Invasión tumoral limitada a capa muscular, con involucro de ganglios linfáticos.	C	C1	T2, N1-2
Invasión tumoral con afección a toda la capa muscular, sin ganglios linfáticos involucrados	B	B2	T3, N0
Invasión tumoral con afección a toda la capa muscular, con involucro de ganglios linfáticos	C	C2	T3, N1-2
Invasión tumoral con afección a órganos vecinos, sin ganglios linfáticos involucrados	B	B2	T4, N0
Invasión tumoral con afección a órganos vecinos, con involucro de ganglios linfáticos	C	C2	T4, N1-2
Otros factores con metástasis a distancia	D	D	T1-4, N0-2, M1

Apéndice 4
Estadaje en carcinoma colorectal.

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