

TRABAJO FIN DE GRADO



UCAM
UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

GRADO EN MEDICINA

Facultad de Ciencias de la Salud

Estudio observacional comparativo de factores
histopatológicos de valor pronóstico y la respuesta
inmune entre el cáncer colorrectal con y sin metástasis
hepáticas

Autora: Silvia López Montalbán

Director: Dr. José García Solano

Murcia, 19 de Mayo 2021

TRABAJO FIN DE GRADO



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

GRADO EN MEDICINA

Facultad de Ciencias de la Salud

Estudio observacional comparativo de factores
histopatológicos de valor pronóstico y la respuesta
inmune entre el cáncer colorrectal con y sin metástasis
hepáticas

Autora: Silvia López Montalbán

Director: Dr. José García Solano

Murcia, 19 de Mayo 2021



UCAM
UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

DEFENSA TRABAJO FIN DE GRADO

DATOS DEL ALUMNO	
Apellidos: López Montalbán	Nombre: Silvia
DNI: 23956262-Z	Grado: Grado en Medicina
Facultad de Ciencias de la Salud	
Título del trabajo: Estudio observacional comparativo de factores histopatológicos de valor pronóstico y la respuesta inmune entre el cáncer colorrectal con y sin metástasis hepáticas	

El Dr., Tutor José García Solano del trabajo reseñado arriba, acredita su idoneidad y otorgo el V.º B.º a su contenido para ir a Tribunal de Trabajo fin de Grado.

En Murcia, a 15 de Mayo de 2021

Fdo.:

AGRADECIMIENTOS

Tras la finalización de este Trabajo de Fin de Grado, quería agradecer a mi tutor Dr. José García Solano su ayuda y guía durante estos meses, así como haberme sabido transmitir el valor que tiene la Investigación científica en todos los ámbitos de la práctica clínica diaria de un profesional sanitario por su importancia para el avance y la mejora de la ciencia, de utilidad no solo por el descubrimiento de nuevas técnicas diagnósticas sino también con fines terapéuticos para la curación y mejora de la calidad de vida de los pacientes.

También al Hospital “Santa María del Rosell” y “Santa Lucía” de Cartagena por su generosa disposición a proporcionar los datos necesarios para la realización de las bases de datos y llevar a cabo este estudio, en especial al servicio de Anatomía Patológica.

ÍNDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN	15
I. Generalidades del cáncer colorrectal.....	15
II. Lesiones precursoras y vías de carcinogénesis colorrectal	15
i. INESTABILIDAD CROMOSÓMICA (CIN)	16
ii. INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES (MSI).....	16
iii. FENOTIPO METILADOR DE ISLAS CpG (CIMP)	16
III. Características histológicas relacionadas con el pronóstico	17
IV. Justificación	20
V. Objetivos	20
i. Objetivos principales:.....	20
ii. Objetivos secundarios:	20
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
I. Pacientes	21
II. Datos clínicos y obtención de información	22
III. Evaluación histopatológica.....	22
i. Estimación de las variables histopatológicas con valor pronóstico en la respuesta inmune	22
ii. Otros datos histopatológicos de valor pronóstico	23
IV. Análisis estadístico	24
3. RESULTADOS	24
I. Estadística descriptiva	24
II. Estadística analítica	24
i. Datos histopatológicos de la respuesta inmune	24
ii. Datos histopatológicos de valor pronóstico no relacionados con la respuesta inmune	25
4. DISCUSIÓN.....	26
5. CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA.....	32
ANEXO. Tablas, gráficos y figuras.....	37

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

CCR	Cáncer colorrectal
CIN	Inestabilidad cromosómica
MSI	Inestabilidad microsatélite
CIMP	Fenotipo metilador de islas CpG
TB	Gemación tumoral
H&E	Hematoxilina & eosina
IPN	Invasión perineural
TILS	Linfocitos intratumorales
Tregs	Linfocitos T reguladores
TAMs	Macrófagos asociados al tumor
CCR M0	Cáncer colorrectal sin metástasis hepáticas
CCR M1	cáncer colorrectal con metástasis

RESUMEN

Introducción: el sistema inmune del huésped es de especial relevancia en el pronóstico del CCR. Este estudio tiene como objetivo establecer diferencias según diversos factores histopatológicos entre pacientes con y sin metástasis hepáticas (M1 vs M0).

Métodos: estudio observacional, analítico, retrospectivo de un grupo de pacientes con CCR M1 y otro grupo con CCR M0 del Hospital Universitario “Santa Lucía” y “Santa María del Rosell” de Cartagena emparejados por edad, sexo, localización, tipo histológico, grado histológico y TN, en un periodo comprendido entre el año 2001 y 2019.

Resultados: los datos histopatológicos con valor pronóstico en la respuesta inmune que alcanzaron significación estadística y estuvieron presentes en mayor medida en aquellos pacientes sin metástasis fueron: inflamación general ($p=0,04$) y reacción Crohn-like ($p=0,01$). El patrón de crecimiento tumoral infiltrativo ($p=0,01$), la invasión vascular y perineural ($p= 0,03$ y $p=0,02$ respectivamente) y la extensión extramural discontinua ($p=0,03$) se asociaron a desarrollo de metástasis hepáticas. El resto de las variables no obtuvieron diferencias significativas entre ambos grupos.

Conclusión: la intensidad de la respuesta inmune inflamatoria general presenta una asociación estadísticamente significativa en pacientes con y sin metástasis hepáticas, siendo mayoritaria en aquellos pacientes M0 considerándose un factor de buen pronóstico. La extensión extramural discontinua se considera un paso crucial para el desarrollo de metástasis a distancia.

Palabras clave

Neoplasias colorrectales; inflamación; pronóstico

ABSTRACT

Background: the host's immune system is of special relevance in the prognosis of CRC. The study aimed to establish differences according to several histopathologic items between patients with and without liver metastases (M1 vs M0).

Methods: this is an observational, analytical, longitudinal retrospective cohort study of a group of patients with CRC from the University Hospital of "Santa Lucia" and "Santa María Rosell" selected between 2001 and 2019 paired using a series of variables: age, sex, histological type, tumor location and TN stage. They were divided into two groups depending on the main variable that was to be metastasis (group 1 n = 32) or not (group 2 n = 32).

Results: the histopathological data with prognostic value in the immune response that reached statistical significance and were present to a greater extent in those patients without metastasis were: general inflammation (p=0,04) and Crohn-like reaction (p= 0,01). Tumor growth pattern (p=0,01), vascular and perineural invasion (p= 0,03 and p= 0,02 respectively) and discontinuous extramural extension (p=0,03) were associated with the development of liver metastases. The rest of variables didn't get significant differences between both groups.

Conclusions: the intensity of the general inflammatory immune response presents a statistically significant association in patients with or without liver metastases, being predominant in those M0 patients, being considered a good prognostic factor. Discontinuous extramural extension is considered a crucial step in the development of distant metastases.

Keywords

Colorectal neoplasms; inflammation; prognosis

1. INTRODUCCIÓN

I. Generalidades del cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) supone la principal causa de muerte por cáncer y la tercera neoplasia más frecuente en todo el mundo. A pesar de que existen componentes hereditarios, la mayoría son esporádicos. ¹

Más de un tercio de los pacientes con CCR fallecerán a los 5 años del diagnóstico y la mayoría de los desenlaces fatales son consecuencia del desarrollo de metástasis hepáticas. ²

Existen factores de riesgo asociados como: antecedentes familiares de CCR, enfermedades inflamatorias intestinales (CU, EII, ...), consumo excesivo de alcohol, tabaco, carnes rojas y procesadas, obesidad y diabetes. Algunos agentes infecciosos como el *Helicobacter pylori* o *Fusobacterium spp* pueden estar asociados. ¹ Existe evidencia de que la respuesta inmune está relacionada con la etiopatogenia del CCR, por ello, dietas ricas en fibra, ácidos grasos poliinsaturados (omega-3) y un estilo de vida saludable pueden ser estrategias útiles en su prevención ya que tienen influencia en la microbiota y en la carcinogénesis a través de interacciones entre la respuesta inmune y el tumor. ³

II. Lesiones precursoras y vías de carcinogénesis colorrectal

Los adenomas son responsables del 70-80% de CCR. Hay dos vías de malignización por adenomas: la vía tradicional y la vía serrada. En **la vía tradicional** los adenomas van adquiriendo alteraciones genéticas consecutivas hasta llegar al CCR. Esta es la secuencia clásica adenoma-carcinoma descrita por Fearon & Vogelstein en 1990. ⁴

La vía serrada es responsable del 20-30% de CCR, siguen una ruta de malignización distinta a la tradicional en la que predomina la hipermetilación y mutaciones en el gen BRAF. (6)

Se han identificado tres vías moleculares de carcinogénesis en el CCR:

i. INESTABILIDAD CROMOSÓMICA (CIN) ⁵

Se observa aproximadamente en el 85% de los CCR. Se caracteriza por alteración en el número y estructura de los cromosomas. ⁶

Un CCR con CIN, acumula mutaciones en oncogenes y genes supresores tumorales: *APC*, *TP53*, *KRAS*, *BRAF*.

Las vías más relevantes clínicamente afectadas en los CCR CIN son las vías Wnt y MAPK. ⁷

ii. INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES (MSI)

Se observa aproximadamente en un 15% de todos los CCR. ^{8 9} Se caracteriza por una inestabilidad generalizada en tándem de secuencias repetitivas de DNA conocidas como microsatélites. ¹⁰

MSI puede resultar por mutación de genes MMR (reparadores de ADN) como *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2*, o por silenciamiento de *MLH1* por hipermetilación de su promotor.

Estas alteraciones de los genes MMR pueden ser por dos mecanismos:

-CCR MSI en síndromes hereditarios: Alteraciones (mutaciones) en línea germinal de alguno de estos genes MMR produciendo el *Síndrome de Lynch*. ⁸

-CCR MSI esporádicos: ocurren por metilación de la secuencia CpG del promotor del gen *MLH1*. ¹¹

iii. FENOTIPO METILADOR DE ISLAS CpG (CIMP) ¹²

La vía CIMP (hipermetilación del promotor del gen *MLH1*) supone aproximadamente el 17% de todos los CCR, ¹³ se caracteriza por hipermetilación de islas CpG en los promotores de muchos genes supresores tumorales que conlleva a su inactivación (silenciamiento). ¹²

La vía CIN y MSI son exclusivas, sin embargo, la vía CIMP suele superponerse con la vía MSI. De hecho, los CCR MSI esporádicos se asocian casi exclusivamente con la vía CIMP.

Esta vía CIMP suele producir CCR con unas características especiales:

- suelen ser CCR con mutación BRAF. ¹⁴
- se suelen observar en localización proximal y en pacientes añosos. ¹⁵
- se suele relacionar con la vía serrada. ¹⁶

III. Características histológicas relacionadas con el pronóstico

El pronóstico del CCR está determinado por múltiples factores como el tipo histológico, localización y estatus de TNM. No obstante, hoy en día hay factores histopatológicos que están fuertemente relacionados con su pronóstico (el patrón de crecimiento tumoral, el tumor Budding, la extensión extramural discontinua, la invasión vascular, linfática y perineural y la respuesta inmune del huésped), y algunos de ellos como la respuesta inmune están relacionados con la utilización de nuevas terapias. ¹⁷

El **patrón de crecimiento tumoral** en el margen invasivo se divide según el trabajo de Jass et al ¹⁸ en expansivo e infiltrativo. Según Jass, el patrón infiltrativo se define como aquel en el que el tumor invade de manera difusa, penetrando tejidos normales bien definidos y el expansivo como aquel que comprime tejidos circundantes pero de manera circunscrita. Según Morikawa et al, el patrón infiltrativo se correlaciona con mal pronóstico independientemente de otras características moleculares clínicas, patológicas y tumorales. ¹⁹

La **gemación tumoral** (Tumor Budding) según lo descrito por Ueno et al en 2002, se define como grupos sólidos de células tumorales de menos de 4 células en el frente invasor o en el centro del tumor. ²⁰ Se trata de células que sufren transición epitelial-mesenquimal, un importante mecanismo en la progresión de tumores epiteliales. Descrito por algunos autores como un fuerte predictor de afectación ganglionar linfática, invasión linfática, metástasis, recurrencias locales y baja supervivencia libre de enfermedad. ²¹

La **invasión linfovascular** se define por la presencia de nódulos tumorales bien circunscritos rodeados de lámina elástica visibles en H&E o con técnicas histoquímicas. Distinguimos la invasión intramural (submucosa o muscular

propia) o extramural (por fuera de la muscular propia) ambas asociadas a desarrollo de metástasis ganglionares y comportamiento adverso. ²²

La **extensión extramural discontinua** puede estar asociada a una invasión linfovascular indetectable y a depósitos microtumoraes en tejido adiposo extramural, aumentando el riesgo de metástasis a distancia y/o linfáticas. Es considerado un predictor útil de recurrencia y supervivencia postoperatoria. ²³

La **invasión perineural** (IPN) es otro componente importante del microambiente tumoral conocido por su mayor agresividad tumoral y peor pronóstico en tumores malignos. ²⁴

El **sistema inmune** del huésped es de especial relevancia en el pronóstico del CCR. Esta respuesta inmune está mediada por los linfocitos intratumorales (TILs), que son linfocitos T (CD3+). Sin embargo, algunos cánceres pueden evadir la respuesta inmune mediante una serie de estrategias como es el desarrollo de linfocitos T-reguladores (Tregs). Estos Tregs requieren para su adecuado desarrollo y función la presencia de un factor de transcripción denominado FOXP3 que proporciona un marcador de Tregs valorable mediante inmunohistoquímica. ²⁵

Dada la asociación existente entre esta inmunidad adaptativa y su influencia en el comportamiento y progresión tumoral, cada vez adquiere mayor relevancia el uso de parámetros inmunológicos como “Inmunoscore” sirviendo de indicador pronóstico independiente de modo que, aquellos pacientes con puntuaciones más elevadas tienen una mayor supervivencia. Incluso, tendría mayor valor en predecir el pronóstico que el fenotipo MSI (usado como marcador predictivo de respuesta a antiPD-1/ PDL1). ²⁶

Plantearse inmunoterápicos como el pembrolizumab en el uso de tumores MSI-H y con MMR es una opción prometedora ya que estos fenotipos han demostrado tener mayor inmunogenicidad tumoral, paralela a un aumento de TILs y un aumento de expresión de PDL1.²⁷ De igual modo, diversos estudios apoyan el uso de la inmunoterapia en estadios iniciales de la enfermedad como prevención al desarrollo de metástasis y sugieren el análisis de la respuesta inmune en tumores primarios como predictor de futuro desarrollo de metástasis.²⁶

La presencia de un cociente CD3/FoxP3 bajo y una densidad de linfocitos T (CD3+) reducida se asocia con una supervivencia más pobre en pacientes con CCR. Estas variables fueron factores pronósticos más importantes que el estadio tumoral o la extensión ganglionar, lo que sugiere su potencial utilidad en la práctica clínica ²⁵. Estos datos fueron corroborados por otros autores como Salama et al ²⁸ que afirman que los marcadores CD8 y CD45RO están asociados a un mejor pronóstico. Además, los linfocitos Tregs fueron considerados también inmunosupresores relacionados con un peor desenlace en tumores avanzados de órgano sólido.

Fridman et al ²⁹ observaron que la densidad de linfocitos CD4 y CD8 disminuye conforme aumenta el grado de invasión tumoral mostrando de esta forma mejores resultados aquellos tumores con un fuerte infiltrado linfocitario.

Los macrófagos asociados al tumor (TAMs) son parte del infiltrado inmune tumoral. M1-TAMs actúan impidiendo la progresión tumoral mientras que ocurre lo contrario con los M2-TAMs. Diversos estudios muestran cómo altas densidades de macrófagos CD 68+ en el margen de invasión tumoral suponen un mejor pronóstico, situación que no ocurre en las metástasis tumorales donde existen mayor número de M2-TAMs. ³⁰

Mientras que la presencia de un alto grado de infiltrado polimorfonuclear neutrófilo en el frente invasor es un factor de buen pronóstico, el infiltrado polimorfonuclear eosinófilico no muestra relaciones significativas en el pronóstico según Klintrup K. et al. ²

Las metástasis a distancia continúan siendo la principal causa de fracaso del tratamiento y de muerte en estos pacientes. Se ha demostrado el impacto de la respuesta inmune en el curso clínico del tumor primario y de las metástasis hepáticas. Peng J et al analizaron la presencia de la respuesta inmune en metástasis hepáticas en pacientes con CCR y observaron menor número de linfocitos CD3, CD8 y Foxp3 intratumorales que peritumorales sugiriendo que pacientes con mayor ratio intratumoral CD8/CD3 tenían una supervivencia libre de recurrencia mayor que aquellos con menor ratio intratumoral, proponiendo esta ratio como un indicador independiente asociado a mayor supervivencia libre de enfermedad. Por otro lado, pacientes con ratio CD8/CD3 bajo podrían

beneficiarse de un tratamiento postoperatorio intensivo además de un estrecho seguimiento dado su peor pronóstico.³¹

IV. Justificación

En la literatura científica existen diversos estudios que nos muestran la influencia de factores histopatológicos de valor pronóstico, sobre todo el de la respuesta inmune como predictor de la supervivencia en pacientes con CCR. Estos hallazgos nos llevan a la necesidad de continuar profundizando a través de este estudio, mediante la valoración histopatológica del CCR.

La motivación de este estudio es ampliar la evidencia acerca de la influencia del microambiente tumoral en estos pacientes, así como investigar otros parámetros histopatológicos que puedan considerarse complementarios al estadio TNM.

V. Objetivos

i. Objetivos principales:

- Comparar la respuesta inmune entre los CCR primarios con metástasis hepáticas (M1) y los CCR primarios sin metástasis (M0) emparejados con los anteriores por edad, sexo, localización, tipo histológico, grado histológico y TN, cuantificando histopatológicamente el tipo de célula inmune, localización (peritumoral/intratumoral) e intensidad en el frente invasor.

ii. Objetivos secundarios:

- Comparar el resto de los factores histopatológicos de valor pronóstico entre los CCR primarios con metástasis hepáticas y los CCR primarios sin metástasis emparejados con los anteriores por edad, sexo, localización, tipo histológico, grado histológico y TN.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

I. Pacientes

Se realizó un estudio observacional analítico retrospectivo de casos y controles, en el que se emparejaron 32 pacientes con CCR primario M1 utilizando una serie de variables: edad, sexo, tipo histológico, localización del tumor, estadio TN y grado de diferenciación tumoral con otros 32 pacientes con CCR M0.

Partimos de un grupo de pacientes con CCR primario con metástasis hepáticas intervenidas quirúrgicamente (n=32). De la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica se seleccionaron pacientes con CCR M0 emparejados con los anteriores por edad, sexo, localización, tipo histológico, grado tumoral y TN (n=32). En total contamos con una muestra de 64 pacientes diagnosticados de CCR e intervenidos quirúrgicamente entre el año 2001 al año 2019. Fueron incluidos pacientes de ambos sexos, sin límite de edad establecido. Según la localización general del tumor fue dividido en colon derecho (hasta ángulo esplénico no incluido), colon izquierdo (de ángulo esplénico hasta recto) y recto. Seguimos la clasificación del AJCC 8ª edición de estadiaje tumoral y la clasificación histológica de Dukes modificada por Astler y Coller considerando estadio A aquel tumor que no llega a la muscular propia, B1: infiltra hasta la muscular propia, B2: sobrepasa la muscular propia y llega a la serosa o a la grasa pericólica, C1: B1 con metástasis ganglionares, C2: B2 con metástasis ganglionares y D: metástasis a distancia.^{32 33} Cuando una pieza quirúrgica presentaba dos carcinomas sincrónicos, se eligió la muestra con estadio TN más alto.

II. Datos clínicos y obtención de información

Los datos clínicos e histopatológicos fueron obtenidos a partir de los informes de las piezas quirúrgicas de Anatomía Patológica de los Hospitales Universitarios “Santa María del Rosell” y “Santa Lucía” de Cartagena (España). Fue comprobada la ausencia de desarrollo de metástasis por parte de los pacientes clasificados como M0 desde su diagnóstico mediante la revisión de los informes de seguimiento de los pacientes por parte de Oncología Médica y Cirugía General por medio de la plataforma SELENE® y Ágora.

Todas las muestras histológicas teñidas con Hematoxilina & eosina fueron valoradas en un primer tiempo por un único patólogo (Dr. José García Solano) y revisadas posteriormente por el mismo y por mí para eliminar el efecto de la variabilidad interobservador.

El estudio actual fue aprobado previamente a su realización por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital “Santa Lucía” de Cartagena y se llevó a cabo con el consentimiento de los pacientes previo a la cirugía para el uso de muestras de tejidos y la información médica pertinente para la investigación siguiendo la Ley Orgánica 3/2018 de Protección de datos personales y garantía de los derechos digitales.

III. Evaluación histopatológica

i. Estimación de las variables histopatológicas con valor pronóstico en la respuesta inmune

- *Tipo histológico*: los tumores fueron clasificados acorde a los criterios de WHO del año 2019.³⁴
- *Respuesta inflamatoria peritumoral/intratumoral*: su intensidad se evaluó según lo descrito por Klintrup et al² en una escala de 4 grados de la siguiente forma: ausente: aquellos sin respuesta inflamatoria, leve: aumento leve o irregular, moderado: con respuesta prominente, intenso:

infiltrado inflamatorio florido “en forma de copa”. Esta respuesta se observa en **imagen adjunta A y B**.

De igual modo, evaluamos la *respuesta inflamatoria Crohn-like* definida como agregados linfoides que rodean la periferia del margen invasor entre la muscular propia externa y tejido adiposo pericólico. Se evaluó como ausente, leve, moderado e intenso siguiendo los criterios establecidos por Graham and Appelman.³⁵

ii. Otros datos histopatológicos de valor pronóstico

- *Grado de diferenciación tumoral:* de bajo grado aquellos bien-moderadamente diferenciados y de alto grado aquellos pobremente diferenciados.

- *Patrón de crecimiento tumoral en frente invasor:* siguiendo la clasificación de Jass¹⁸ fue clasificado como patrón infiltrante expansivo o infiltrativo. Se puede apreciar en **imagen C** adjunta.

- *Gemación tumoral:* según la clasificación de Ueno et al, atendiendo al número de focos de TB de la siguiente manera: < 10 focos a aquellos de bajo riesgo, alto riesgo a aquellos con 10 o más focos y en caso de no observar ningún foco se reflejaba como ausente.³⁶

- *La invasión vascular, linfática y perineural:* fue considerada presente cuando se observaron células o trombos de células tumorales en un espacio revestido de endotelio. Puede observarse en la **imagen D**.

- *La extensión extramural discontinua:* identificada por la presencia de nódulos tumorales irregulares en tejido adiposo peritumoral, sin evidencia histológica de ganglio linfático residual. Fue categorizada de la siguiente manera: no observada, presente o indeterminada.

IV. Análisis estadístico

Tras el preprocesamiento de datos, la información recogida se almacenó en dos bases de datos utilizando las hojas de cálculo del programa Microsoft Office® 2019 Excel® (una para pacientes con CCR M1 y otra para pacientes con CCR M0).

El procesamiento y análisis de datos se realizó con el software estadístico SPSS® versión 24.0. Las tablas estadísticas y gráficos generados con el SPSS se diseñaron con el programa Microsoft Office® 2019 Excel®.

Con el objetivo de analizar la asociación estadística de las diferencias observadas y, al tratarse de variables cualitativas, se realizaron las siguientes pruebas de significación estadística: test de chi cuadrado y test exacto de Fisher (si tamaño muestral <5). Se determinó por consenso un valor de $p < 0,05$, requisito para considerar estadísticamente significativas las diferencias observadas.

3. RESULTADOS

I. Estadística descriptiva

El tamaño muestral finalmente fue de 64 pacientes con CCR, 32 en cada uno de los grupos: M0 y M1 emparejados por edad, sexo, localización, tipo histológico, grado histológico y TN. En la **tabla 1** se detallan las características comunes de estos parámetros de emparejamiento.

II. Estadística analítica

i. **Datos histopatológicos de la respuesta inmune:** En la **tabla 2** figuran los resultados obtenidos.

Los CCR sin metástasis, muestran mayor cantidad de inflamación en general (moderada-intensa), que los metastásicos (69,7% vs 37,5%, $p = 0,04$).

La intensidad de linfocitos peritumorales fue superior en aquellos pacientes M0 que en aquellos M1 (intensidad moderada e intensa de 46,9% y 25% respectivamente, $p=0,16$).

La reacción Crohn-like también fue superior en aquellos pacientes M0, con una intensidad moderada-intensa superior (28,1% vs 21,9%, $p=0,19$). Realizando el análisis sin agrupar de forma conjunta la intensidad moderada-intensa de la reacción obtiene significación estadística como se muestra en la **Tabla 3**.

La presencia de TILS fue superior en aquellos pacientes M1 que en aquellos M0 (12,5% vs 3,1%, $p=0,17$).

Los pacientes M0 desarrollaban una respuesta inflamatoria de predominio polimorfonuclear más intensa (46,9%) que el grupo M1 (28,2%), $p=0,17$. En cambio, la respuesta inflamatoria polimorfonuclear eosinofílica fue superior en aquellos pacientes M1 (21,9% vs 6,3%, $p=0,14$).

Los pacientes con CCR M0, muestran una mayor intensidad de casquete peritumoral que los pacientes M1 (40,7% vs 28,2%, $p=0,45$).

La reacción abscesificada está presente en un porcentaje similar en ambos grupos (28,1% en aquellos M0 vs 21,9% en aquellos M1, $p=0,56$).

En cuanto a la presencia de macrófagos, observamos que los pacientes M0 presentan una intensidad moderada-intensa superior (15,7% vs 6,3%, $p=0,21$).

ii. **Datos histopatológicos de valor pronóstico no relacionados con la respuesta inmune:** En la **tabla 4** figuran los resultados obtenidos.

Los CCR M0 carecen de fenómeno de Budding en un porcentaje superior que aquellos pacientes M1 (37,5% vs 25%, $p=0,32$).

Respecto al patrón de crecimiento tumoral, aquellos pacientes con metástasis presentan un patrón infiltrativo en un porcentaje superior que aquellos sin metástasis (65,6% vs 31,3%, $p=0,01$).

En comparación con los pacientes M0, la existencia de extensión extramural discontinua fue superior en aquellos pacientes con metástasis (34,4% vs 12,5%,

p 0,03). La invasión linfática, vascular y perineural también está presente en mayor medida en aquellos CCR M1 (p 0,59, p 0,03 y p 0,02 respectivamente).

4. DISCUSIÓN

El estudio de factores histopatológicos que intervienen en la respuesta inmune se consideran factores con un valor pronóstico independiente e incluso superior al estadio TNM.

La reacción linfocítica puede ser entendida por el conjunto de linfocitos Crohn-like, reacción peritumoral, intratumoral y linfocitos intratumorales, en nuestro estudio todo ello fue estudiado por separado. Huh JW et al ³⁷ llegaron a la conclusión de que el infiltrado inflamatorio tumoral se asocia a un comportamiento tumoral indolente y mayor grado de diferenciación celular. Además, se ha visto que, en pacientes con elevada **reacción inflamatoria general** en el frente invasor, la respuesta Crohn-like no es significativa mientras que en aquellos con poca reacción inflamatoria su presencia predice un buen pronóstico. Esto sugiere que ambas respuestas no son diferentes fenotipos de una misma respuesta inmune, sino que representan variables independientes en el pronóstico. Sin embargo, pacientes que desarrollen poca reacción inflamatoria y poca respuesta Crohn-like son los que tendrán peor pronóstico. ² De acuerdo con esto, en nuestro estudio, la mayor cantidad de respuesta inflamatoria general y de predominio linfocitario en aquellos pacientes sin metástasis y con una asociación estadísticamente significativa apoya esta teoría.

Es conocida la asociación entre la presencia de linfocitos intratumorales y reacción Crohn like como indicador pronóstico en el CCR. Sin embargo, en nuestro estudio, la presencia de **TILS** fue escasa en aquellos pacientes sin metástasis, hallazgo que no esperábamos encontrar, ya que diversos estudios como el llevado a cabo por L.S. Rozek et al, mostraron a partir de una muestra de 2369 pacientes que la presencia de linfocitos intratumorales está fuertemente asociada con un mejor pronóstico y la presencia de linfocitos intratumorales por cada campo de gran aumento se asocia a una disminución de mortalidad del 3-4%. ³⁸

Este resultado, a pesar de no mostrar asociación estadísticamente significativa puede ser explicado por el método de medida ya que su cuantificación y caracterización es laboriosa y dependiente del patólogo por lo que podrían ser de utilidad técnicas estandarizadas de medida en la práctica clínica.

Respecto a la intensidad de la **reacción Crohn like**, autores como LS. Rozek mostraron que su presencia presentaba una asociación estadísticamente significativa con la supervivencia global.³⁸ A pesar de que en nuestro estudio aquellos pacientes M0 presentaban mayor intensidad de este tipo de respuesta en línea de la teoría anteriormente citada, no podemos afirmar que exista asociación estadísticamente significativa si clasificamos la intensidad de su infiltrado moderado-intenso de forma conjunta. Sin embargo, analizando su intensidad de forma separada, adquiere significación estadísticamente significativa apoyando la teoría de LS. Rozek.

Como sugieren estudios previos, el desarrollo de una respuesta inflamatoria se asocia a mejor pronóstico.²⁶ A pesar de no haber alcanzado significación estadística, en este estudio la **respuesta inflamatoria neutrofílica** fue más prominente en aquellos pacientes sin metástasis, apoyando las teorías de autores como L. Wikberg et al, quienes sugieren que el infiltrado neutrofílico en el frente tumoral es un factor pronóstico favorable en aquellos pacientes en estadio I-II.³⁹ Esto puede ser explicado por el mecanismo de escape inmune de los estadios avanzados. A pesar de ello, es un tema en el que no hay consenso ya que por el contrario, Hui-Lan Rao, quienes utilizaron métodos como el TMA e inmunohistoquímica para investigar la importancia clínico-patológica intratumoral de los neutrófilos CD 66b+, establecieron que la presencia de un infiltrado de predominio neutrofílico estaba directamente correlacionado con el estadio tumoral, hallándose además en las metástasis linfáticas y tejidos metastásicos⁴⁰ por lo que su impacto sigue siendo controvertido.

L Harbaum et al⁴¹ sugieren que la intensidad de la **respuesta inflamatoria eosinofílica** se asocia con un estadio TNM menor, una mejor diferenciación tumoral así como con la ausencia de invasión linfovascular al igual que los resultados del artículo de K. Klintrup et al que mostraron que su presencia en el margen invasivo tumoral mostraba una relación positiva con el pronóstico pero

sin alcanzar asociación estadísticamente significativa.² En cambio, en nuestro estudio no existe asociación incluso observamos cómo la presencia de esta respuesta es superior en aquellos pacientes con metástasis.

La **reacción macrofágica** tiene un papel importante en la defensa frente al tumor invasor. A pesar de que su presencia no muestra una asociación estadísticamente significativa en nuestro estudio, sí está presente con una intensidad moderada-intensa en aquellos pacientes sin metástasis, como demostraron K. Klintrup et al que además sugieren que, en ausencia de infiltrado inflamatorio, la reacción macrofágica sirve como parámetro de buen pronóstico.

2

La respuesta inflamatoria tumoral varía según el subtipo histológico como afirman algunos autores como García Solano et al quienes observaron cómo la respuesta linfoide en tejido invasor (linfocitos peritumorales) en los CCR tipo serrado (CS) era menor y que la existencia de una respuesta inmune deficiente podría ser la responsable de la mayor frecuencia de tumor Budding y del peor resultado clínico que presentan estos pacientes con CS.⁴²

El **tumor Budding** ha sido considerado como un valor histopatológico cuya presencia en biopsias preoperatorias o tumor primario predice un mayor riesgo de invasión ganglionar metastásica por autores como Brotobo et al.²¹

A pesar de que en nuestro estudio un 37% de pacientes sin metástasis carecían de tumor budding respecto a un 25% en aquellos con metástasis, esta relación no ha mostrado asociación significativa, lo que podría ser explicado porque su recuento se llevó a cabo por medio de tinción convencional con hematoxilina & eosina y no por inmunohistoquímica que se ha demostrado potenciador en cuanto a su detección, además de las diferentes sistemas de puntuación de gemación tumoral existentes: Hase et al, Nakamura et al o Ueno et al.^{20 43}

El **patrón de crecimiento tumoral** de tipo infiltrativo fue predominante en aquellos pacientes con metástasis en comparación con aquellos pacientes sin metástasis en los que se caracterizó por un patrón de crecimiento tumoral expansivo mostrando esta variable una asociación estadísticamente significativa. En línea de lo publicado por Morikawa et al, que muestran que el

patrón de crecimiento tumoral de tipo infiltrativo se asociaba con una supervivencia específica y global menor con una asociación inversamente proporcional con la presencia de MSI, reacción linfocitaria peritumoral y mutación BRAF.¹⁹

La extensión extramural discontinua se considera un paso crucial en el desarrollo de metástasis a distancia en cánceres gastrointestinales. En nuestro estudio se ha encontrado asociación estadísticamente significativa de la extensión extramural discontinua con presencia de metástasis. Esto concuerda con Akagi et al quienes sugieren que el valor de extensión extramural discontinua >5 mm (T3b) es el mejor punto de corte pronóstico para estratificar a pacientes con cáncer de colon, así como predictor del resultado oncológico recomendando quimioterapia postoperatoria en aquellos con estadio T3b. Su presencia puede ser fácilmente evaluada en una laminilla histológica con un coste-beneficio eficiente y sin complejidad técnica por lo que su evaluación puede ser de utilidad para fines terapéuticos.²³

El impacto de la presencia de **invasión linfática** sobre el desarrollo de metástasis es conocido. Bredge et al observaron en una muestra de 400 pacientes que aquellos pacientes sin invasión linfática presentaban una supervivencia libre de progresión a los 5 años del 70% frente a un 36% en aquellos con invasión linfática con un valor de p 0,001 presentando estos además mayor progresión de la enfermedad.²² A pesar de ello, su impacto fue pobre en nuestra cohorte ya que, a pesar de estar presente en mayor medida en aquellos pacientes con metástasis, no existe asociación con el desarrollo de metástasis al no hallar significación estadística.

En nuestro estudio, la **invasión vascular** representa una variable con asociación estadísticamente significativa en el desarrollo de metástasis siguiendo la línea de autores como Betge et al. Este dato es de gran utilidad en pacientes con estadio II en la AJCC ya que no son candidatos de rutina a terapia neoadyuvante, por lo que algunos autores sugieren el uso de TC con contraste como factor preoperatorio para detectar su presencia y predecir la presencia de metástasis sincrónicas.^{44 22}

La **invasión perineural** es otro componente importante del microambiente tumoral conocido por su mayor agresividad tumoral y peor pronóstico en tumores malignos, apoyado por los resultados del estudio que presentamos en el que estaba presente en mayor medida en pacientes con metástasis con una asociación estadísticamente significativa. Además, estudios como el llevado a cabo por Liebig C. et al describen cómo aquellos pacientes con cáncer de localización rectal presentaban mayor incidencia de IPN que los de localización en colon dada la presencia de plexos nerviosos autonómicos alrededor del recto. Esto sugiere que la presencia de IPN en cáncer rectal es el responsable del peor pronóstico que presentan los tumores en esta localización. Se propone, por lo tanto, como predictor independiente del desarrollo de metástasis, sugiriendo que pacientes sin afectación ganglionar pero con invasión perineural podrían beneficiarse de terapias adyuvantes, incluyendo la valoración de la invasión perineural como parámetro a tener en cuenta a la hora de clasificar a pacientes candidatos de tratamientos adyuvantes. ²⁴.

Hay varias limitaciones que deben tenerse en cuenta en nuestro estudio. En primer lugar, el número de sujetos incluidos (n=64) es reducido. Una segunda limitación que debe considerarse surge del origen de los datos transversales y de carácter retrospectivo con mayor posibilidad de sesgos al contar con grupo control. No contamos con información sobre el tratamiento neoadyuvante recibido o la presencia de factores epidemiológicos clásicos que previamente se han señalado como factores implicados ^{1 3} por lo que es difícil determinar la dirección de causalidad.

El uso del Inmunoscore así como el estudio del resto de factores histopatológicos en futuros trabajos e investigaciones puede aportar información adicional útil en la valoración de los pacientes con CCR.

Además, los hallazgos reflejados del presente estudio podrían condicionar la estrategia de manejo terapéutico a seguir en los pacientes con CCR por lo que es importante tenerlo presente.

En resumen, este estudio es el inicio a una línea de investigación prometedora y con gran repercusión en el manejo terapéutico de pacientes con cáncer colorrectal suponiendo un avance científico en este campo.

5. CONCLUSIONES

1- La intensidad de la respuesta inmune inflamatoria general en pacientes con CCR M0 está presente en mayor cantidad que en pacientes con CCR M1 alcanzando significación estadística.

2- En cuanto al resto de variables histopatológicas estudiadas encontramos significación pronóstica estadística en las siguientes: reacción Crohn-like, invasión vascular, invasión perineural, patrón de crecimiento tumoral y extensión extramural discontinua.

Con este trabajo hemos realizado una valoración histopatológica con el objetivo de comparar qué datos histopatológicos con valor pronóstico junto al tipo de infiltrado inflamatorio peritumoral se relacionan con metástasis hepáticas, formando parte del trabajo previo a una tesis doctoral de una patóloga del "Hospital Santa Lucía" con la finalidad de crear un algoritmo de inteligencia artificial que prediga qué pacientes tienen riesgo de desarrollar metástasis así como comparar si su utilidad es superior al análisis realizado por patólogos expertos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet*. 2014;383(9927):1490–502.
2. Klintrup K, Mäkinen JM, Kauppila S, Väre PO, Melkko J, Tuominen H, et al. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2005;41(17):2645–54.
3. Ogino S, Giannakis M. Immunoscore for (colorectal) cancer precision medicine. *Lancet*. 2018;391(10135):2084–6.
4. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759–67.
5. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature*. 1997;386(6625):623–7.
6. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular Basis of Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2009;361(25):2449–60.
7. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, De Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350–6.
8. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary Colorectal Cancer. *N Engl J Med*;348(10):919–32.
9. Gryfe R, Kim H, Hsieh ETK, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2000;342(2):69–77.
10. Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkänen L, Mecklin JP, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science*. 1993;260(5109):812–6.
11. Söreide K, Janssen EAM, Söiland H, Körner H, Baak JPA. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Br J Surg*. 2006;93(4):395–406.
12. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JPJ. CpG

- island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul;96(15):8681–6.
13. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut*. 2009;58(1):90–6.
 14. 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*. 2006;38(7):787–93.
 15. Rhee YY, Kim KJ, Kang GH. CpG Island methylator phenotype-high colorectal cancers and their prognostic implications and relationships with the serrated Neoplasia pathway. *Gut Liver*. 2017;11(1):38–46.
 16. Fischer J, Walker LC, Robinson BA, Frizelle FA, Church JM, Eglinton TW. Clinical implications of the genetics of sporadic colorectal cancer. *ANZ J Surg*. 2019;89(10):1224–9.
 17. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409–13.
 18. Jass JR, Love SB, Northover JMA. A NEW PROGNOSTIC CLASSIFICATION OF RECTAL CANCER. *Lancet*. 1987;329(8545):1303–6.
 19. Morikawa T, Kuchiba A, Qian R, Mino-Kenudson M, Hornick JL, Yamauchi M, et al. Prognostic significance and molecular associations of tumor growth pattern in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(6):1944–53.
 20. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2012;106(11):1713–7.
 21. Deb B, Jacob S. Predictive power of tumour budding for lymph node metastasis in colorectal carcinomas: A retrospective study. *Indian J Med Res*. 2019;150(6):635–9.
 22. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Schlemmer A, Rehak P,

- et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer. *Cancer*. 2012;118(3):628–38.
23. Akagi Y, Shirouzu K, Kinugasa T. Extramural Extension as Indicator for Postoperative Adjuvant Chemotherapy in Stage IIA (pT3N0) Colon Cancer. *J Surg Oncol*. 2013;108(6):358–63.
 24. Liebig C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, et al. Perineural Invasion Is an Independent Predictor of Outcome in Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5131–7.
 25. Sinicrope FA, Rego RL, Ansell SM, Knutson KL, Foster NR, Sargent Miles DJ, et al. A low intraepithelial effector (CD3+):regulatory (FoxP3+) T-cell ratio predicts adverse outcome of human colon carcinoma. *Gastroenterology*. 2009;137(4):1270–9.
 26. Angell HK, Bruni D, Carl Barrett J, Herbst R, Galon J. The immunoscore: Colon cancer and beyond a C. *Clin Cancer Res*. 2020;26(2):332–9.
 27. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2509–20.
 28. Salama P, Phillips M, Grieu F, Morris M, Zeps N, Joseph D, et al. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 10;27(2):186–92.
 29. Fridman WH, Pagès F, Sauts-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: Impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):298–306.
 30. Guo L, Wang C, Qiu X, Pu X, Chang P. Colorectal Cancer Immune Infiltrates: Significance in Patient Prognosis and Immunotherapeutic Efficacy. *Front Immunol*. 2020;11:1052.
 31. Peng J, Wang Y, Zhang R, Deng Y, Xiao B, Ou Q, et al. Immune Cell Infiltration in the Microenvironment of Liver Oligometastasis from Colorectal Cancer: Intratumoural CD8/CD3 Ratio Is a Valuable Prognostic Index for Patients Undergoing Liver Metastasectomy. *Cancers*. 2019;11(12):1922.

32. Astler VB, Collier FA, Arbor A. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg.* 1954;139(6):846–52.
33. Shida D, Kanemitsu Y, Hamaguchi T, Shimada Y. Introducing the eighth edition of the tumor-node-metastasis classification as relevant to colorectal cancer, anal cancer and appendiceal cancer: A comparison study with the seventh edition of the tumor-node-metastasis and the Japanese Classification of Co. *Jpn J Clin Oncol.* 2019;49(4):321–8.
34. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020;76(2):182–8.
35. Graham DM, Appelman HD. Crohn's-like lymphoid reaction and colorectal carcinoma: a potential histologic prognosticator. *Mod Pathol.* 1990;3(3):332–5.
36. 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.
37. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg.* 2012;147(4):366–71.
38. Rozek LS, Schmit SL, Greenson JK, Tomsho LP, Rennert HS, Rennert G, et al. Tumor-Infiltrating lymphocytes, Crohn's-like lymphoid reaction, and survival from colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(8):1-8.
39. Wikberg ML, Ling A, Li X, Öberg Å, Edin S, Palmqvist R. Neutrophil infiltration is a favorable prognostic factor in early stages of colon cancer. *Hum Pathol.* 2017;68:193–202.
40. Rao HL, Chen JW, Li M, Xiao YB, Fu J, Zeng YX, et al. Increased intratumoral neutrophil in colorectal carcinomas correlates closely with malignant phenotype and predicts patients' adverse prognosis. *PLoS One.* 2012;7(1).

41. Harbaum L, Pollheimer MJ, Kornprat P, Lindtner RA, Bokemeyer C, Langner C. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Mod Pathol*. 2015;28(3):403–13.
42. 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*. 2011;59(6):1046–56.
43. OHTSUKI K, KOYAMA F, TAMURA T, ENOMOTO Y, FUJII H, MUKOGAWA T, et al. Prognostic Value of Immunohistochemical Analysis of Tumor Budding in Colorectal Carcinoma. *Anticancer Res*. 2008;28(3B):1831–6.
44. Yang S-X, Yao X, Song X-H, Cui Y-C, Ye Y-J, Wang Y. Extramural vascular invasion detected by contrast-enhanced multiple-row detectors computed tomography (ceMDCT) as a predictor of synchronous metastases in colon cancer. *Oncotarget*. 2017;8(55):94883–92.

ANEXO. Tablas, gráficos y figuras

Tabla 1. Características clínico-histopatológicas de variables emparejadas

	M0 (n=32)	M1 (n=32)	Análisis estadístico (p)
Edad – años			
Media (DS)	65.75 (\pm 11.39)	62.79 (\pm 9.17)	
Mediana (Rango)	65.5 (44-86)	64 (43-83)	
Sexo – n (%)			
Mujer	12 (37.5)	12 (37.5)	
Hombre	20 (62.5)	20 (62.5)	
			p=1,00
Localización general – n (%)			
Colon derecho	11 (34.4)	11 (34.4)	
Colon izquierdo	20 (62.5)	20 (62.5)	
Recto	1 (3.1)	1 (3.1)	
			p= 1,00
Localización específica – n (%)			
Ciego	6 (18.8)	7 (21.9)	
Colon ascendente	4 (12.5)	4 (12.5)	
Colon transverso	2 (6.3)	0 (0)	
Ángulo esplénico	1 (3.1)	2 (6.3)	
Colon descendente	1 (3.1)	2 (6.3)	
Sigma	17 (53.1)	16 (50.0)	
Recto	1 (3.1)	1 (3.1)	
			p= 0,83
Tipo histológico – n (%)			
Carcinoma convencional	23 (71.9)	23 (71.9)	
Carcinoma convencional mucinoso	3 (9.4)	3 (9.4)	
Carcinoma serrado	6 (18.8)	6 (18.8)	
			p=1,00
Grado histológico – n (%)			
Bajo grado	30 (93.8)	30 (93.8)	
Alto grado	2 (6.3)	2 (6.3)	
			p=1,00
TN– n (%)			
T2N0	4 (12,5)	5 (15,6)	
T2N1	1 (3,1)	1 (3,1)	
T3N0	4 (12,5)	4 (12,5)	
T3N1	9 (28,1)	9 (28,1)	
T3N2	9 (28,1)	8 (25)	
T4N0	3 (9,4)	4 (12,5)	
T4N1	1 (3,1)	0 (0)	
T4N2	1 (3,1)	1 (3,1)	
			p=0,98

Tabla 2. Datos histopatológicos de la respuesta inmune

	M0 (n=32)	M1 (n=32)	Análisis estadístico (p)
Inflamación general – n (%)			
No	4 (12.5)	7 (21.9)	
Leve	6 (18.8)	13 (40.6)	
Moderado/intenso	22 (69.7)	12 (37,5)	
			p= 0,04
Linfocitos peritumorales – n (%)			
No	5 (15.6)	9 (28.1)	
Leve	12 (37.5)	15 (46.9)	
Moderado/intenso	15 (46.9)	8 (25.0)	
			p=0,16
Reacción Crohn-Like – n (%)			
No	10 (31.3)	17 (53.1)	
Leve	13 (40.6)	8 (25.0)	
Moderado/intenso	9 (28.1)	7 (21.9)	
			p= 0,19
TILs – n (%)			
No	31 (96.9)	28 (87.5)	
Si	1 (3.1)	4 (12.5)	
			p= 0,35
Polimorfonucleares neutrófilos – n (%)			
No	9 (28.1)	16 (50.0)	
Leve	8 (25.0)	7 (21.9)	
Moderado/intenso	15 (46,9)	9 (28.2)	
			p=0,17
Polimorfonucleares eosinófilos – n (%)			
No	30 (93.8)	25 (78.1)	
Si	2 (6.3)	7 (21.9)	
			p=0,14
Casquete peritumoral – n (%)			
No	15 (46.9)	16 (50.0)	
Leve	4 (12.5)	7 (21.9)	
Moderado/Intenso	13 (40.7)	9 (28.2)	
			p=0,45
Reacción abscesificada – n (%)			
No	23 (71.9)	25 (78.1)	
Si	9 (28.1)	7 (21.9)	
			p=0,56
Macrófagos – n (%)			
No	25 (78.1)	24 (75.0)	
Leve	2 (6.3)	6 (18.8)	
Moderado/intenso	5 (15.7)	2 (6.3)	
			p=0,21

Tabla 3. Reacción Crohn-like

	M0 (n=32)	M1 (n=32)	Análisis estadístico (p)
Reacción Crohn-Like – n (%)			
No	10 (31.3)	17 (53.1)	
Leve	13 (40.6)	8 (25.0)	
Moderado	9 (28.1)	3 (9.4)	
Intenso	0 (0)	4 (12.5)	
			p=0,01

Tabla 4. Datos histopatológicos no relacionados con la respuesta inmune

	M0 (n=32)	M1 (n=32)	Análisis estadístico (p)
Fenómeno de Budding – n (%)			
No	12 (37.5)	8 (25.0)	
Bajo	13 (40.6)	19 (59.4)	
Alto	7 (21.9)	5 (15.6)	
			p=0,32
Patrón de crecimiento tumoral – n (%)			
Expansivo	20 (62.5)	11 (34.4)	
Infiltrativo	10 (31.3)	21 (65.6)	
No disponible	2 (6.2)	0 (0)	
			p= 0,01
Extensión extratumoral discontinua – n (%)			
No	28 (87.5)	21 (65.6)	
Si	4 (12.5)	11 (34.4)	
			p=0,03
Invasión linfática – n (%)			
No	22 (68.8)	20 (62.5)	
Si	10 (31.3)	12 (37.5)	
			p=0,59
Invasión vascular – n (%)			
No	28 (87.5)	21 (65.6)	
Si	4 (12.5)	11 (34.4)	
			p=0,03
Invasión perineural – n (%)			
No	30 (93.8)	23 (71.9)	
Si	2 (6.3)	9 (28.1)	
			p=0,02

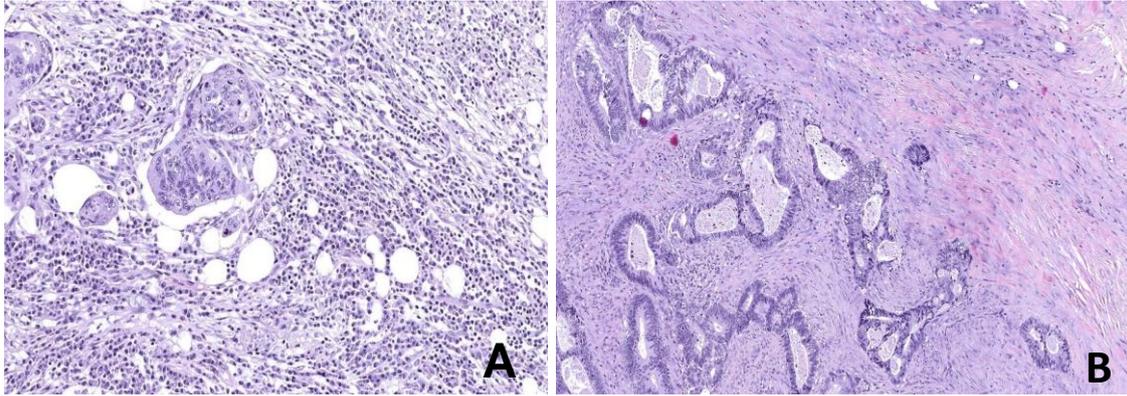


Imagen A. CCR con intensa respuesta linfoide y plasmocelular en el frente invasor. Técnica de H.E X20. **Imagen B.** CCR sin respuesta inmune en el frente invasor. Técnica de H.E. X20.

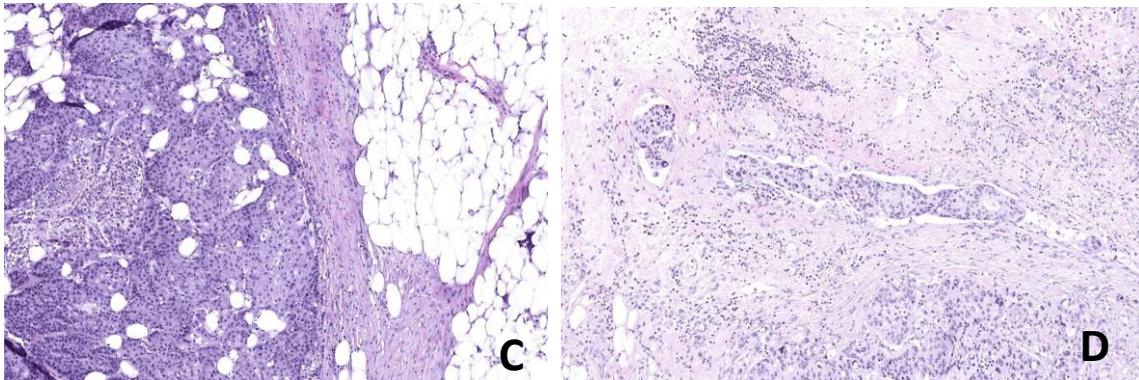


Imagen C. CCR con típico patrón de infiltración expansivo. Técnica de H.E. X20. **Imagen D.** CCR con invasión linfática. En el centro de la imagen se observa linfático con nido de CCR. Técnica de H.E X20.

