



## ORIGINAL

# Características clínicas, anatomopatológicas y moleculares en casos de cáncer colorrectal según localización tumoral y grado de diferenciación



Laura Vilorio-Marqués<sup>a</sup>, Antonio José Molina<sup>a,\*</sup>, Cristina Diez-Tascón<sup>b</sup>, Begoña Álvarez-Cuenllas<sup>c</sup>, Concepción Álvarez-Cañas<sup>b</sup>, Mercedes Hernando-Martín<sup>b</sup>, Tania Fernández-Villa<sup>a</sup>, Tomás Elosua<sup>d</sup> y Vicente Martín<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup> Grupo de Investigación en Interacción Gen-Ambiente-Salud, Universidad de León, León, España

<sup>b</sup> Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE), León, España

<sup>c</sup> Servicio de Digestivo, Complejo Asistencial Universitario de León, León, España

<sup>d</sup> Servicio de Cirugía, Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE), León, España

<sup>e</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red Epidemiología y Salud Pública, CIBERESP, Madrid, España

Recibido el 12 de noviembre de 2014; aceptado el 5 de junio de 2015

Disponible en Internet el 11 de agosto de 2015

### PALABRAS CLAVE

Cáncer colorrectal;  
Grado de diferenciación tumoral;  
Estadio tumoral;  
Localización tumoral;  
Marcador biológico

### Resumen

**Objetivos:** El cáncer colorrectal (CCR) presenta elevada incidencia y mortalidad con diferentes tendencias según localización anatómica y otras características anatomopatológicas que parecen vinculadas a cambios tanto a la exposición a factores de riesgo como al diagnóstico siendo esencial una adecuada filiación tumoral para valorar el efecto de dichos factores en la aparición, diagnóstico y progresión de la enfermedad. El objetivo fue describir las características clínicas y anatomopatológicas de pacientes diagnosticados de CCR en el Área de Salud de León en función de la localización tumoral y del grado de diferenciación.

**Métodos:** Se estudió una serie de 408 casos de entre 25 y 85 años con diagnóstico confirmado de CCR, recogiendo información de características clínicas y anatomopatológicas y de los biomarcadores analizados en la rutina clínica. Se realizó análisis univariable y bivariado según el grado de diferenciación y la localización tumoral.

**Resultados:** El tamaño tumoral disminuye desde colon proximal a recto (Colon Proximal = 5,13 cm; Colon Distal = 4,09 cm; Recto = 3,17 cm;  $p < 0,001$ ) siendo el TNM también mayor en zonas proximales. Los adenocarcinomas mucinosos son más frecuentes en tumores pobremente diferenciados que en bien diferenciados (23,1% vs 5,5%). Las invasiones linfática, venosa y peritumoral son más frecuentes con menor grado de diferenciación.

**Conclusiones:** La distribución del estadio tumoral en función de la localización tiene estadios TNM más avanzados en zonas proximales, lo que podría asociarse a una menor detección precoz

\* Autor para correspondencia: Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad de León. Campus de Vegazana s/n. 24007 León. España. Teléfono: 987293110.

Correo electrónico: ajmolt@unileon.es (A.J. Molina).

en dichos casos. La asociación entre invasión venosa y linfática con el grado de diferenciación es poco conocida requiriéndose estudios que aclaren su posible interés pronóstico.

© 2014 Instituto Nacional de Cancerología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## KEYWORDS

Colorectal neoplasms;  
Neoplasm grading;  
Neoplasm staging;  
Neoplasms  
by location;  
Biological markers

## Clinical, anatomopathological and molecular characteristics of colorectal cancer by tumor location and degree of differentiation

### Abstract

**Aims:** Colorectal cancer (CRC) has a high incidence and mortality, with different patterns depending on anatomical location and other pathological characteristics that appear linked to changes in exposure risk factors exposure as well as the diagnosis. All these make it essential to determine the source of the tumour to properly assess the effect of these factors in the development, diagnosis and progression of the disease. The aim was to describe the clinical and anatomical-pathological characteristics of patients diagnosed with CRC in the Health Area of Leon (ASL) based on their location and degree of tumour differentiation.

**Methods:** Information was collected on the clinical and pathological characteristics, including biological markers analysed in clinical routine of 408 patients between 25 and 85 years with a confirmed diagnosis of CRC, and residents in ASL at least six months before diagnosis. Univariate and bivariate analyses were performed according to the degree of differentiation and tumour location.

**Results:** Tumour size decreases from the colon to the rectum from location decline proximal colon to the rectum (Proximal Colon = 5.13 cm; Distal Colon = 4.09 cm; Rectum = 3.17 cm,  $P < 0.001$ ), with the TNM stage also being higher in proximal areas. Mucinous adenocarcinomas are more frequent in poorly differentiated than in well differentiated tumours (23.1% vs 5.5%). Lymphatic, venous and peri-tumour invasions are more common in poorly differentiated tumours.

**Conclusions:** The distribution in accordance with the location has more advanced TNM stages in the proximal areas, which could be related to the poorer early diagnosis in proximal areas. The association between venous and lymphatic invasion with the degree of differentiation is poorly understood, and requires studies to clarify their possible prognostic interest.

© 2014 Instituto Nacional de Cancerología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los tumores malignos más frecuentes, ocupando a nivel mundial la tercera posición en incidencia y la cuarta en mortalidad<sup>1</sup>. En España, se estiman en 25.000 los casos nuevos y en 13.000 las muertes por CCR al año, lo que lo sitúa como el de más incidencia, con una tendencia ascendente, y el segundo por mortalidad<sup>2</sup>. El área de salud de León (ASL) ha mostrado un incremento en los últimos años en la incidencia en ambos sexos y para todas las localizaciones anatómicas<sup>3,4</sup>, con las tasas de cáncer de recto entre las más altas de España.

Se han observado diferencias en las tendencias de incidencia y mortalidad dependiendo de las diferentes localizaciones anatómicas, tipos histológicos y características anatomopatológicas de los tumores y cabe plantearse cómo se relacionan estas diferencias con factores genéticos, ambientales o los hábitos de vida<sup>5</sup>.

El cáncer colorrectal es un proceso multietapa, caracterizado por la acumulación de eventos moleculares que marcan la progresión de adenoma a carcinoma<sup>6</sup>. En los últimos años

se han aportado conocimientos nuevos sobre la carcinogénesis y el importante papel de marcadores moleculares<sup>7,8</sup>. La determinación del estado mutacional de KRAS y el estudio de la inestabilidad de microsátélites (MSI) ya sea mediante el análisis de este tipo de marcadores o el de la expresión de las enzimas del sistema MMR (*Mismatch-repair enzymes*) son claros ejemplos de biomarcadores analizados por su valor pronóstico y predictivo en el tratamiento de la enfermedad, especialmente en terapias basadas en anticuerpos<sup>9,10</sup>.

Para la valoración del pronóstico también tienen interés factores como la edad, el sexo, las características anatomopatológicas y, especialmente, por su simplicidad y capacidad predictiva, el estadio del tumor mediante la clasificación TNM, que permite una mejor discriminación e individualización de la enfermedad<sup>11</sup>.

La combinación de una adecuada filiación clínico-patológica y de una caracterización molecular de los tumores de los pacientes con CCR es necesaria para mejorar la valoración del efecto de dichos factores, tanto en la aparición como en la progresión de la enfermedad y en la respuesta a los tratamientos<sup>12,13</sup>.

El objetivo de este trabajo es describir las características clinicopatológicas, incluyendo los biomarcadores tumorales analizados en la rutina hospitalaria, de los pacientes diagnosticados de CCR entre 2009 y 2012 en el ASL que participan en el proyecto MCC-Spain, un estudio multicaso-control de tumores con alta incidencia en España, y analizar su distribución por edad, sexo, grado de diferenciación y localización tumoral.

## Material y métodos

### Pacientes y características clinicopatológicas

Se estudió una serie de 408 casos que fueron reclutados en el Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE) desde enero de 2009 hasta junio de 2012 como participantes en el estudio MCC-Spain de casos y controles. De acuerdo con los criterios de inclusión de dicho estudio, se solicitó la participación de pacientes de entre 25 y 85 años de edad, con diagnóstico confirmado de CCR, y residentes en el ASL al menos durante seis meses antes de la fecha del diagnóstico. Todos ellos firmaron el consentimiento informado del estudio, aprobado por los Comités de Ética e Investigación de la Universidad de León y del CAULE, cumpliendo con lo establecido en la Declaración de Helsinki.

A partir de las encuestas realizadas en el contexto del estudio MCC-Spain se recogieron datos demográficos básicos (sexo y edad al diagnóstico). Por otra parte, se consultó el diagnóstico anatomopatológico de las muestras, determinado en la rutina asistencial del Servicio de Anatomía Patológica del CAULE. Se obtuvieron los siguientes datos: diámetro tumoral, localización tumoral, subtipo histológico, grado de diferenciación y presencia de invasión de los vasos linfáticos, invasión venosa, invasión perineural e infiltración linfocítica peritumoral. Además, se recogieron datos referentes al estadio tumoral según la clasificación TNM, a la afectación e invasión de los márgenes tumorales y al número de ganglios extirpados y afectados tras la resección quirúrgica. La información se recogió de acuerdo al protocolo del proyecto MCC-Spain ([www.mccspain.org](http://www.mccspain.org)), así los datos epidemiológicos se recogieron por enfermeras entrenadas como encuestadoras, y la revisión de las historias clínicas fue llevada a cabo por personal entrenado en dichas tareas. Los datos se introdujeron directamente en bases de datos con el programa Microsoft Access® específicamente creadas para la recogida de dicha información. La información fue revisada por la data manager del proyecto y se realizó una segunda búsqueda de la información no presente inicialmente, para mejorar la calidad de la base de datos. Los datos no existentes en las historias clínicas se consideraron como "missing", figurando como tal en la base de datos.

En función de la localización tumoral se establecieron los grupos siguientes: colon derecho (ciego, colon ascendente, colon derecho, ángulo hepático y colon transversal), colon izquierdo (ángulo esplénico, colon izquierdo, colon descendente y sigma) y recto (recto-sigma y recto) de acuerdo con la bibliografía existente<sup>4,6,14</sup>. El tipo histológico se dividió en las siguientes categorías: adenocarcinoma, adenocarcinoma mucinoso y otros, en la que se incluía como una única categoría el resto de tipos (carcinoma de células de anillo en sello, carcinoma escamoso, carcinoma de células

pequeñas, carcinoma adenoescamoso y carcinoma indiferenciado), dada su escasa frecuencia.

### Determinación de biomarcadores

Tanto la determinación del estado mutacional del gen KRAS como el estudio de la expresión inmunohistoquímica de las proteínas del sistema MMR (MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2) forman parte de la rutina asistencial del Servicio de Anatomía Patológica del CAULE.

El estudio de KRAS se realizó mediante el sistema TheraScreen KRAS (QIAGEN Manchester Ltd, Manchester, UK), que se basa en la técnica ARMS-Scorpion<sup>15,16</sup>. Brevemente, mediante PCR a tiempo real, se analiza la presencia de siete mutaciones en los codones 12 y 13 del oncogén KRAS. La determinación se realiza en todos los casos que presentan N1 o estadios más avanzados, y también en aquellos solicitados por razones clínicas a criterio de los facultativos.

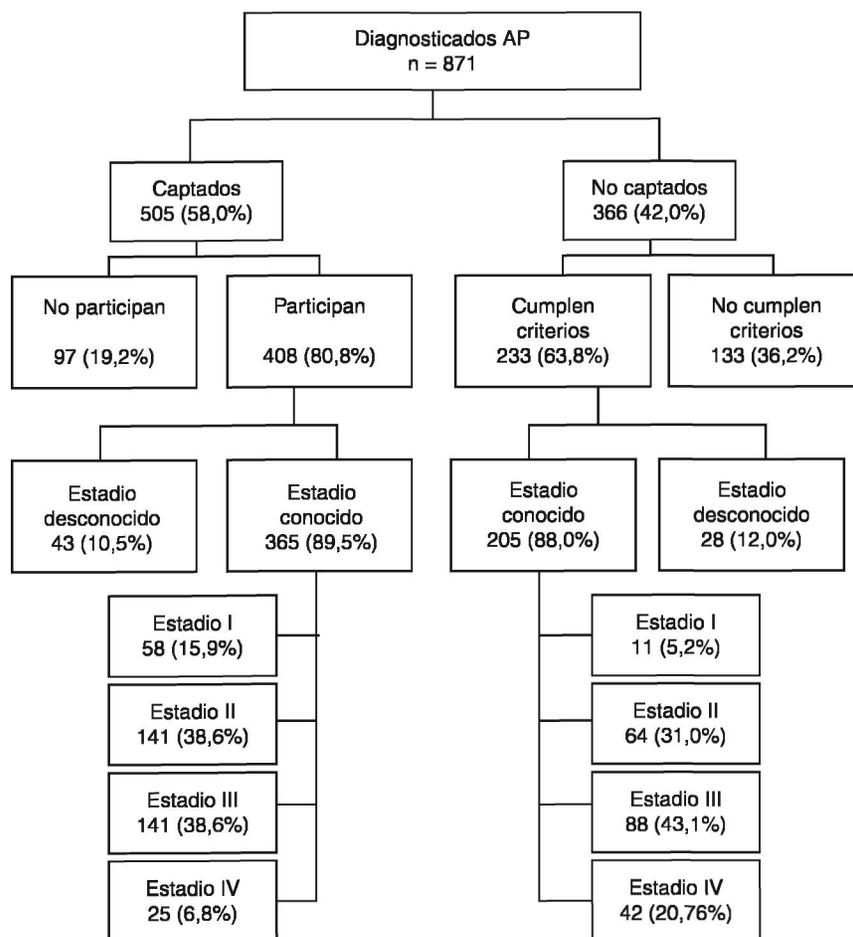
En cuanto al estudio inmunohistoquímico de las proteínas del sistema MMR, se realizó mediante los anticuerpos monoclonales para MSH6 (Biocare Medical, LLC, Concord, CA, USA), MLH-1 (Ventana Medical Systems, Inc. Tucson, AZ, USA) y MSH2 y PMS2 (Cell Marque, Rocklin, CA, USA) en los pacientes menores de 70 años, y en mayores de 70 que cumplen características histológicas sugestivas de MSI (componente mucinoso, componente medular, alto grado, respuesta linfocitaria intratumoral y respuesta linfocitaria peritumoral). Se interpreta que el tumor presenta un fenotipo MSS si presenta expresión de todas las proteínas estudiadas, y fenotipo MSI si es negativo al menos para una de las proteínas.

### Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo univariable, con cálculo de frecuencias para las variables cualitativas y cálculo de medias, desviaciones estándar y rangos para las variables cuantitativas. Se realizaron análisis bivariados en función del grupo de edad, sexo, grado de diferenciación y localización tumoral, calculándose los Odds Ratios (OR) y sus intervalos de confianza al 95%. Se empleó un análisis de  $\chi^2$  cuando se trataba de variables cualitativas, con corrección del test exacto de Fisher si era necesario por ser alguno de los valores esperados menor de 5, de  $\chi^2$  de tendencia en las variables ordinales (pT, pN y TNM) y pruebas de t-Student, ANOVA o de Kruskal-Wallis para las variables cuantitativas, en función de la existencia o no de igualdad de varianzas y de normalidad y del número de categorías comparadas. La igualdad de varianzas se probó con el test de Levene y la normalidad con el test de Shapiro-Wilk. Todos los análisis se realizaron a dos colas y en todos los casos, la significación estadística se situó en un valor  $p < 0,05$  empleando el programa estadístico STATA 13.0.

### Resultados

La fig. 1 muestra el algoritmo de participación de los casos de cáncer colorrectal en el estudio MCC-Spain en el ASL. De los 871 pacientes diagnosticados, 505 (58,0%) fueron localizados para poder solicitar su participación, a lo que accedieron finalmente 408 pacientes (80,8% del total de los localizados),



**Figura 1** Algoritmo de participación en el estudio y clasificación por estadio en los pacientes diagnosticados de CCR en el Servicio de Anatomía Patológica del CAULE.

de entre los no localizados, aproximadamente dos tercios cumplían los criterios de selección.

De los 408 pacientes participantes, 365 disponían de clasificación TNM en su historia clínica. Los tumores más frecuentes correspondieron a los estadios II y III, con 38,6% (141) en cada uno de ellos, mientras que los tumores en estadios I y IV presentaron respectivamente frecuencias de 15,9% (58) y 6,8% (25). A efectos comparativos, para los pacientes no captados constaba información anatomopatológica en 205 casos (88,0%), de los que los estadios tumorales II y III fueron 31% y 43,1% respectivamente. Mientras que para los estadios I y IV, los valores fueron respectivamente de 5,2% y 20,7%.

La tabla 1 muestra las frecuencias absolutas y relativas de distribución de los participantes para las variables estudiadas. De los 408 pacientes, 143 fueron mujeres (35%) y 265 hombres (65%). La media de edad de los pacientes incluidos fue similar en hombres y mujeres siendo de 70,6 y 70,2 años respectivamente, si bien se advirtió que la distribución por sexo (hombre:mujer) entre los menores de 50 años fue aproximadamente 1:1, mientras que en los mayores de 50 la relación es 2:1, aunque no se observaron diferencias significativas.

Se obtuvieron datos de 392 biopsias, la localización más frecuente es recto (38,3%) seguido de colon distal (32,2%), en cuanto al grado de diferenciación los más frecuentes fueron los moderadamente diferenciados (43,4%). Respecto al tipo histológico, 88% fueron de tipo adenocarcinoma y 9,7% (38) de tipo adenocarcinoma mucinoso.

Las pruebas moleculares mostraron para el marcador KRAS que en 56 muestras (41,8%) se encontraba mutado. En cuanto al análisis de las proteínas del sistema MMR, se obtuvo información de 107 pacientes de los que 10,3% (11 pacientes) presentaron el fenotipo MSI.

La tabla 2 recoge el análisis en función de la localización tumoral. Por sexo, se observó que colon derecho fue la ubicación más frecuente en mujeres y recto en hombres. Asimismo se observó un gradiente decreciente en el tamaño medio de los tumores desde la zona más proximal a la más distal (Colon Proximal = 5,13 cm; Colon Distal = 4,09 cm; Recto = 3,17 cm;  $F = 26,5$ ; g.l. = 344; 2;  $p < 0,001$ ). Este gradiente también se observa en las categorías de pT con tendencia a ser mayores o más invasivas en colon que en recto, tanto en colon derecho como en colon izquierdo. Asimismo el estadio TNM muestra una tendencia a ser más elevado en colon derecho y en colon izquierdo que en

**Tabla 1** Distribución de los pacientes según sus características clinicopatológicas y moleculares

Características	n (%)
<b>Sexo</b> (N = 408)	
Varones	265 (65,0)
Mujeres	143 (35,0)
<b>Localización</b> (N = 397)	
Colon proximal	117 (29,5)
Colon distal	128 (32,2)
Recto	152 (38,3)
<b>pT</b> (N = 369)	
pT 0/1/2	77 (20,9)
pT3	213 (57,7)
pT4	79 (21,4)
<b>pN</b> (N = 371)	
pN0	207 (55,8)
pN1	118 (31,8)
pN2	46 (12,4)
<b>Estadio TNM</b> (N = 365)	
Estadio I	58 (15,9)
Estadio II	141 (38,6)
Estadio III	141 (38,6)
Estadio IV	25 (6,8)
<b>Grado de diferenciación</b> (N = 334)	
Bien diferenciado	110 (32,9)
Moderadamente diferenciado	145 (43,4)
Pobremente diferenciado	79 (23,7)
<b>Tipo histológico</b> (N = 392)	
Adenocarcinoma	345 (88,0)
Adenocarcinoma mucinoso	38 (9,7)
Otros	9 (2,3)
<b>Márgenes de resección</b> (N = 332)	
Afectados	114 (34,3)
Libres	218 (65,7)
<b>Invasión linfática</b> (N = 337)	
Ausente	202 (59,9)
Presente	135 (40,1)
<b>Invasión venosa</b> (N = 347)	
Ausente	202 (58,2)
Presente	145 (41,8)
<b>Invasión perineural</b> (N = 351)	
Ausente	222 (63,2)
Presente	129 (36,8)
<b>Invasión peritumoral</b> (N = 244)	
Ausente	196 (80,3)
Presente	48 (19,7)
<b>KRAS</b> (N = 134)	
Mutado	56 (41,8)
Nativo	78 (58,2)
<b>Inestabilidad de microsatélites</b> (N = 107)	
MSS	96 (89,7)
MSI	11 (10,3)

recto, siendo esa diferencia estadísticamente significativa ( $X^2 = 13,85$ ; g.l. = 6;  $p = 0,031$ ).

Los adenocarcinomas mucinosos son más frecuentes en colon derecho (17,2%) que en colon izquierdo (9,6%) y que en recto (4,2%) (Fisher Exact test = 15,05; g.l. = 4;  $p = 0,003$ ). La invasión peritumoral muestra también una mayor presencia

en el colon encontrándose en el 25,4% y 26,1% de las muestras de colon derecho e izquierdo respectivamente y tan solo en el 9,2% de las muestras de recto ( $X^2 = 9,68$ ; g.l. = 2;  $p = 0,008$ ). Para el resto de características anatomopatológicas estudiadas no se encontraron asociaciones significativas con la localización del tumor.

En cuanto a los biomarcadores, KRAS aparece mutado con menor frecuencia en recto que en colon si bien la diferencia no es significativa ( $X^2 = 0,98$ ; g.l. = 2;  $p = 0,612$ ). Mientras que el fenotipo MSI es menos frecuente en colon derecho y más frecuente en colon izquierdo y en recto, sin que la diferencia alcance significación estadística (Fisher Exact test = 3,20; g.l. = 2;  $p = 0,221$ ).

La tabla 3 recoge el análisis en función del grado de diferenciación. El tipo histológico y el grado de diferenciación mostraron una asociación estadísticamente significativa (Fisher Exact test = 37,28; g.l. = 4;  $p < 0,001$ ) con 23,1% de los tumores pobremente diferenciados y clasificados como adenocarcinomas mucinosos, mientras que este tipo histológico supone menos de 6% de los tumores bien o moderadamente diferenciados. No fue posible calcular OR para otros tipos histológicos al no haber ningún tumor bien diferenciado de dichos tipos. También hay asociación estadísticamente significativa entre el grado de diferenciación y el TNM ( $X^2 = 13,29$ ; g.l. = 6;  $p = 0,039$ ) con mayores porcentajes de estadios III y IV entre aquellos moderada y pobremente diferenciados. La aparición de invasión linfática ( $X^2 = 12,13$ ; g.l. = 2;  $p = 0,002$ ) y de invasión venosa ( $X^2 = 9,35$ ; g.l. = 2;  $p = 0,009$ ) se asociaron asimismo a los tumores pobremente diferenciados. No se ha encontrado asociación del grado de diferenciación con los márgenes de resección, con la invasión peritumoral y perineural, ni tampoco con los biomarcadores tumorales estudiados, KRAS y MSI.

## Discusión

En este trabajo se describen las características clínicas, anatomopatológicas y moleculares de pacientes diagnosticados de CCR en el ASL incluidos en el proyecto MCC-Spain y se analiza su relación con la localización y el tipo histológico del tumor.

Al tratarse de un estudio basado en una serie de casos, las asociaciones detectadas se encuentran sometidas a las limitaciones propias de este tipo estudio a la hora de establecer la causalidad en dichas asociaciones. Además la recogida de información a partir de las historias clínicas ha supuesto pérdidas que pueden introducir sesgos que limiten la validez de los resultados obtenidos, especialmente en el caso de los biomarcadores.

Como fortaleza podemos señalar el disponer de una muestra poblacional de más de 400 pacientes con una buena caracterización clínica y epidemiológica, similar a otros estudios<sup>12,17,18</sup>. Si tenemos en cuenta que los pacientes incluidos no representan con exactitud la distribución poblacional de la gravedad de la enfermedad, sino que sugieren que existe una infrarrepresentación de los casos con estadios más avanzados y una sobrerrepresentación de los más leves, la generalización de los resultados puede verse limitada. Sin embargo, el conocimiento de las características de las pérdidas en la captación permite limitar el efecto de dicho sesgo que es de prever que esté sesgando

**Tabla 2** Diferencias entre las características clínico-patológicas y moleculares en función de la localización tumoral. El valor de p, corresponde con la prueba de ji-cuadrado salvo en los indicados con \* en los que se realizó el análisis del test exacto de Fisher, al ser alguno de los valores esperados menor de 5. (En negrita p<0,05)

	Localización tumoral			Der vs. Izq	Der vs. Rec	p
	Colon derecho n (%)	Colon izquierdo n (%)	Recto N (%)	OR (IC95%)	OR (IC95%)	
<b>Sexo (N= 397)</b>						
Varones	65 (55,6)	84 (65,6)	109 (71,7)	1	1	<b>0,022</b>
Mujeres	52 (44,4)	44 (34,4)	43 (28,3)	0,65 (0,39-1,10)	0,49 (0,30-0,82)	
<b>Edad del paciente al diagnóstico (Años) (N=397)</b>						
>50 años	112 (95,7)	123 (96,1)	145 (95,4)	1	1	0,959
<50 años	5 (4,3)	5 (3,9)	7 (4,6)	0,91 (0,26-3,23)	1,08 (0,33-3,50)	
<b>pT (N= 367)</b>						
pT0/1/2	15 (13,8)	17 (14,2)	45 (32,6)	1	1	<b>&lt;0,001</b>
pT3	59 (54,1)	66 (55,0)	86 (62,3)	0,99 (0,45-2,15)	0,49 (0,15-0,95)	
pT4	35 (32,1)	37 (30,8)	7 (5,1)	0,93 (0,41-2,15)	0,07 (0,02-0,18)	
<b>pN (N= 375)</b>						
pN0	60 (54,6)	63 (52,5)	83 (59,7)	1	1	0,612
pN1	33 (30,0)	42 (35,0)	42 (30,2)	1,21 (0,68-2,16)	0,92 (0,52-1,62)	
pN2	17 (15,4)	15 (12,5)	14 (10,1)	0,84 (0,39-1,83)	0,60 (0,27-1,30)	
<b>Estadio TNM (N= 363)</b>						
Estadio I	11 (10,2)	13 (10,9)	34 (25,0)	1	1	<b>0,031</b>
Estadio II	46 (42,6)	48 (40,3)	46 (33,8)	0,88 (0,36-2,17)	0,32 (0,15-0,72)	
Estadio III	43 (39,8)	48 (40,3)	49 (36,0)	0,94 (0,38-2,33)	0,37 (0,17-0,82)	
Estadio IV	8 (7,4)	10 (8,4)	7 (5,1)	1,06 (0,31-3,61)	0,28 (0,08-0,96)	
<b>Tipo histológico (N= 389)</b>						
Adenocarcinoma	92 (79,3)	112 (89,6)	138 (93,2)	1	1	<b>0,003*</b>
Adenocarcinoma mucinoso	20 (17,2)	12 (9,6)	6 (4,1)	0,49 (0,23-1,06)	0,20 (0,08-0,52)	
Otros	4 (3,5)	1 (0,8)	4 (2,7)	0,21 (0,02-1,87)	0,67 (0,16-2,73)	
<b>Grado de diferenciación (N= 352)</b>						
Pobremente diferenciado	28 (28,6)	20 (17,7)	31 (25,6)	1	1	0,429
Moderadamente diferenciado	41 (41,8)	53 (46,9)	51 (42,1)	1,81 (0,90-3,65)	1,12 (0,58-2,16)	
Bien diferenciado	29 (29,6)	40 (35,4)	39 (32,2)	1,93 (0,92-4,08)	1,21 (0,60-2,45)	
<b>Márgenes de resección (N= 330)</b>						
Libres	68 (71,6)	70 (64,2)	78 (61,9)	1	1	0,309
Afectados	27 (28,4)	39 (35,8)	48 (38,1)	1,40 (0,78-2,54)	1,55 (0,87-2,75)	

Tabla 2 (continuación)

	Localización tumoral			Der vs. Izq	Der vs. Rec	p
	Colon derecho n (%)	Colon izquierdo n (%)	Recto N (%)	OR (IC95%)	OR (IC95%)	
<i>Invasión linfática (N= 335)</i>						
Ausente	51 (52,0)	69 (61,1)	81 (65,3)	1	1	0,129
Presente	47 (48,0)	44 (38,9)	43 (34,7)	0,69 (0,40-1,20)	0,58 (0,34-0,99)	
<i>Invasión venosa (N= 345)</i>						
Ausente	62 (62,0)	66 (58,4)	73 (55,3)	1	1	0,591
Presente	38 (38,0)	47 (41,6)	59 (44,7)	1,16 (0,67-2,01)	1,32 (0,78-2,24)	
<i>Invasión perineural (N= 349)</i>						
Ausente	66 (66,0)	74 (64,4)	81 (60,4)	1	1	0,658
Presente	34 (34,0)	41 (35,6)	53 (39,6)	1,08 (0,61-1,89)	1,27 (0,74-2,18)	
<i>Invasión peritumoral (N= 242)</i>						
Ausente	50 (74,6)	65 (73,9)	79 (90,8)	1	1	0,008
Presente	17 (25,4)	23 (26,1)	8 (9,2)	1,04 (0,50-2,15)	0,30 (0,12-0,74)	
<i>KRAS (N= 132)</i>						
Nativo	21 (53,8)	20 (55,6)	36 (63,2)	1	1	0,612
Mutado	18 (46,2)	16 (44,4)	21 (36,8)	0,93 (0,38-2,32)	0,68 (0,30-1,56)	
<i>Inestabilidad de microsatélites (N= 105)</i>						
MSS	33 (97,1)	20 (83,3)	42 (89,4)	1	1	0,221*
MSI	1 (2,9)	4 (16,7)	5 (10,6)	6,60 (0,69-63,29)	3,93 (0,44-35,27)	

**Tabla 3** Diferencias entre las características clínico-patológicas y moleculares en función del grado de diferenciación tumoral. El valor de p, corresponde con la prueba de ji-cuadrado salvo en los indicados con \* en los que se realizó el análisis del test exacto de Fisher, al ser alguno de los valores esperados menor de 5. (En negrita p < 0,05)

	Grado de diferenciación			Bien vs. Mod	Bien vs. Pob	p
	Bien diferenciado	Moderadamente diferenciado	Pobremente diferenciado	OR (IC95%)	OR (IC95%)	
	n (%)	n (%)	n (%)			
<b>Sexo (N = 334)</b>						
Varones	74 (67,3)	94 (64,8)	47 (59,5)	1	1	0,539
Mujeres	36 (32,7)	51 (35,2)	32 (40,5)	1,12 (0,66-1,89)	1,40 (0,77-2,55)	
<b>Edad del paciente al diagnóstico (Años) (N = 334)</b>						
>50 años	104 (94,5)	138 (95,2)	76 (96,2)	1	1	0,870
<50 años	6 (5,5)	7 (4,8)	3 (3,8)	0,88 (0,29-2,70)	0,68 (0,17-2,81)	
<b>Tipo histológico (N = 332)</b>						
Adenocarcinoma	104 (94,5)	140 (97,2)	58 (74,4)	1	1	<b>&lt;0,001*</b>
Adenocarcinoma mucinoso	6 (5,5)	2 (1,4)	18 (23,1)	0,25 (0,05-1,12)	5,38 (2,17-13,32)	
Otros	0	2 (1,4)	2 (2,5)	-	-	
<b>pT (N = 330)</b>						
pT0/1/2	27 (25,3)	29 (20,2)	11 (14,0)	1	1	0,245
pT3	62 (57,9)	84 (58,3)	46 (58,2)	1,26 (0,68-2,34)	1,82 (1,72-1,92)	
pT4	18 (16,8)	31 (21,5)	22 (27,8)	1,60 (0,73-3,51)	3,00 (2,81-3,21)	
<b>pN (N = 330)</b>						
pN0	73 (68,2)	73 (50,7)	39 (49,4)	1	1	<b>0,036</b>
pN1	27 (25,2)	52 (36,1)	28 (35,4)	1,93 (1,09-3,39)	1,94 (1,01-3,73)	
pN2	7 (6,6)	19 (13,2)	12 (15,2)	2,71 (1,10-6,70)	3,21 (1,21-8,54)	
<b>Estadio TNM (N = 327)</b>						
Estadio I	24 (22,6)	18 (12,7)	7 (8,9)	1	1	<b>0,039</b>
Estadio II	47 (44,4)	51 (35,9)	32 (40,5)	1,45 (0,70-3,00)	2,33 (0,91-6,00)	
Estadio III	30 (28,3)	61 (43,0)	35 (44,3)	2,71 (1,29-5,70)	4,00 (1,55-10,3)	
Estadio IV	5 (4,7)	12 (8,4)	5 (6,3)	3,20 (0,97-10,5)	3,43 (0,78-15,0)	
<b>Márgenes de resección (N = 299)</b>						
Libres	32 (32,3)	47 (35,3)	26 (38,8)	1	1	0,682
Afectados	67 (67,7)	86 (64,7)	41 (61,2)	1,14(0,66-1,99)	1,33(0,69-2,54)	
<b>Invasión linfática (N = 303)</b>						
Ausente	74 (74,8)	72 (53,7)	38 (54,3)	1	1	<b>0,002</b>
Presente	25 (25,2)	62 (46,3)	32 (45,7)	2,55(1,46-4,46)	2,49(1,30-4,76)	

Tabla 3 (continuación)

	Grado de diferenciación			Bien vs. Mod OR (IC95%)	Bien vs. Pob OR (IC95%)	p
	Bien diferenciado	Moderadamente diferenciado	Pobrementemente diferenciado			
	n (%)	n (%)	n (%)			
<i>Invasión venosa (N= 312)</i>						
Ausente	68 (68,7)	77 (55,4)	34 (46,0)	1	1	<b>0,009</b>
Presente	31 (31,3)	62 (44,6)	40 (54,0)	1,77 (1,03-3,03)	2,58 (1,39-4,79)	
<i>Invasión peritumoral (N= 224)</i>						
Ausente	64 (85,3)	80 (80,0)	34 (69,4)	1	1	0,098
Presente	11 (14,7)	20 (20,0)	15 (30,6)	1,45 (0,65-3,26)	2,57 (1,06-6,20)	
<i>Invasión perineural (N= 315)</i>						
Ausente	71 (69,6)	89 (64,0)	41 (55,4)	1	1	0,153
Presente	31 (30,4)	50 (36,0)	33 (44,6)	1,29(0,74-2,22)	1,84(0,99-3,43)	
<i>KRAS (N= 107)</i>						
Nativo	20 (57,1)	25 (56,8)	18 (64,3)	1	1	0,795
Mutado	15 (42,9)	19 (43,2)	10 (35,7)	1,01 (0,41-2,50)	0,74 (0,26-2,07)	
<i>Inestabilidad de microsatélites (N= 86)</i>						
MSS	28 (90,3)	30 (88,2)	20 (95,2)	1	1	0,808*
MSI	3 (9,7)	4 (11,8)	1 (4,8)	1,24 (0,25-6,12)	0,47 (0,05-4,71)	

hacia la hipótesis nula las asociaciones respecto al TNM al reducir el número de los casos más graves.

En cuanto a la edad de los casos, su rango y media es similar en hombres y mujeres (70,6 vs. 70,2), y coincide con otros estudios de este mismo tipo, en los que la media se sitúa en torno a unos 70 años, si bien el rango varía en función de los diferentes criterios de inclusión empleados en la selección de la población estudiada<sup>18-20</sup>. La diferente proporción de casos en función del sexo antes y después de los 50 años observada en este trabajo ha sido ya descrita en publicaciones que hallaban riesgos relativos próximos a 1 por debajo de dicha edad y a 1,5 por encima<sup>21,22</sup>. Entre las razones que podrían explicar estas diferencias se han propuesto varias vías tanto hormonales como derivadas de los estilos de vida<sup>21,23</sup>.

La distribución diferencial por sexos de la localización tumoral, con una mayor frecuencia del colon derecho en mujeres y del recto en hombres, es congruente con lo descrito por otros autores<sup>14,22,24</sup>, que señalan como posibles causas, diferencias embriológicas y de receptores hormonales, pero que también podrían atribuirse a una menor intensidad en el empleo de las colonoscopias en mujeres<sup>24</sup>.

Por su parte, la presencia de estadios TNM más avanzados en colon que en recto concuerda con los hallazgos de Hemminki *et al.*<sup>6</sup> a la vez que el descenso en el tamaño y en la extensión tumoral (pT) encontrados desde posiciones proximales a distales coinciden con datos publicados<sup>6,25</sup>. Esta diferencia por localización en tamaño y estadio es atribuible en parte a la biología y embriología diferente<sup>24</sup>, pero también a la mayor dificultad de detección precoz en zonas más proximales, lo que resalta la importancia de completar adecuadamente las colonoscopias hasta el ciego<sup>6,24</sup>. Los tumores estudiados son más pequeños que los descritos en trabajos con muestras de los años 1990, pero similares a los que emplean muestras más recientes<sup>25</sup>, lo que concordaría con la mejora en la detección y diagnóstico.

La frecuencia de adenocarcinomas mucinosos concuerda con la bibliografía existente en la que se sitúan entre 5 y 15%<sup>19</sup>. Asimismo, la mayor frecuencia de tumores mucinosos en colon derecho que en zonas distales concuerda con diversos estudios<sup>14,18,26,27</sup> pero no con todos<sup>28</sup>. Para el grado de diferenciación, diversos trabajos muestran una mayor proporción de tumores pobremente diferenciados en las zonas proximales<sup>25,26,28</sup>, algo similar a lo visto en nuestro estudio. La mayor frecuencia entre los adenocarcinomas mucinosos de una pobre diferenciación es consistente con trabajos previos<sup>18,19</sup>, lo que parece asociarse a un leve empeoramiento del pronóstico, incluso cuando se ajusta por el estadio en el momento de diagnóstico<sup>27</sup>.

La mayor presencia observada de invasión venosa y linfática en los tumores pobremente diferenciados ha sido muy poco referida en la bibliografía analizada, si bien un estudio de cohortes retrospectivas en cáncer de recto sí observó asociación entre grado de diferenciación e invasión linfovascular<sup>8,29</sup>. Las razones de esta asociación no están claras, y dado el papel pronóstico de estas variables<sup>8</sup>, sería conveniente profundizar en su análisis ante las posibles implicaciones clínicas que puede tener.

En cuanto a los marcadores genéticos, KRAS aparece mutado en torno a 42% de las muestras, por debajo de lo descrito por Yamauchi *et al.*<sup>26</sup>, que encuentra valores de 45-50% pero por encima de otros autores que detectan

valores próximos a 30%<sup>9,30</sup>. El porcentaje de muestras tumorales que presentan inestabilidad de microsatélites (MSI) fue similar al señalado por otros autores<sup>9,31</sup> en torno a 10-15%. Si bien existe evidencia previa de que tanto MSI como la mutación de KRAS son más frecuentes en zonas proximales<sup>18,32</sup>, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas. Esto podría venir marcado por un sesgo en la selección de los casos de quienes se tiene datos de estas pruebas y que son aquellos para los que siguiendo la rutina y el protocolo del CAULE tiene interés su determinación y que suelen ser casos en estadios avanzados o asociados a tipos tumorales característicos<sup>9-11</sup>.

Los resultados obtenidos, concordantes en general con lo descrito por otros autores, plantean una diferente distribución del estadio por localización que refuerza la necesidad de mejorar la detección precoz a través de colonoscopias realizadas adecuadamente hasta el ciego, especialmente en las mujeres. Además se ha detectado una asociación entre la invasión venosa y linfática con el grado de diferenciación, que ha sido poco estudiada y debe ser analizada con más profundidad para mejorar el conocimiento de la etiopatogenia tumoral y su influencia en el pronóstico. Finalmente, la información de los marcadores moleculares analizados que se recoge de rutina es parcial y sesgada por los criterios clínicos seguidos, impidiendo un análisis adecuado de su relación con las demás variables, lo que plantea el interés de generalizar los análisis moleculares con fines investigativos como una inversión para lograr mejoras en el conocimiento y la predicción clínica.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

## Financiación

Este artículo ha sido posible gracias a los proyectos del Instituto de Salud Carlos III FIS PI08/1770 y FIS PS09/01286, y de la Junta de Castilla y León (LE022A10-2).

## Conflicto de intereses

No hay conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. International Agency for Research on Cancer. World Cancer Report 2008. Lyon: IARC; 2008.

2. López-Abente G, Ardanaz E, Torrella-Ramos A, Mateos A, Delgado-Sanz C, Chirlaque MD, et al. Changes in colorectal cancer incidence and mortality trends in Spain. *Ann Oncol*. 2010;21 Suppl 3:iii76–82.
3. Naveiro JC, Peral A, Díez AE, González FA, Burón JL. Incidencia y riesgo de cáncer en el área sanitaria de León. *Oncología*. 2001;24:21–8.
4. Martín Sánchez V, Muínelo Voces MI, Jorquera Plaza F, Molina De La Torre AJ, De Abajo Olea S, Tamames Gómez S, et al. Tendencia y distribución municipal de la incidencia de cáncer colorrectal en el área de salud de León (1994-2008). *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35(5):299–308.
5. Chauvenet M, Cottet V, Lepage C, Jooste V, Faivre J, Bouvier AM. Trends in colorectal cancer incidence: a period and birth-cohort analysis in a well-defined French population. *BMC Cancer*. 2011;11:282.
6. Hemminki K, Santi I, Weires M, Thomsen H, Sundquist J, Bermejo JL. Tumor location and patient characteristics of colon and rectal adenocarcinomas in relation to survival and TNM classes. *BMC Cancer*. 2010;10:688.
7. Kaemmerer E, Klaus C, Jeon MK, Gassler N. Molecular classification of colorectal carcinomas: the genotype-to-phenotype relation. *World J Gastroenterol*. 2013;19(45):8163–7.
8. Sobin LH. TNM: evolution and relation to other prognostic factors. *Semin Surg Oncol*. 2003;21(1):3–7.
9. Carmona FJ, Esteller M. Epigenomics of human colon cancer. *Mutat Res*. 2010;693:53–60.
10. Perea J, Lomas M, Hidalgo M. Molecular basis of colorectal cancer: towards an individualized management? *Rev Esp Enferm Dig*. 2011;103(1):29–35.
11. AJCC: Colon and rectum. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, editors. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer; 2010. p. 143–64.
12. Minoo P, Zlobec I, Peterson M, Terracciano L, Lugli A. Characterization of rectal, proximal and distal colon cancers based on clinicopathological, molecular and protein profiles. *Int J Oncol*. 2010;37(3):707–18.
13. Ogino S, Chan AT, Fuchs CS, Giovannucci E. Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field. *Gut*. 2011;60(3):397–411.
14. Caldarella A, Crocetti E, Messerini L, Paci E. Trends in colorectal incidence by anatomic subsite from 1985 to 2005: a population-based study. *Int J Colorectal Dis*. 2013;28(5):637–41.
15. Thelwell N, Millington S, Solinas A, Booth J, Brown T. Mode of action and application of Scorpion primers to mutation detection. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(19):3752–61.
16. Whitcombe D, Theaker J, Guy SP, Brown T, Little S. Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. *Nat Biotechnol*. 1999;17(8):804–7.
17. Zlobec I, Baker K, Minoo P, Hayashi S, Terracciano L, Lugli A. Tumor border configuration added to TNM staging better stratifies stage II colorectal cancer patients into prognostic subgroups. *Cancer*. 2009;115(17):4021–9.
18. Krzystek-Korpacka M, Diakowska D, Grabowski K, Gamian A. Tumor location determines midline level and its association with the disease progression in colorectal cancer patients: a pilot study. *Int J Colorectal Dis*. 2012;27(10):1319–24.
19. Zlobec I, Bihl M, Schwarb H, Terracciano L, Lugli A. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J Cancer*. 2010;127(2):367–80.
20. Song W, Wu SJ, He YL, Cai SR, Zhang CH, Zhang XH, et al. Clinicopathological features and survival of patients with colorectal mucinous, signet-ring cell or non-mucinous adenocarcinoma: experience at an institution in southern China. *Chin Med*. 2009;122(13):1486–91.
21. Purim O, Gordon N, Brenner B. Cancer of the colon and rectum: potential effects of sex-age interactions on incidence and outcome. *Med Sci Monit*. 2013;19:203–9.
22. Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, Haug U. Gender differences in colorectal cancer: implications for age at initiation of screening. *Br J Cancer*. 2007;96(5):828–31.
23. Jacobs ET, Thompson PA, Martinez ME. Diet, gender, and colorectal neoplasia. *J Clin Gastroenterol*. 2007;41(8):731–46.
24. Koo JH, Leong RW. Sex differences in epidemiological, clinical and pathological characteristics of colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(1):33–42.
25. Chiang JM, Yeh CY, Changchien CR, Chen JS, Tang R, Chen JR. Mucinous adenocarcinoma showing different clinicopathological features and molecular characteristics in relation to different colorectal cancer subgroups. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25(8):941–7.
26. Yamauchi M, Morikawa T, Kuchiba A, Imamura Y, Qian ZR, Nishihara R, et al. Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum. *Gut*. 2012;61(6):847–54.
27. Verhulst J, Ferdinande L, Demetter P, Ceelen W. Mucinous subtype as prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Pathol*. 2012;65(5):381–8.
28. Derwinger K, Gustavsson B. A study of aspects on gender and prognosis in synchronous colorectal cancer. *Clin Med Insights Oncol*. 2011;5:259–64.
29. Du CZ, Xue WC, Cai Y, Li M, Gu J. Lymphovascular invasion in rectal cancer following neoadjuvant radiotherapy: a retrospective cohort study. *World J Gastroenterol*. 2009;15(30):3793–8.
30. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates J, Dix BR, Iacopetta BJ, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer*. 2001;85(5):692–6.
31. Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, et al. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology*. 2007;133(1):48–56.
32. Stattery ML, Curtin K, Wolff RK, Boucher KM, Sweeney C, Edwards S, et al. A comparison of colon and rectal somatic DNA alterations. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(7):1304–11.