

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA

**SIGNIFICADO PRONÓSTICO DE LAS
LESIONES HISTOPATOLÓGICAS Y DE LA
EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE
MARCADORES DE APOPTOSIS,
PROLIFERACIÓN Y ANGIOGÉNESIS EN EL
CÁNCER DE RECTO AVANZADO Y TRATADO
CON NEOADYUVANCIA**

Memoria presentada por el licenciado en
Medicina y Cirugía y Especialista en Anatomía
Patológica **Diego Miguel Soriano Mena** para
optar al grado de Doctor.

D. Antonio Llombart Bosch, Catedrático de Anatomía Patológica, Histología y Embriología General. Profesor Emérito de la Universidad de Valencia

D. Samuel Navarro Fos, Profesor titular de Anatomía Patológica en la Facultat de Medicina de la Universitat de Valencia y Jefe de Sección de Anatomía Patológica en el Hospital Clínic Universitari de València.

CERTIFICAN: Que la presente tesis doctoral “Significado pronóstico de las lesiones histopatológicas y de la expresión inmunohistoquímica de marcadores de apoptosis, proliferación y angiogénesis en el cáncer rectal avanzado y tratado con neoadyuvancia” ha sido realizada en el Departamento de Patología por el licenciado en Medicina y Cirugía por Diego Miguel Soriano Mena para optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, firman la presente en Valencia, Mayo de 2008

Fdo. : Prof. Dr. D Antonio Llombart Bosch

Fdo. :Dr D. Samuel Navarro Fos

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. D. Antonio Llombart Bosch por su confianza y sabios consejos en el inicio y desarrollo de este trabajo, por el interés demostrado en mi formación como patólogo a lo largo de mi residencia, donde aparte de los distintos conocimientos adquiridos, he admirado e intentado aprender la importancia de la rigurosidad, la seriedad, la constancia y sobretodo su entrega y pasión hacía todo lo que hace.

Al Prof. Samuel Navarro Fos por su inestimable ayuda y siempre eficientes consejos, por la virtud de hacer fácil lo que al principio parecía difícil y sobre todo por su amistad, sabiduría, seriedad en el trabajo, y por haber estado en todo momento disponible ante cualquier situación adversa.

De manera muy especial quería agradecer a Laura Martínez su ayuda totalmente desinteresada y de gran trascendencia en mi formación sobre la utilización de las Matrices Tisulares y sobre todo por su colaboración y ayuda en las distintas técnicas de laboratorio utilizadas a lo largo de la tesis.

A Alejo Sempere por su aliento y consejos en el capítulo técnico de este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio de Anatomía Patológica de Requena; Amparo Giménez, María Cañizares y María Pérez-Salas, que siempre han aportado su apoyo y ayuda técnica ante los distintos obstáculos que surgían.

Al Dr. Jose Martín que en los difíciles inicios de este trabajo demostró un gran interés por el tema tratado y me aportó una gran cantidad de información sobre las últimas actualizaciones de la neoadyuvancia y el carcinoma rectal.

Al Prof. Ivan Arribas por su valiosa ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

A mis padres por darme siempre los mejores consejos y valores necesarios para desarrollarme profesional y personalmente.

Por último un muy especial agradecimiento a Cristina Tomás por sus ánimos, paciencia y sobre todo por hacerse cargo de la mayor parte de las obligaciones familiares para que pudiera tener el tiempo necesario para el desarrollo y finalización de esta tesis.

A Cristina

ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLOGRÁFICA	7
2.1 CONCEPTO.....	9
2.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	10
2.3 ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO.....	25
2.4 CLÍNICA.....	35
2.5 DIAGNÓSTICO.....	36
2.6 VALORACIÓN DIAGNÓSTICA/ESTADIAJE PREQUIRÚRGICO DEL CARCINOMA RECTAL.....	40
2.6.1 ECOGRAFÍA RECTAL ENDOANAL.....	40
2.6.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	43
2.6.3 LIMITACIONES DE LAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DE ESTADIAJE EN EL CARCINOMA RECTAL SOMETIDO A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	45
2.7 TRATAMIENTO NEOADYUVANTE DEL CARCINOMA RECTAL.....	45
2.7.1 RADIOTERAPIA.....	46
2.7.2 DOSIS DE RADIOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	49
EFECTOS ADVERSOS DE LA RADIOTERAPIA PREQUIRÚRGICA.....	49
2.8 TRATAMIENTO DEL CARCINOMA RECTAL.....	50
2.8.1 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.....	50
2.8.2 TOTAL ESCISIÓN MESORRECTAL: IMPORTANCIA DEL MARGEN DE RESECCIÓN CIRCUNFERENCIAL.....	52

2.8.3	RADIOTERAPIA.....	53
2.8.4	QUIMIOTERAPIA.....	56
2.8.5	INMUNOTERAPIA.....	58
2.8.6	ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO.....	59
2.9	ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL CARCINOMA RECTAL.....	67
2.9.1	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS.....	67
2.9.2	HISTOPATOLOGÍA.....	67
2.10	ESTADIAJE DEL CARCINOMA RECTAL.....	73
2.11	PRONÓSTICO DEL CARCINOMA DE RECTO.....	73
2.12	GENÉTICA DEL CARCINOMA COLORRECTAL.....	82
2.13	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS CON SIGNIFICADO PRONÓSTICO ASOCIADAS A CARCINOMAS RECTALES DIAGNOSTICADOS EN ESTADIOS AVANZADOS Y SOMETIDOS A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	84
2.13.1	ALTERACIONES ESTROMALES E INFILTRADO INFLAMATORIO	
2.13.2	MODIFICACIONES EN LA CÉLULARIDAD NEOPLÁSICA.....	86
2.13.3	MODIFICACIONES DE LA MUCOSA ADYACENTE.....	87
2.14	FENÓMENOS MOLECULARES DETECTADOS MEDIANTE ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO CON “POSIBLE” IMPORTANCIA PRONÓSTICA EN PACIENTES CON CARCINOMAS RECTALES EN ESTADIOS AVANZADOS Y SOMETIDOS A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	90
2.14.1	APOPTOSIS.....	90
2.14.2	ANGIOGÉNESIS.....	102
2.14.3	TIMIDILATO SINTETASA.....	114

2.14.4 DIFERENCIACIÓN NEUROENDOCRINA.....	117
2.14.5 ACTIVIDAD PROLIFERATIVA	119
2.14.5.1 Ki 67 (MIB-1)	119
2.14.5.2 TOPOISOMERASA 2 α	122
2.15 MATRICES TISULARES.....	122
3. MATERIAL Y METODOS.....	127
3.1 MATERIAL.....	129
3.2 MÉTODO EMPLEADO EN EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.....	129
3.3 MATERIAL Y MÉTODO EMPLEADO EN EL ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO MEDIANTE MATRICES TISULARES.....	134
3.4 METODOLOGÍA DEL ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	142
4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	145
4.1 RESULTADOS.....	147
4.1.1 DATOS CLÍNICOS.....	147
4.1.2 CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS.....	151
4.1.3 ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.....	161
4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	177
4.2.1 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS.....	177
4.2.1.1 DESCRIPTIVA.....	177
4.2.1.2 RELACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS CON LA EVOLUCIÓN.....	178
4.2.1.3 RELACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS CON EL GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK.....	180

4.2.1.4	RELACIÓN ENTRE UT Y UN.....	182
4.2.1.5	CONCORDANCIA ENTRE UT Y PT; UN Y PN.....	183
4.2.2	ANÁLISIS DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS.....	184
4.2.2.1	DESCRIPTIVA.....	184
4.2.2.2	RELACIÓN DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS CON LA EVOLUCIÓN.....	187
4.2.2.3	RELACIÓN DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS CON EL GRADO DE REGRESIÓN TUMORAL DE DWORAK.....	192
4.2.3	ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS.....	198
4.2.3.1	CONCORDANCIA ENTRE EVALUADORES.....	198
4.2.3.2	VARIACIÓN DEL MARCADOR ENTRE LA VALORACIÓN EN MUESTRA ENDOSCÓPICA Y MUESTRA EN PIEZA QUIRÚRGICA.....	203
4.2.3.3	RELACIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS CON LA EVOLUCIÓN....	205
4.2.3.4	RELACIÓN DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS CON EL GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK.....	210
4.2.4	ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	214
4.2.5	ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....	217
4.2.5.1	CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE KAPLAN- MEIER.....	217

5. DISCUSIÓN	229
5.1 DISCUSIÓN.....	231
5.1.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.....	231
5.1.2 VARIABLES CLÍNICAS Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	232
5.1.3 RELACIONES CON EL ESTADIAJE ENTRE LOS ESTUDIOS POR IMAGEN ECOGRÁFICO E HISTOPATOLÓGICO.....	232
5.1.4 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS Y EVOLUCIÓN.....	233
5.1.5 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE (GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK).....	234
5.1.6 NIVEL DE CONCORDANCIA ENTRE DOS OBSERVADORES EN LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.....	235
5.1.7 RESULTADO INMUNOHISTOQUÍMICO ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	236
5.1.8 ASOCIACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LOS DISTINTOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	237
5.1.9 MATRICES TISULARES.....	240
6. CONCLUSIONES	243
7. ICONOGRAFÍA	249
8. BIBLIOGRAFÍA	275

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El carcinoma rectal es una lesión neoplásica maligna de naturaleza epitelial que tiene un grado de agresividad variable, reflejada por una capacidad de infiltración progresiva a nivel local y por una capacidad metastatizante sobre órganos a distancia. Se trata de una neoplasia de características heterogéneas, que en pacientes diagnosticados en un mismo estadio evolutivo presenta diferente pronóstico y una variable respuesta a los distintos tratamientos propuestos.

El adenocarcinoma de recto que se diagnostica en estadios avanzados T3, T4 con metástasis ganglionares, clásicamente era tratado con resección quirúrgica seguido de radioterapia asociado a quimioterapia (5 Fluoracilo).

En los últimos años se han producido importantes cambios en la actitud terapéutica frente a los carcinomas rectales diagnosticados en estadios evolutivos avanzados. En la actualidad se realiza radioterapia, con o sin quimioterapia asociada, 5 semanas antes de la intervención quirúrgica, aunque se están actualizando los diferentes protocolos terapéuticos dentro de los ensayos clínicos que se encuentran en distintas fases de estudio. Estudios epidemiológicos retrospectivos han demostrado que un alto porcentaje de pacientes se benefician de una menor toxicidad al tratamiento junto con un mayor beneficio en el pronóstico debido a una reducción e incluso en algunos casos reabsorción de la masa tumoral.

La realización de radioterapia previa, con o sin quimioterapia asociada, modifica las características macroscópicas e histológicas de la lesión neoplásica, las cuales son objeto de este trabajo en lo que respecta a un cambio en el pronóstico y en la evolución de la enfermedad.

Las características histopatológicas que presentan las lesiones neoplásicas de recto sometidas a tratamiento neoadyuvante no han sido extensamente estudiadas y los resultados obtenidos hasta la fecha son contradictorios, o en su mayor parte, carecen de significación estadística.

El estudio inmunohistoquímico con marcadores de apoptosis, proliferación y angiogénesis también se ha asociado con la evolución, respuesta al tratamiento quimioterápico con 5 Fluoracilo y pronóstico de la enfermedad. Tampoco sus resultados han sido hasta la fecha relacionados con las respuestas histológicas expresadas mediante una clasificación en categorías, donde se destaca el grado de respuesta tumoral frente al tratamiento neoadyuvante. En esto último está basado el grado de regresión tumoral de Dworak, que establece cuatro categorías en función de la respuesta tumoral frente al tratamiento neoadyuvante, basado en radioterapia con o sin quimioterapia asociada: Grado 1: no se aprecian modificaciones de la

masa tumoral. Grado 2: escasas a moderadas modificaciones en la cantidad de tumor junto con cambios histopatológicos consecuencia del tratamiento neoadyuvante. Grado 3: persistencia de aislados y escasos focos microscópicos de tumor junto con un predominio de los cambios estromales y glandulares consecuencia del tratamiento neoadyuvante. Grado 4. No se identifica la presencia de celularidad neoplásica representando un grado de regresión tumoral total.

En el desarrollo de este trabajo buscamos confirmar una hipótesis que hasta la fecha mantiene cierta controversia entre los distintos autores. Dicha hipótesis trata de la importancia de los factores clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos, estudiados en la muestra endoscópica y en la pieza quirúrgica (tratada mediante neoadyuvancia), en una probable (estudio de endoscopia) o demostrada (análisis de pieza quirúrgica) intensidad de respuesta al tratamiento neoadyuvante sobre pacientes con carcinomas rectales en estadios avanzados. También buscamos analizar de como la radioterapia y quimioterapia prequirúrgica (tratamiento neoadyuvante) influyen en el valor predictivo pronóstico. De esta forma podríamos aportar la posibilidad de seleccionar a aquellos enfermos que van a responder mejor o peor a la terapia neoadyuvante en base a criterios clínicos, morfológicos y de expresión inmunofenotípica que deberían ser incluidos en los distintos protocolos o informes histopatológicos.

OBJETIVOS:

El siguiente trabajo se puede dividir en cinco apartados.

1. Realizar una revisión bibliográfica donde se pretende seguir la secuencia en el tiempo de las distintas características: epidemiológicas, clínicas, diagnósticas y de tratamiento. Primero de una forma más genérica del carcinoma colorrectal y después delimitando el campo de estudio al carcinoma rectal objeto de este estudio, e intentando resaltar todos los aspectos asociados al diagnóstico prequirúrgico basado en la ecografía rectal endoanal o Resonancia Magnética y el tratamiento neoadyuvante con radioterapia y quimioterapia al que son sometidos los enfermos de carcinoma rectal en estadios evolutivos avanzados (T3,T4 o N1-2)
2. Efectuar una revisión retrospectiva de las historias clínicas de 59 casos de carcinomas rectales con análisis de un conjunto de datos clínicos con el objetivo de establecer una asociación estadísticamente significativa con el grado de regresión tumoral según Dworak y con el pronóstico del paciente. Los datos clínicos son: edad, sexo, antecedentes personales o familiares, localización o segmento rectal afecto, estadiaje prequirúrgico (uTN) y estadiaje postquirúrgico (pTN).

3. Efectuar un estudio histopatológico retrospectivo de 59 casos distintos de carcinoma rectal, primero sobre las muestras endoscópicas sobre las que inicialmente se realiza el diagnóstico de la lesión neoplásica y después sobre las muestras correspondientes a la pieza quirúrgica que previamente han sido sometidas a un tratamiento neoadyuvante basado en quimioterapia y radioterapia asociada. En esta sección se analizan sobre las muestras quirúrgicas una serie de características o modificaciones histopatológicas que son consecuencia del tratamiento neoadyuvante y cuyo objetivo principal es establecer una asociación estadísticamente significativa con el grado de regresión tumoral de Dworak y con el pronóstico del paciente.

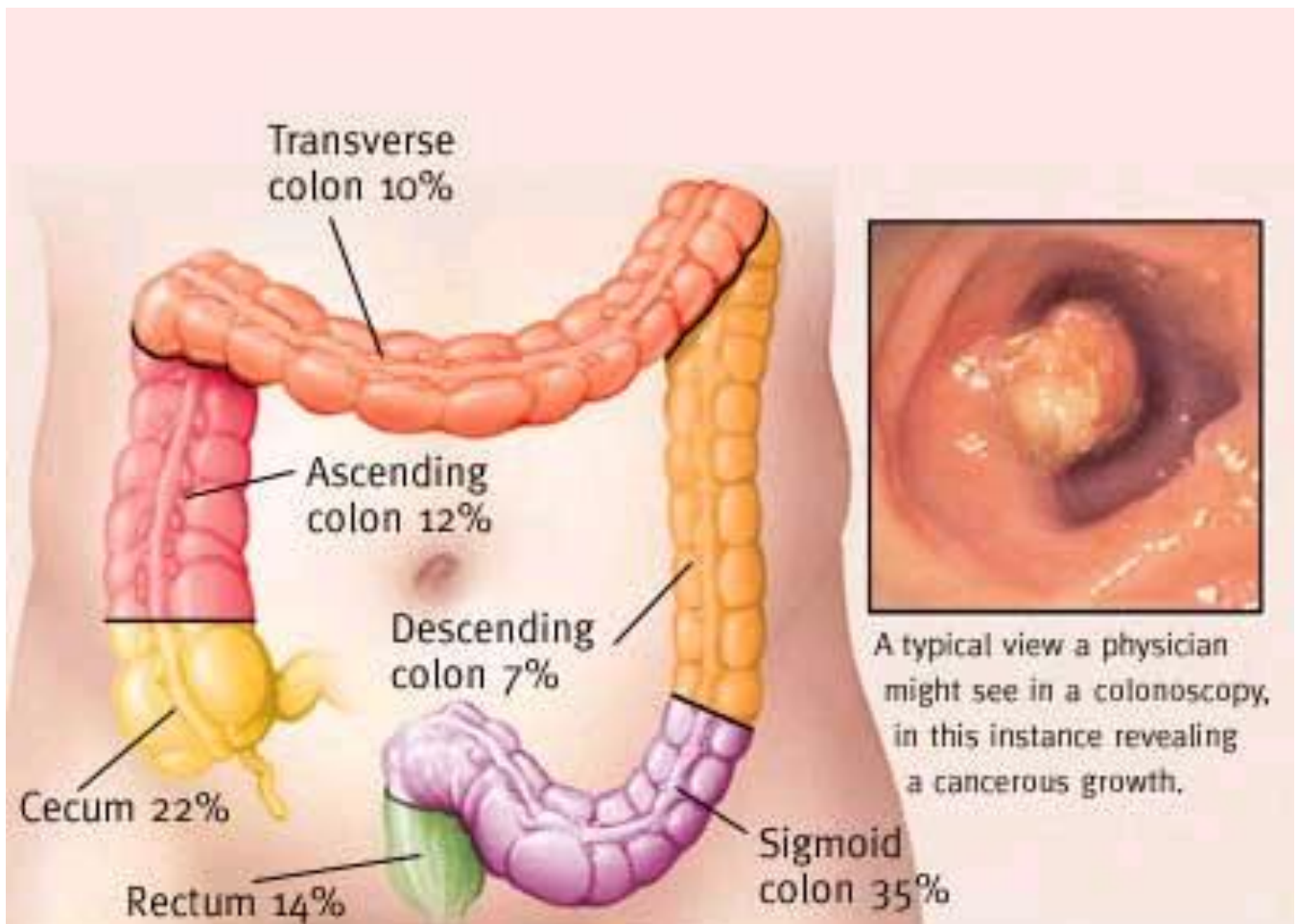
Las características morfológicas analizables se agrupan en las alteraciones a nivel celular (mitosis, diferenciación neuroendocrina, presencia o ausencia de lagos de mucina y pleomorfismo nuclear), modificaciones a nivel estromal (cantidad de eosinófilos, infiltrado inflamatorio linfoide y fibrosis desmoplásica) y cambios en la mucosa adyacente (presencia o ausencia de ulceración)

4. Utilizar la técnica de las matrices tisulares comparando en un estudio inmunohistoquímico sobre las muestras endoscópicas inicialmente utilizadas en el diagnóstico de la lesión y sobre las muestras de las piezas quirúrgicas ya sometidas a tratamiento neoadyuvante.
5. Determinar distintos marcadores inmunohistoquímicos con el objetivo de observar los cambios que sufre la lesión neoplásica antes y después del tratamiento neoadyuvante en lo que respecta a la angiogénesis, proliferación, apoptosis y diferenciación neuroendocrina. La interpretación de los distintos anticuerpos se hace en base a criterios de intensidad y porcentaje de células teñidas tras lo que se pretende establecer asociaciones estadísticas con el grado de regresión de Dworak, el pronóstico y los cambios de expresión antes y después del tratamiento.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1- CONCEPTO

Según la organización mundial de la salud (O.M.S.) el carcinoma colorrectal se define como un tumor epitelial de carácter maligno que penetra o infiltra a través de la muscularis mucosae [1].



Los carcinomas del intestino grueso se localizan el 50% en la región recto-sigmoidea mientras que el otro 50% se localiza en ciego (22%), colon ascendente (12%), colon transverso (10%) y colon descendente (7%).

2.2- EPIDEMIOLOGÍA

INTRODUCCIÓN

La clasificación anatómo-epidemiológica del cáncer colorrectal se lleva a cabo mediante la clasificación Internacional de Enfermedades de la OMS 9ª Revisión (CIE 9), y que referida a la topografía de los tumores incluye el código 153 para el cáncer de colon y el 154 para el cáncer de recto, sigma y ano.

INCIDENCIA

Las lesiones neoplásicas localizadas en colon y recto son las segundas neoplasias más frecuentes tanto en hombres como en mujeres[2], aunque la incidencia en el sexo masculino es el doble que en el sexo femenino [3].

En Europa se diagnostican 138.000 nuevos casos cada año y representa entre el 5% y 15% de todos los tumores malignos en adultos[2-4].

La incidencia del carcinoma colorrectal varía ampliamente a lo largo de distintas zonas geográficas del mundo. (Tabla 2.1)

En países pertenecientes a Asia, Centro América, Sur América y África es una neoplasia de menor incidencia, mientras que en países pertenecientes a Europa, Oceanía y Norte América representa una neoplasia frecuente [3]. La incidencia del carcinoma colorrectal en Europa varía desde 49,4 por 100.000 habitantes de sexo masculino en Trieste (Italia) a 16,4 por 100.000 habitantes de sexo masculino en Kielce (Polonia) y de 16,4 por 100.000 mujeres en Saarland (Alemania) a 10,3 por 100.000 mujeres en Kielce [4]. Asimismo, entre los descendientes de inmigrantes en estos países, la incidencia se iguala a la propia del país por lo que se piensa que el factor ambiental es fundamental en su aparición.

En el año 2002 se registraron un total de 1.023.152 casos nuevos de cáncer colorrectal en todo el mundo(550.465 en hombres y 472.687 en mujeres) lo que representa el 9,5% de todos los cánceres[5].

En el año 2006 en Europa el número total de casos de cáncer incidentes estimados de cualquier localización fue de 3.191.600, de los cuales el 12,9% correspondieron al cáncer colorrectal [6].

En España se registraron en el año 1997 19.166 casos nuevos de cáncer colorrectal con una tasa bruta de 58,9 por 100.000 en hombres y 46,59 por 100.000 en mujeres[2, 3]

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los nuevos casos de cáncer colorrectal se recogen en los registros de cáncer. En el periodo 1988-1992 la incidencia disponible en los registros de cáncer españoles nos indica notables variaciones en las tasas ajustadas por edad, por áreas geográficas y por sexos [3].

En el año 2002 en España fueron registrados 22.964 casos, de los cuales 12.418 se presentaron en hombres y 9.456 en mujeres[5].

Respecto al resto de países europeos, España se encuentra en una posición por debajo de la media europea con una tasa ajustada por edad de 35,54 por 100.000 en hombres y 16,46 por 100.000 en mujeres. Salvo Finlandia, Grecia y Suecia, el resto de países presentan mayor incidencia que España.

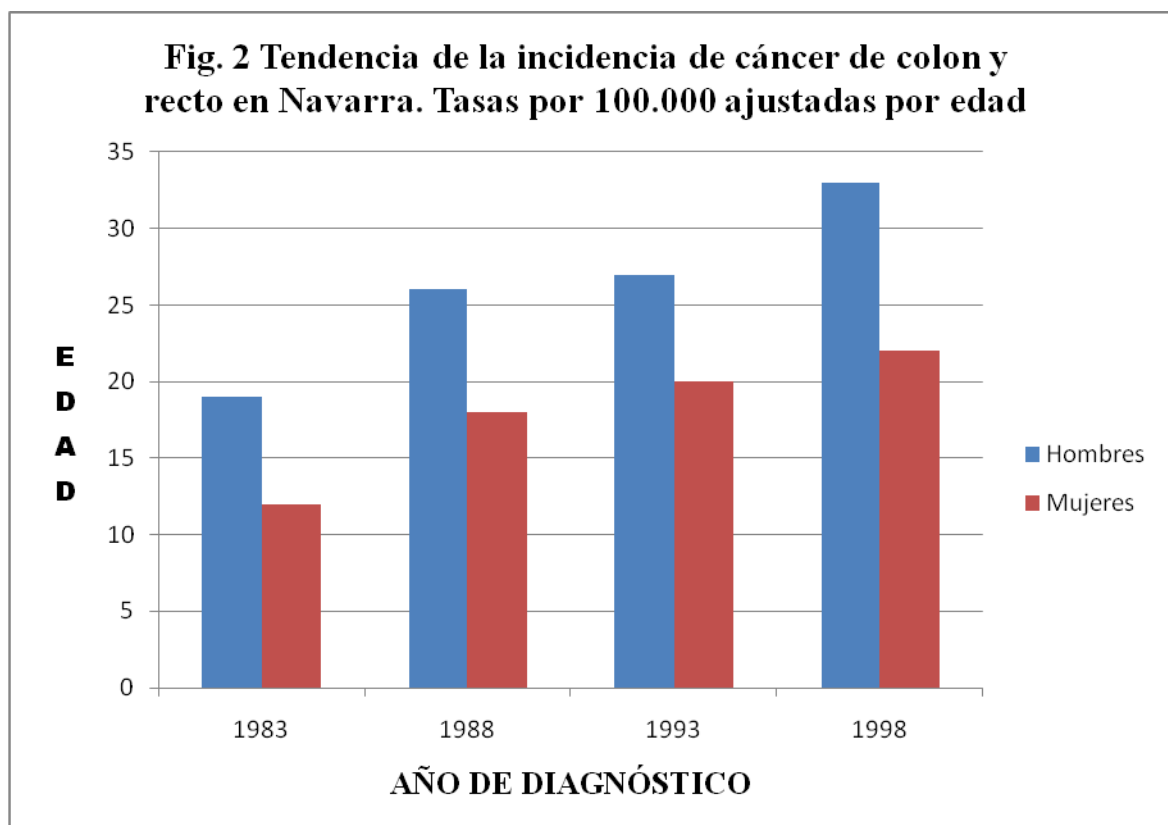
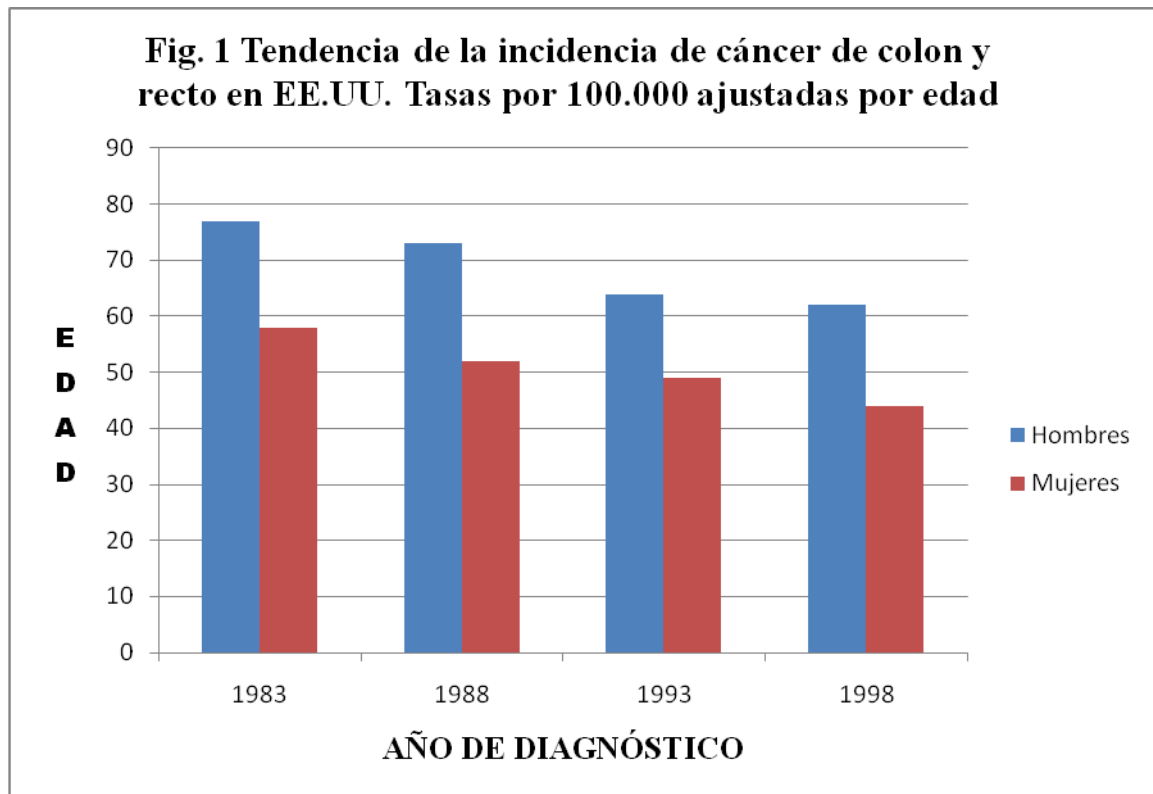
Las tasas mundiales de incidencia ajustadas por edad más elevadas corresponden a Detroit (E.E.U.U) en hombres (blancos 46,5 por 100.000 y negros 48,3 por 100.000) y en mujeres (blancas 30,1 y negras 36,6 por 100.000). La menor incidencia corresponde a los países africanos y a la India.

La edad constituye un marcador de riesgo a partir de los 50 años, incrementándose cada década entre 1,5 y 2 veces. El 92,5 % de los casos se diagnostican por encima de los 50 años de edad y el 78% de registran antes de los 80 años de edad [7].

Se observa una tendencia temporal de incremento de la incidencia de cáncer de colon y recto. En Navarra, en el período de observación de 1973 a 1997, alcanzó este incremento un porcentaje de cambio del 93,2% en los hombres y del 53,3% en las mujeres lo que significa un incremento de un 3% anual en el período ($p < 0,01$) [7].

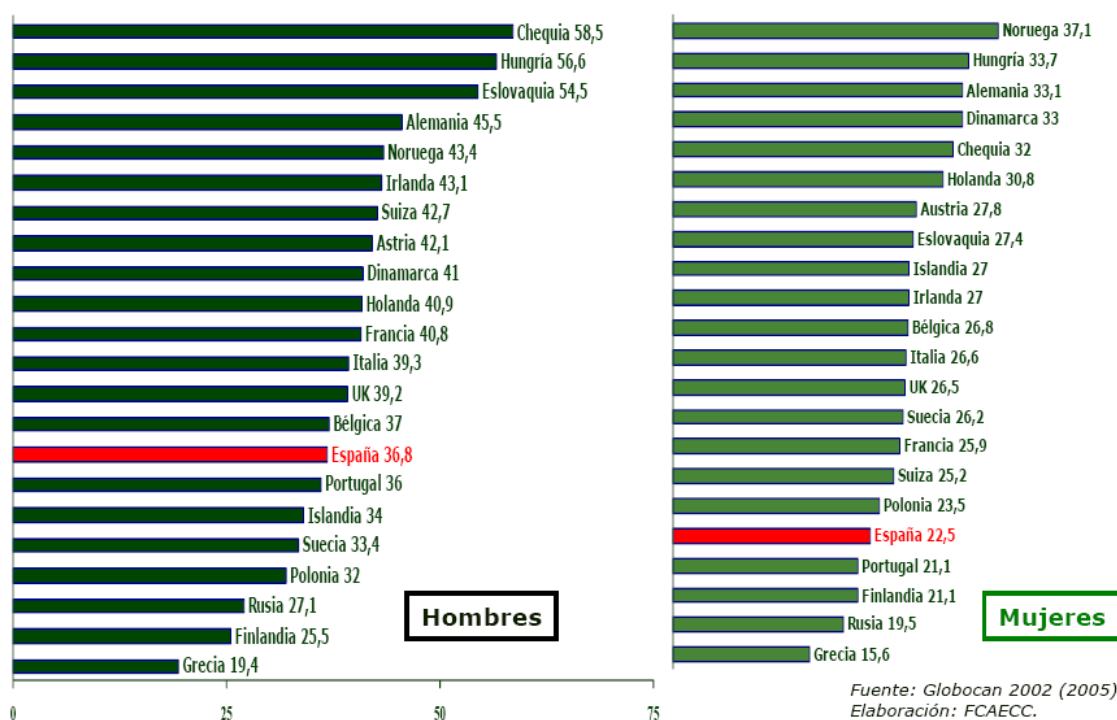
La tendencia al incremento de la incidencia del cáncer colorrectal se constata en otros países occidentales. Sin embargo, en E.E.U.U. a través de *Surveillance Epidemiology and End Results SEER, 9 Registres 1973-1999* se ha manifestado un cambio de tendencia en la morbilidad de la población blanca con un descenso sostenido desde 1985 hasta 1995, como también un efecto favorable en el descenso de la mortalidad[8] (figura 1 y 2).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Incidencia estimada de cáncer colorrectal en algunos países de Europa. Año 2002.
(Tasas ajustadas a la población mundial: nuevos casos/100.000 h/año).



Por el contrario, en España, tanto en la incidencia como en la mortalidad se comprueba una tendencia al crecimiento progresivo en el período comprendido entre 1973- 1997 Figura 2. (1)

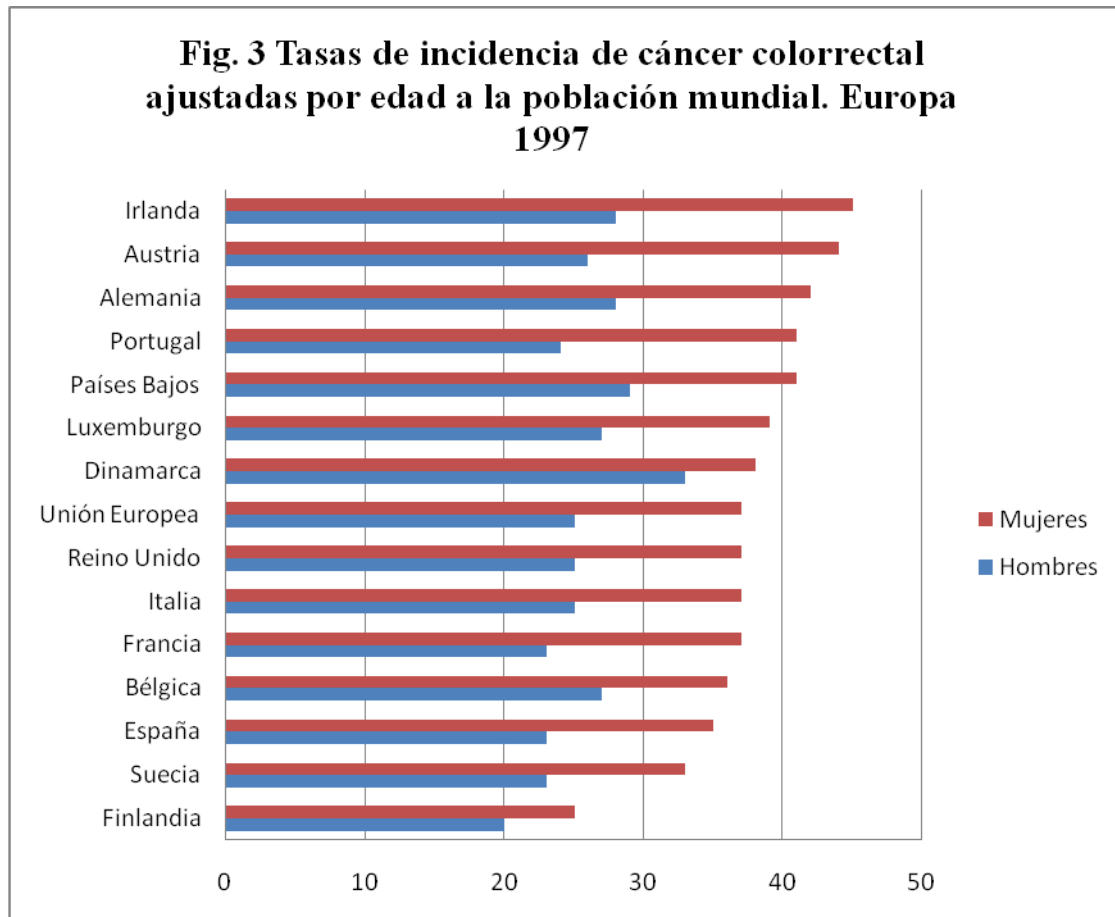
En la Comunidad Valenciana (Población de la que se ha obtenido la muestra objeto de este estudio) la tasa de incidencia del cáncer colorrectal se sitúa en 0,41 por mil habitantes, alcanzando los mismos niveles que en el resto de España (0,43 por mil habitantes). Por sexo, predomina la afectación masculina (0,52 por mil habitantes) sobre la población femenina (0,31 por mil habitantes).

En el ámbito de los registros españoles, la tasa de incidencia en la Comunidad Valenciana ocupa posiciones intermedias, de la misma forma que si lo comparamos con los registros europeos.

En un estudio epidemiológico realizado durante un periodo de tiempo de 25 años (1968-1992), la incidencia aumentaba en todos los países de Europa y más rápidamente en hombres que en mujeres [3, 9-14]. Este aumento de la incidencia fue más pronunciado en países como Noruega, España y República Checa. Datos más recientes expresan una estabilización del carcinoma colon durante los últimos años, mientras que el carcinoma de recto presentó unos datos diferentes, en los que se observó que en los países de Europa Occidental la incidencia permaneció estable mientras que aumentaba en los países del Este de Europa.

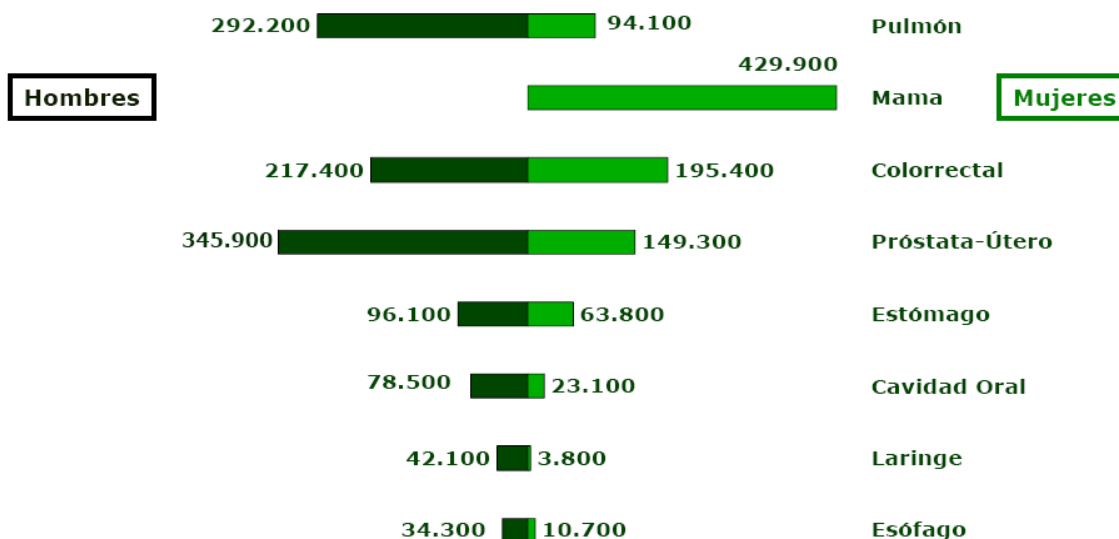
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Por edades, la máxima incidencia ocurre en personas por encima de 65 años (75%). Mientras que en edades inferiores a 45 años es infrecuente (1,3 por 100.000 habitantes por año), en edades entre 45 y 54 años hay una incidencia de 13 por 100.000 habitantes por año y en edades comprendidas entre 55 y 64 años es de 38 por 100.000 habitantes por año. [15].



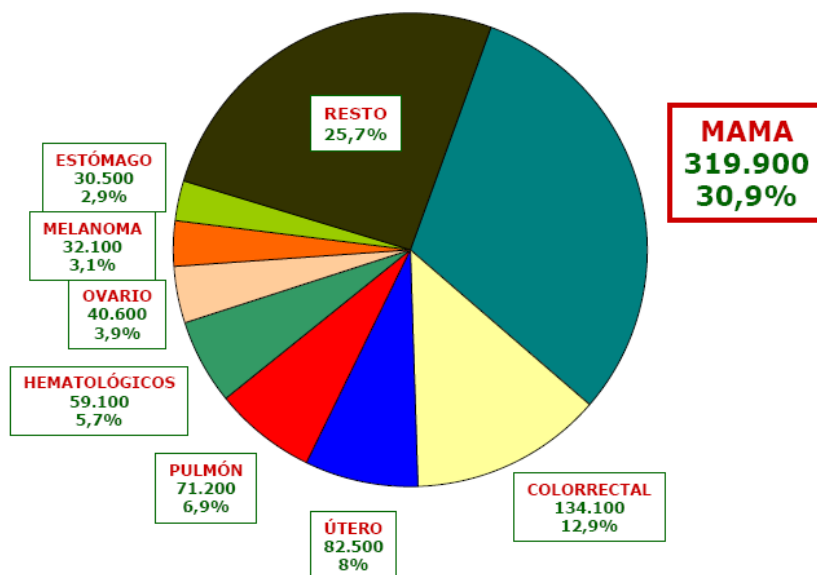
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Número estimado de nuevos casos de los principales cánceres en Europa. Año 2006.



Fuente: J Ferlay, P Autier, M Boniol, H Heanue, M Colombet y P Boyle (Ann Oncol 2007)
Elaboración: FCAECC.

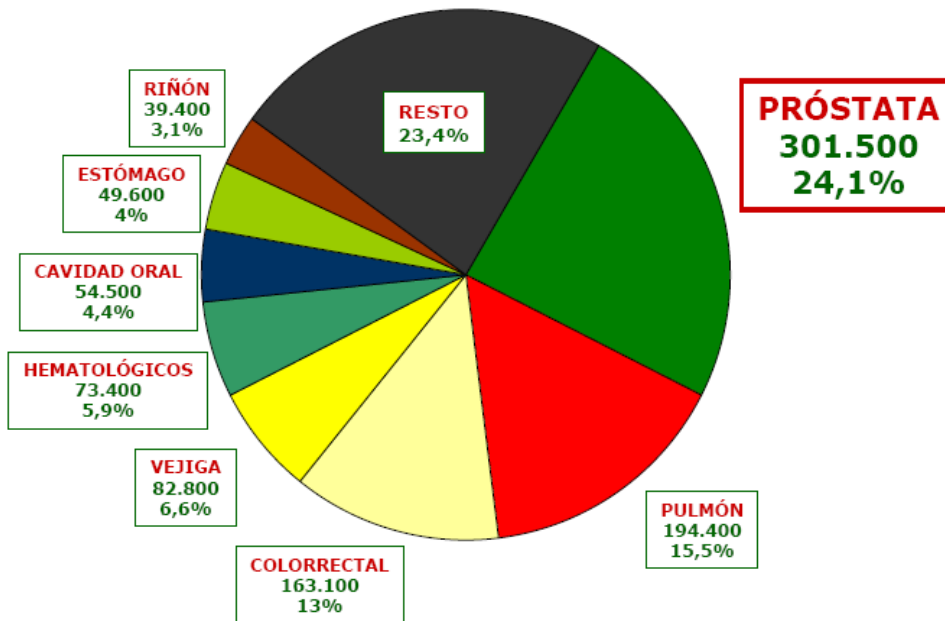
Número estimado de nuevos casos de cáncer en la Unión Europea (UE-25). Mujeres. Año 2006.



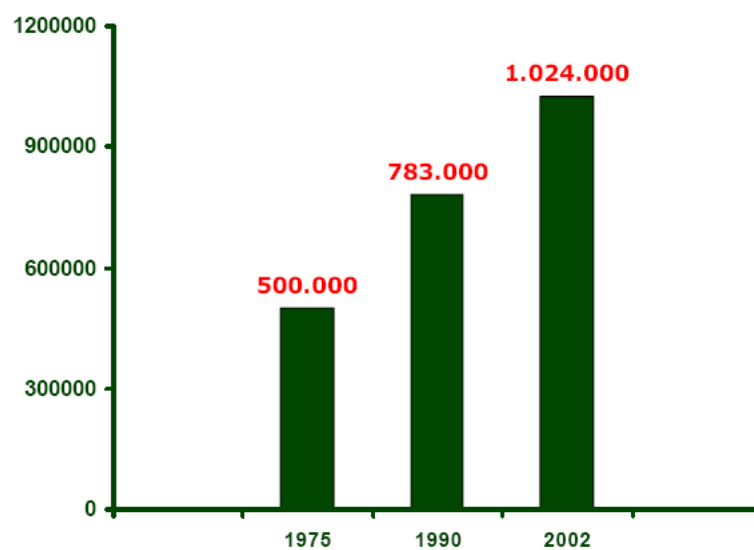
Fuente: J Ferlay, P Autier, M Boniol, H Heanue, M Colombet y P Boyle (Ann Oncol 2007)
Elaboración: FCAECC.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Número estimado de nuevos casos de cáncer en la Unión Europea (UE-25). Hombres. Año 2006.



Evolución (estimada) del número de nuevos casos de cáncer colorrectal en el mundo. 1975-2002. Ambos sexos.



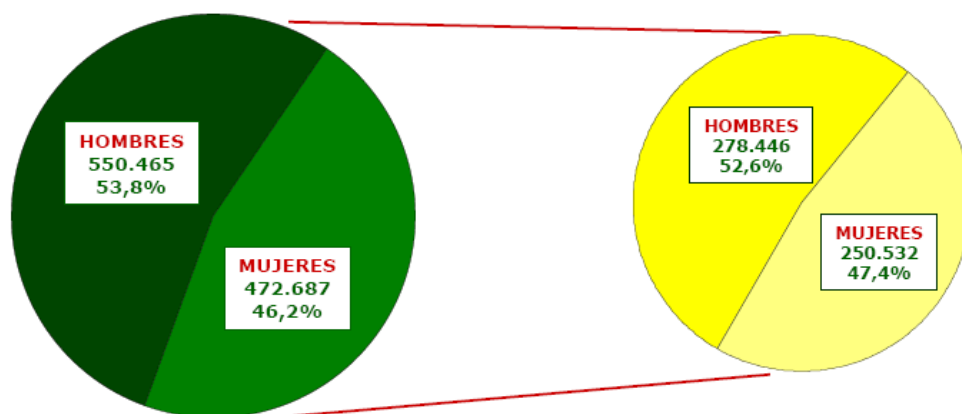
Fuente: P. Boyle y JS Langman (BMJ 2000)
Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cáncer colorrectal en el mundo Año 2002

Número de nuevos casos
1.024.000

Número de muerres
529.000

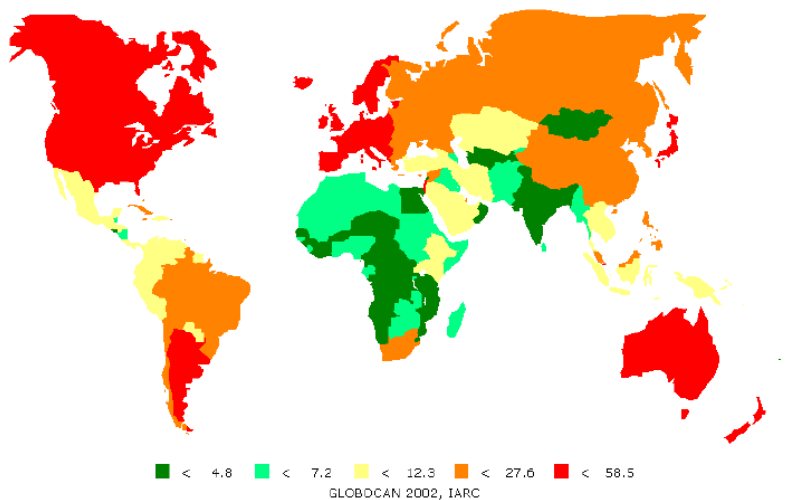


Razón de sexo 1,1 hombres : 1 mujer

Fuente: Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC.

Incidencia del cáncer colorrectal en el mundo. Hombres. Año 2002.

Colon and rectum, Males
Age-Standardized incidence rate per 100,000

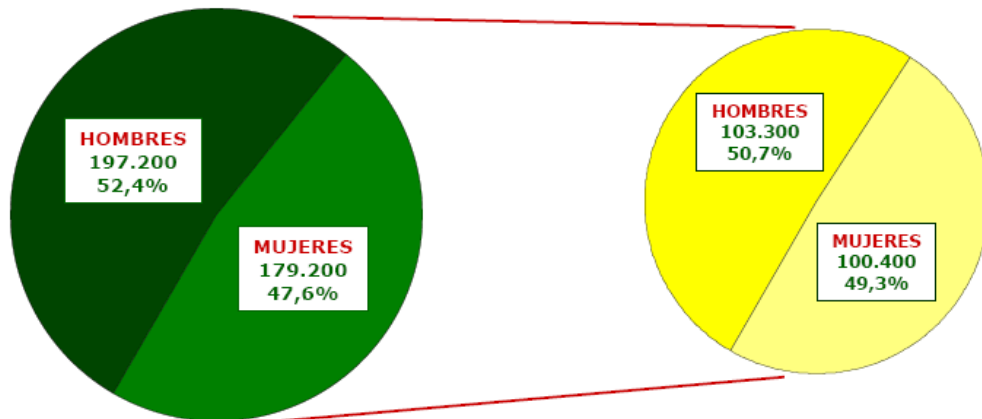


2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cáncer colorrectal en Europa Año 2004

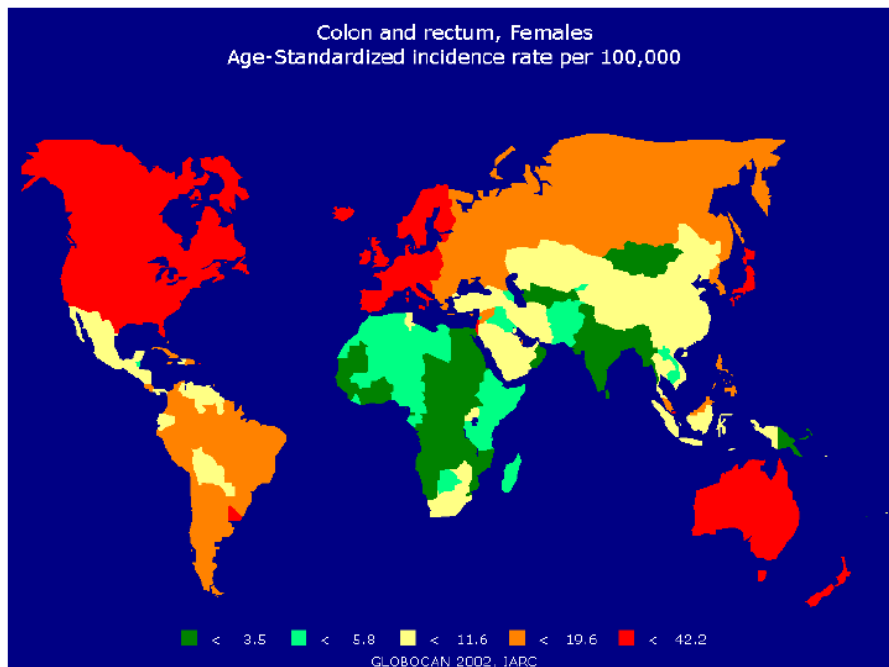
Número de nuevos casos
377.000

Número de muertes
204.000



Razón de sexo 1,1 hombres : 1 mujer

Incidencia del cáncer colorrectal en el mundo. Mujeres. Año 2002.

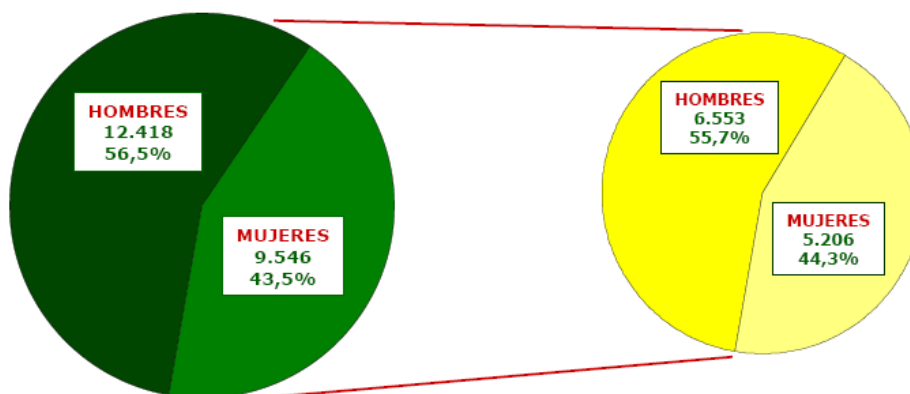


2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cáncer colorrectal en España Año 2002

Número de nuevos casos
22.000

Número de muertes
11.800



Razón de sexo 1,3 hombres : 1 mujer

Fuente: Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC.

MORTALIDAD

A nivel mundial el impacto del carcinoma colorrectal en la mortalidad general es elevado; la IARC registró para el año 2002 un total de 528.978 defunciones (278.446 en hombres y 250.352 en mujeres) [5].

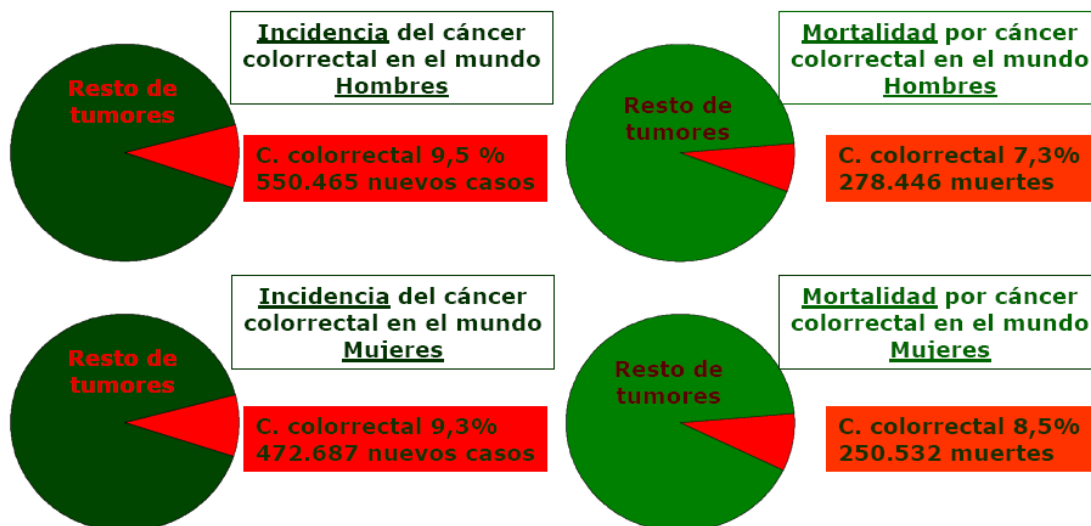
En Europa en el año 2002 se registraron 203.296 muertes (102.230 en hombres y 101.066 en mujeres) [5].

En el año 2000 en España se produjeron 10.952 muertes por cáncer colorrectal (5951 en hombres y 5.001 en mujeres) [16]. El carcinoma colorrectal es la segunda causa de mortalidad por cáncer si se consideran ambos sexos conjuntamente, detrás del cáncer de pulmón, y es la tercera causa de muerte por cáncer en los hombres y segunda en las mujeres, si se estudian de forma separada.

La mortalidad en España en los varones equivale a la media europea, mientras que en las mujeres esta media se sitúa por debajo del promedio (Figura 4.) [17]. A pesar de tener una menor incidencia que la media europea (Tabla 2), España se sitúa en peor posición (51%) frente a países como Francia (48%) o Portugal (49%), y muy lejos de Suecia (46%) e Italia (45%).

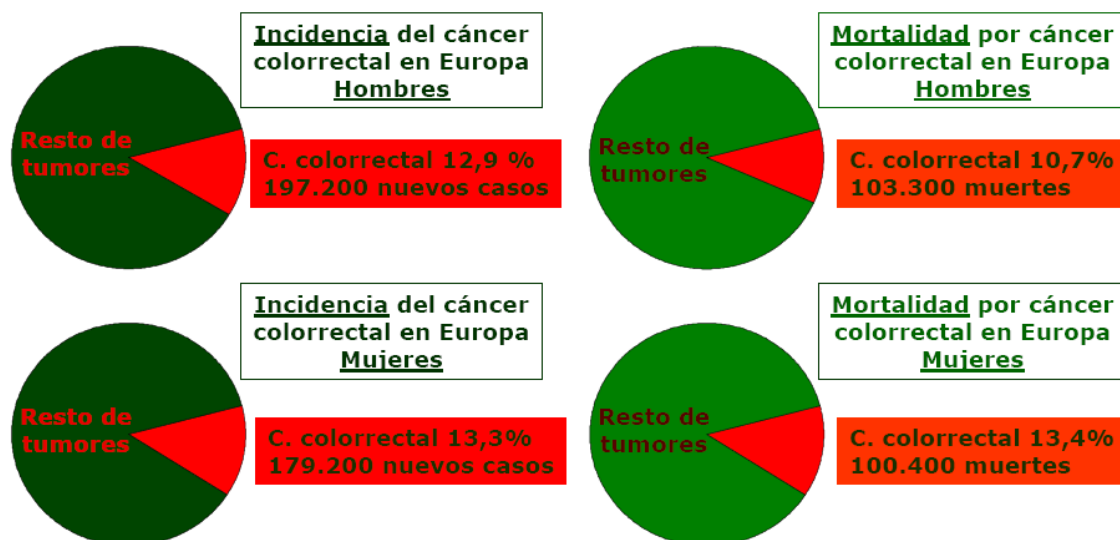
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Incidencia y mortalidad estimadas por cáncer colorrectal en el mundo. Año 2002.



Fuente: Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC.

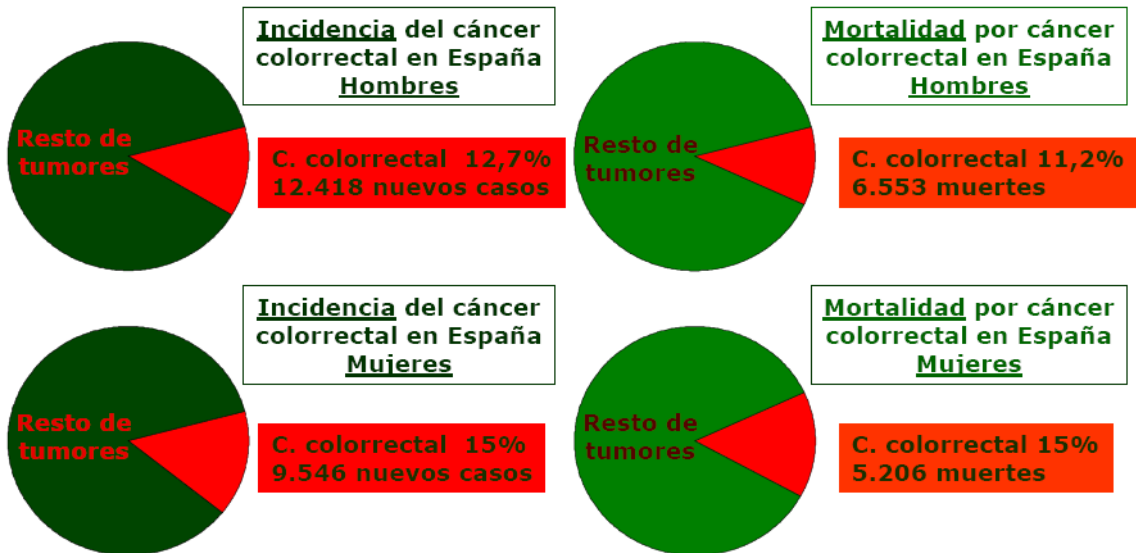
Incidencia y mortalidad estimadas por cáncer colorrectal en Europa. Año 2004.



Fuente: P Boyle y J Ferlay (Ann Oncol 2005)
Elaboración: FCAECC.

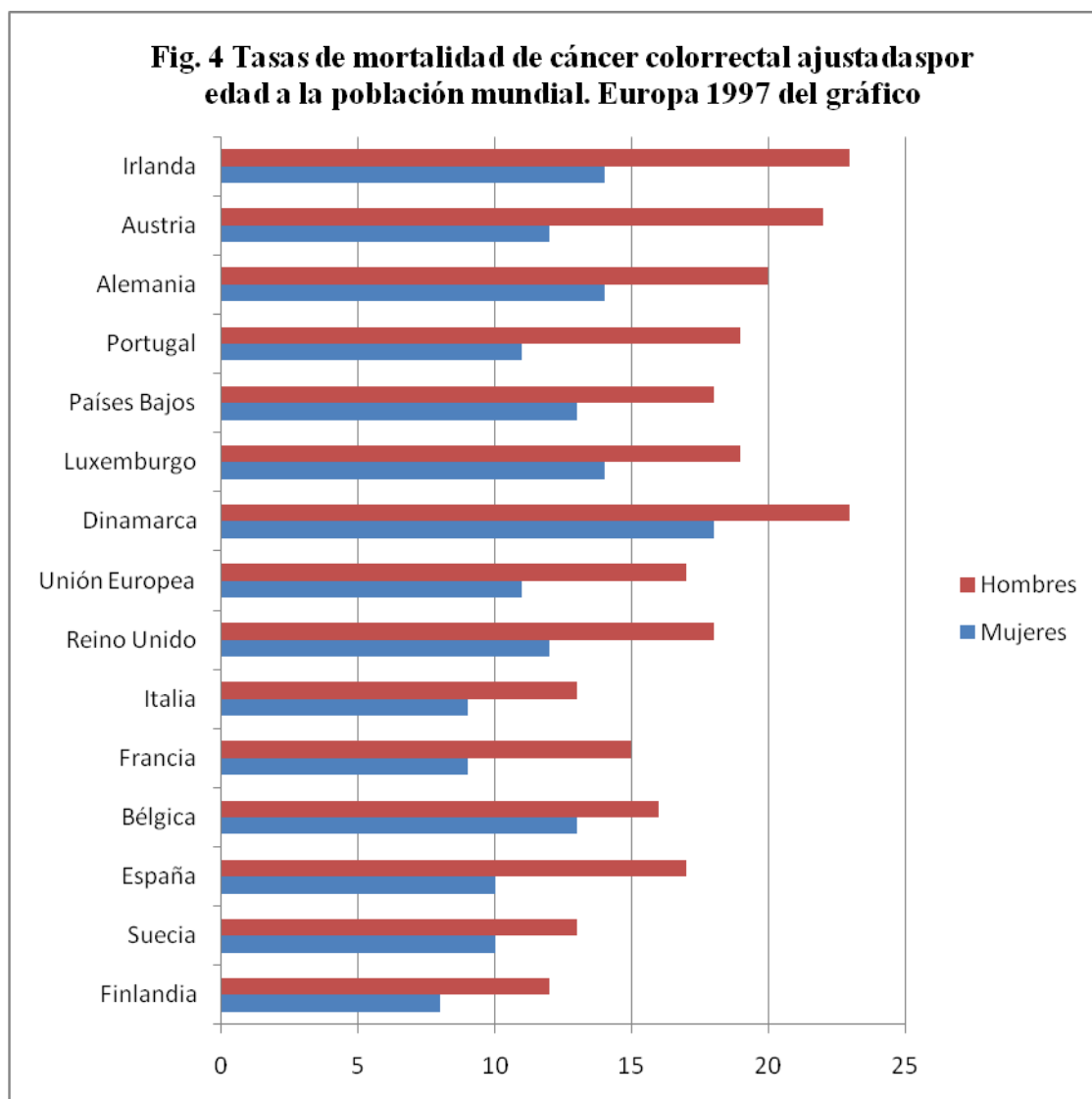
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Incidencia y mortalidad estimadas por cáncer colorrectal en España. Año 2002.



Fuente: Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



La tendencia del incremento de la mortalidad que se produce en Europa y España sorprende frente al descenso de la mortalidad del 20,8% en EE.UU., superior al descenso de la incidencia que fue de 7,4% en el período entre 1973-1999, lo que se justificaría por el diagnóstico del carcinoma colorrectal en estadios más tempranos y por los tratamientos más efectivos y agresivos en EE.UU., ambos supuestos aun pendientes de confirmación.

La población o muestra objeto de este trabajo es extraída de la Comunidad Valenciana por lo que resulta de interés la descripción de algunos datos epidemiológicos. Los índices de mortalidad se pueden diferenciar entre hombres y mujeres [18].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

HOMBRES

Se perfila un patrón geográfico norte-sur, de forma que la mortalidad es intermedia o alta en la mitad norte de la Comunidad y baja en general en la mitad sur, con excepción de la capital Alicantina, donde es alta.

Pocos municipios sobresalen por su mayor mortalidad, pero entre ellos se encuentran las tres capitales de provincia.

La mayor confluencia de municipios con baja mortalidad se da al sur de la provincia de Valencia y nordeste de la de Alicante, incluyendo toda la costa desde Cullera hasta Alicante, con el punto de menor mortalidad en Calpe.

La mortalidad por tumores malignos de recto, unión recto-sigmoidea y ano en hombres se mantuvo bastante estable durante el período 1991-2000.

MUJERES

Los dos focos de mayor mortalidad se organizan en torno a Sagunto al norte, y en las proximidades de Alicante al sur, incluyendo también Elche y Orihuela.

Una de las dos áreas de mortalidad se extiende por la mitad norte de la provincia de Castellón; la otra ocupa el extremo oriental de la provincia de Alicante y sureste de la de Valencia, desde Gandía al norte hasta Benidorm al sur, con centro en Jávea que destaca por su mortalidad muy reducida.

También es muy baja la mortalidad en Alzira, Carcaixent, al sur de Torreveja y en municipios próximos, mientras que es aisladamente alta en Oliva y Elda.

La evolución de la mortalidad del cáncer de recto, unión recto-sigmoidea y ano en mujeres no presenta grandes variaciones en la década 1991-2000.

SUPERVIVENCIA

En un estudio realizado entre 1990-1994 la supervivencia del carcinoma rectal fue del 75% en el primer año y del 48% a los 5 años[20]. En edades comprendidas entre 15 y 45 años la supervivencia a los 5 años fue de 54% respecto al 39% de supervivencia a los 5 años en edades superiores a los 75 años [19].

El adenocarcinoma localizado en la región rectal presenta una supervivencia del 75% frente al 70% del carcinoma localizado en otras regiones del colon durante el primer año, mientras que la supervivencia se iguala a los cinco años (48% frente al 51%)[20]

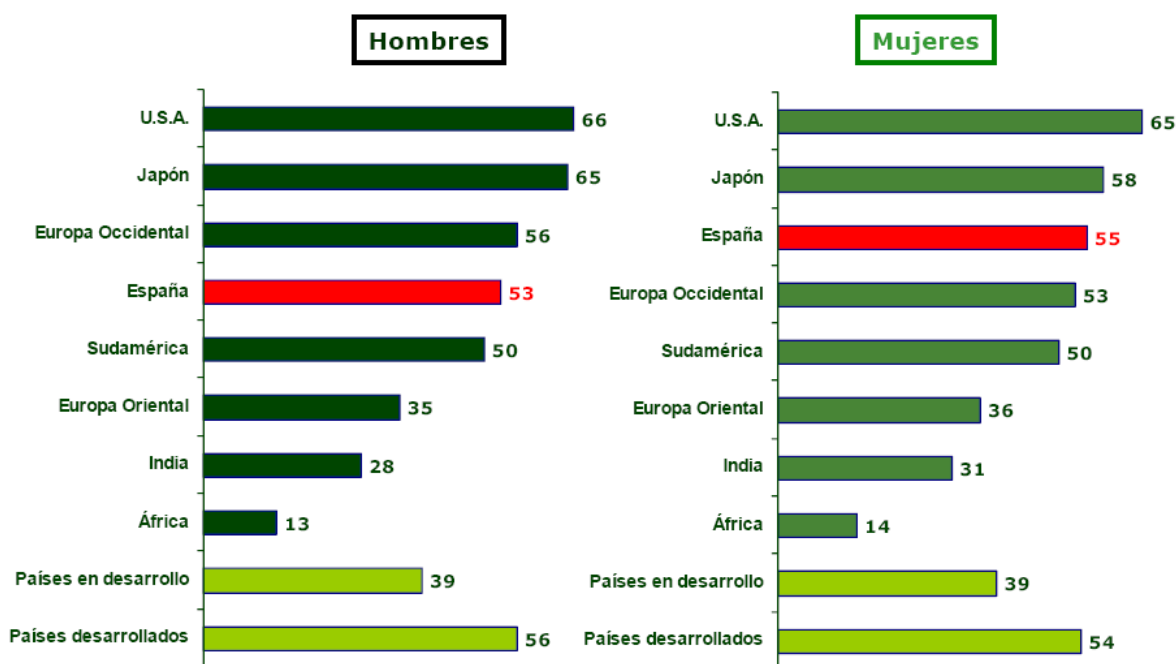
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Datos extraídos del programa EURO CARE-4 para los tumores diagnosticados entre 1995-1999, muestran cifras de supervivencia relativa para el cáncer colorrectal a los 5 años, del 53,8% (intervalo de confianza al 95%: 53,3-54,1%) [21]

La supervivencia también resulta distinta entre distintas zonas geográficas, así por ejemplo, entre los países del este de Europa, Dinamarca y Reino Unido es más baja que en el resto de Europa. Por el contrario la supervivencia mejora en países Nórdicos y de Europa Occidental, aunque sin embargo está por debajo del 60% [22].

El factor más determinante en la supervivencia del carcinoma rectal es el estadio en el momento del diagnóstico y el posterior tratamiento. Un indicador de diagnóstico en fase precoz, es el porcentaje de carcinomas rectales que son diagnosticados sobre lesiones polipoides, resultando esto más frecuente en Estados Unidos que en Europa (13% frente al 2%) [23].

Supervivencia estimada del cáncer colorrectal en el mundo. (% a los 5 años).



Fuente: Globocan 2002 (2005)
Elaboración: FCAECC.

2.3- ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO

Conocer los distintos factores de riesgo del carcinoma colorrectal es determinante en la planificación de las distintas técnicas de screening.

FACTORES DE RIESGO

La forma más frecuente en la que aparece el carcinoma colorrectal es la forma esporádica [24].

Los distintos estudios epidemiológicos han estado basados en hipótesis sobre múltiples factores de causalidad que, si bien muchos alcanzan asociación con significación estadística, por el momento ninguno de ellos sustenta con fuerza una causalidad incontestable, extendiéndose una sombra de duda, tanto por los resultados contradictorios de los estudios como por tener carácter de asociación indirecta o no estar suficientemente controlados los sesgos a pesar de su evidencia estadística, no cumpliendo los necesarios criterios de coherencia, dosis- respuesta, plausibilidad ni consistencia [25, 26].

Además, la multiplicidad de factores asociados al carcinoma colorrectal y de las hipótesis que las sustentan, hace imposible aportar en cada enfermo una causa suficiente, por lo que no se proponen intervenciones individuales o colectivas de prevención primaria de gran eficacia, tan solo se recomienda una vida saludable en alimentación y estilos de vida [27].

Dentro de la población se pueden distinguir tres niveles de riesgo:

Nivel de riesgo medio: Incluye a la población de ambos sexos con una edad superior a 50 años.

Nivel de riesgo alto: La población con antecedente familiar de primer grado de lesión neoplásica, presenta el doble de riesgo de padecer la enfermedad que la población general [28]. Este riesgo se incrementa en función de la edad y el número de familiares afectos [29-33].

Nivel de riesgo muy alto: Incluye a la población con algún defecto genético hereditario asociado al cáncer. Aproximadamente el 0,5% de los carcinomas colorrectales se asocian al síndrome de poliposis adenomatosa familiar mientras que entre el 1-3% se asocian al cáncer hereditario no asociado a poliposis o más comúnmente llamado síndrome de Lynch.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Estudios epidemiológicos realizados sobre poblaciones de inmigrantes han resaltado la importancia de los factores ambientales y de la dieta, constituyéndolos como factores de gran importancia en la etiología del carcinoma rectal, por lo que se llega a la conclusión que el carcinoma colorrectal puede ser prevenido en parte.

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA HERENCIA

La herencia [34, 35] tiene escaso impacto en la incidencia poblacional (alrededor de un 5% de los casos de carcinoma colorrectal), si bien, en el 1% de los casos de poliposis adenomatosa familiar, y entre el 2 y el 6% de los casos de cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis, por su presentación antes de los 50 años y la indefectible conversión en carcinoma colorrectal en el 100% o 70% de los portadores genéticos respectivamente, ocasiona una importante pérdida de años potenciales de vida. El 50% de los descendientes de estos enfermos son portadores de las anomalías genéticas.

Por otro lado, el carcinoma colorrectal hereditario, que afecta solamente a parientes de primer grado, (hijo o hermano) (RR=1,7), acumula el 20 % de los casos de carcinoma colorrectal [36], lo que puede justificar el seguimiento sistemático preventivo de esta población. Los demás familiares tienen la misma probabilidad individual de padecer pólipos adenomatosos y cáncer que la población en general. Por otro lado, los enfermos de carcinoma colorrectal que han sido tratados quirúrgicamente pueden padecer un segundo cáncer colorrectal primario entre el 1,5 y 3% durante los 5 años siguientes a la cirugía. Del mismo modo, los pólipos tipos adenomas presentan un RR entre 3,5 y 6,5 de desarrollar carcinoma colorrectal [37].

Aparte de la herencia existen otros factores biológicos con escasa repercusión epidemiológica (Tabla 2.1).

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA DIETA

El papel que juega la dieta constituye la hipótesis más sólida de causalidad[35].

Gracias a los estudios predominantemente prospectivos se ha demostrado el indudable factor protector de la dieta vegetal, mientras que la fruta juega un papel más inconstante en este efecto protector [37]. Por el contrario el consumo de alcohol en grandes cantidades, de carne roja (mediante la producción de nitrosaminas), dietas ricas en grasa animal y alimentos con alto contenido de azúcar incrementan el riesgo de padecer la enfermedad[37]. Asimismo dietas pobres en calcio y ácido fólico se asocian a un incremento de la incidencia del cáncer

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

colorrectal puesto en evidencia por algunos estudios prospectivos y de casos-control.

Por otro lado, también se describen otros factores que reducen el riesgo de padecer carcinoma colorrectal, como son las dietas ricas en almidón, fibra y carotenoides.

Los datos preliminares (2002) del *European Prospective Investigation of Cancer (EPIC)*, ponen de nuevo en evidencia el efecto protector del alto consumo de fibra vegetal respecto al bajo consumo (RR ajustado a 0,75, $p < 0,005$). La alta ingesta de fibra puede reducir en un 40% el riesgo de padecer cáncer colorrectal.

También han merecido especial atención las formas de preparar o cocinar los alimentos, lo que forma parte del hábito alimentario y de gustos personales muy diferenciados, tanto individuales como colectivos, pudiendo tenerse en cuenta la incorporación de cancerígenos en la pirolisis de las carnes asadas o fritas[35].

FACTORES DE RIESGO AMBIENTALES NO ASOCIADOS A LA DIETA

Entre los distintos factores de riesgo que no se asocian a la dieta se incluyen el hábito tabáquico, alcohol, infección por *Schistosoma Sinensis*, radiación, enfermedad inflamatoria intestinal tipo Colitis ulcerosa o Enfermedad de Crohn y la predisposición genética.

El hábito tabáquico adquirido en edades tempranas de la vida se asocia con la aparición de pólipos adenomatosos [38].

En relación con el consumo de alcohol existe también evidencia de asociación con el cáncer colorrectal, aunque con carácter débil [37], y del mismo modo se asocia con la incidencia de grandes adenomas.

La infección por *Schistosoma Sinensis* es un factor de riesgo importante en países Orientales, estimándose que existe un riesgo relativo de 8 en la población infestada por este parásito [39].

La radioterapia aplicada sobre regiones ginecológicas en pacientes oncológicos también constituye un factor de riesgo importante.[40]

Pacientes con antecedentes de enfermedad inflamatoria intestinal crónica tipo colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn tienen la posibilidad de desarrollar un carcinoma colorrectal sobre todo si es una enfermedad crónica de largo tiempo de evolución o se encuentre ampliamente extendida a lo largo del tubo digestivo.

FACTORES PROTECTORES DE CÁNCER COLORRECTAL NO ASOCIADOS A LA DIETA.

La actividad física[37], tanto laboral como de ocio, se manifiesta como factor protector del cáncer colorrectal; sin embargo, esta asociación se encuentra sometida a factores de confusión como la dieta, el consumo de grasas, la masa corporal y otros factores de estilos de vida asociados a la propia actividad física, como el bajo consumo de tabaco y alcohol.

La administración de ácido acetil salicílico y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como el piroxicam o sulindac en enfermos con patología inflamatoria intestinal se han manifestado en algunos estudios, no en todos, como protectores en el desarrollo de cáncer colorrectal[37], reduciéndose en personas con consumo habitual, en un 40% la mortalidad por cáncer colorrectal en el caso de la aspirina[41] y encontrándose mayor efecto con dosis menores de 80 mg. [42] que con las habituales de 325 mg. recomendadas para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Otros estudios bien diseñados, por el contrario no han observado estos beneficios.

El efecto beneficioso de los AINEs se observa en asociación a la reducción de la recidiva de adenomas en pacientes polipectomizados y en la reducción del tamaño y número de adenomas en la poliposis familiar. Ello permite a los AINEs la posibilidad de actuar en la prevención primaria en personas de alto riesgo. Sin embargo, como prescripción preventiva individual deben ser valorados los efectos adversos: úlceras gastrointestinales o diversas hemorragias según la susceptibilidad individual.

La terapia hormonal sustitutiva en las mujeres con tratamiento continuo asocia un descenso entre el 20 y 34% en el riesgo de carcinoma colorrectal y desaparece el efecto a los 5 años de abandonar la terapia.

En un estudio prospectivo de cohortes de más de 35.000 mujeres se observó como efecto protector del carcinoma colorrectal el suministro de vitamina E (RR= 0,3; IC 95% 0,19-0,59) y de ácido fólico (RR=0,69 IC 95% 0,52-0,93) para dosis elevadas superiores a 400mg./día[43]. En el mismo sentido se ha observado también relación inversa entre administración de vitamina D y cáncer colorrectal.

La administración de suplementos de calcio se ha manifestado como protector tan solo en los carcinomas más distales. Con efecto para dosis diarias superiores a 1200 mg/día versus 500 mg/día. (RR=0,65 IC 95% 0,43-0,98)[44].

Tabla 2.1 Causalidad del cáncer colorrectal

CAUSALIDAD DEL CÁNCER COLORRECTAL

FACTORES BIOLÓGICOS

1. HEREDITARIOS
 - Poliposis colónica familiar
 - Carcinoma colorrectal hereditario no poliposis
 - Carcinoma colorrectal hereditario
2. PATOLOGÍA INTESTINAL
 - Pólipos
 - Displasia
 - Cáncer colorrectal previo
3. OTROS
 - Diabetes
 - Secreción de ácidos biliares
 - Colectomía
 - Radiación Pélvica
 - Acromegalia
 - Anastomosis uretero-cólica (stoma)
 - Cáncer de ovario, endometrio y mama

FACTORES MEDIO AMBIENTALES Y CULTURALES

1. FACTORES DE RIESGO
 - Dieta
 - Consumo de grasas animales
 - Consumo de carne
 - Preparación del alimento
 - Tabaco
 - Alcohol
2. FACTORES PROTECTORES
 - Dieta
 - Consumo de fibra vegetal en alimentos
 - Frutas, hortalizas y legumbres
 - Vitaminas E y retinoides
 - Calcio
 - Actividad Física

INTERVENCIONES MÉDICAS (PROTECTORAS)

- Administración de AINE
- Suplementos de vitamina y ácido fólico
- Suplementos de calcio
- Extirpación de pólipos intestinales
- Detección precoz según recomendaciones

ETIOPATOGENIA

Los resultados de los diversos estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha, aportan posibles hipótesis etiopatogénicas sobre los factores genéticos o bioquímicos a escala celular. En el caso de las grasas animales se supone que son los metabolitos del colesterol y, con más evidencia, el incremento de secreción de sales biliares y su transformación al igual que los fosfolípidos en diacylglycerol, lo que estimula a la proteína-quinasa C dentro de las células intestinales [45].

El cocinado de carnes y pescados puede fabricar carcinógenos[35, 37], como aminas heterocíclicas, contribuyendo al riesgo de carcinoma colorrectal. Hipótesis no confirmada en otros estudios[46, 47].

El mecanismo de actuación de la fibra vegetal se basa en que la fibra sirve de sustrato a la acción bacteriana para generar cadenas cortas de ácidos grasos como el butirato, con capacidad anticarcinógena originando una reducción de la actividad mutagénica de los componentes de la masa fecal [37]. Otro mecanismo de actuación de la fibra sería combinarse con los ácidos biliares, aumentar la masa fecal por inhibición en la captación del agua y, con ello, disminuir el tiempo de tránsito en el colon, aumentando la rápida excreción de ácidos biliares y reduciendo el tiempo de inducción de los cancerígenos en sigma y recto[48].

Las frutas, vegetales y legumbres disponen de nutrientes antioxidantes o anticancerígenos (compuestos fenólicos, compuestos sulfurados y flavonas) que actúan como efecto protector [49]. En el caso del ácido fólico el efecto protector se describe mediante la actuación sobre una enzima reductora implicada en su metabolismo [50].

El efecto protector del calcio parece depender de un genotipo para los receptores de la vitamina D, y por otro lado por un efecto quelante de los ácidos biliares que neutralizan el efecto cancerígeno[51].

La acción de los AINEs se realiza a través de las prostaglandinas y su efecto sobre la mucosa del colon y recto[52, 53].

La acción del alcohol se basa en la hipótesis de que actúa estimulando la proliferación celular, activando procancerígenos intestinales e impidiendo la absorción de potenciales carcinógenos [54], en tanto que el consumo de tabaco se justifica por la ingestión por vía digestiva de cancerígenos del humo del tabaco, como hidrocarburos y aminas aromáticas.

SCREENING Y SUPERVIVENCIA

La realización de técnicas de screening para la detección del carcinoma colorrectal es una propuesta de actualidad que tiene como objetivo detectar lesiones precancerosas y evitar el desarrollo de carcinoma (prevención secundaria).

El objetivo es la detección de los carcinomas colorrectales de aparición esporádica que constituyen el 90% de los casos y que aparecen en edades por encima de los cincuenta años [24]. Los estudios realizados en poblaciones entre 40 y 49 años han confirmado que el carcinoma colorrectal es muy poco frecuente en este intervalo de edad, por lo que apoya la recomendación de realizar técnicas de screening sobre poblaciones con edades superiores a los 50 años [55].

Las técnicas utilizadas en la actualidad son dos: la detección de sangre oculta en heces y la endoscopia.

La detección de sangre oculta en heces realizada con una periodicidad bianual ha demostrado una reducción del 20% en la mortalidad por carcinoma colorrectal. La sensibilidad de la técnica es del 50% para cáncer y del 10% para la detección de pólipos [24, 55-62]. El valor predictivo positivo de la detección de sangre oculta en heces es del 10% (de cada 10 personas detectadas como positivas por el test, 9 no padecen la enfermedad)[63].

El screening mediante **endoscopia** es el mejor método para la detección de lesiones precancerosas, como son los pólipos y para la detección del propio carcinoma colorrectal, además de la posibilidad de intervencionismo bien sea para el diagnóstico del carcinoma colorrectal como para la exéresis de las lesiones polipoides. La periodicidad de realización de una colonoscopia realizada por personal cualificado y donde ésta resulta sin hallazgos significativos se estima que es de 10 años[62], mientras que en pacientes en los que se detectan lesiones, no queda establecido la periodicidad exacta de cuando realizar las endoscopias.

Las recomendaciones de la Unión Europea sugieren que si los programas de screening son implantados, se debería utilizar el test de sangre oculta en heces, y si éste resulta positivo debería utilizarse la colonoscopia total. La periodicidad de screening sería cada 1-2 años y sobre una población entre 50 y 74 años.[64].

SCREENING EN POBLACIÓN CON FACTORES DE RIESGO

Los protocolos actualizados de la Sociedad Americana de Gastroenterología establece las siguientes recomendaciones para la población que tenga factores de riesgo en el desarrollo de cáncer colorrectal[62].

Población con antecedentes familiares de carcinoma colorrectal o de pólipos adenomatosos: si el paciente tiene un familiar de primer grado de consanguineidad (padre, hermano, hijo) con antecedentes de carcinoma colorrectal o de pólipos adenomatosos y éste ha sido diagnosticado antes de los 60 años, o bien tiene dos parientes de primer grado de consanguineidad diagnosticados a cualquier edad, se recomienda test de screening a partir de los 40 años o 10 años antes que la edad del pariente más joven y repetirlo con una periodicidad de 5 años.

Población con antecedentes personales de carcinoma colorrectal: pacientes diagnosticados de carcinoma colorrectal deben ser sometidos a una endoscopia de todo el colon previa a la intervención quirúrgica para descartar lesiones sincrónicas, aunque si la lesión neoplásica estenosa u obstruye el colon impidiendo el paso del endoscopio, la exploración puede realizarse 6 meses tras la intervención quirúrgica. Si la colonoscopia resulta sin hallazgos la siguiente colonoscopia debe realizarse a los tres años y si ésta resulta sin lesiones se realiza otra cada 5 años.

Población afectada de Enfermedad Inflamatoria Intestinal Crónica: los pacientes afectados de colitis ulcerosa o de Enfermedad de Crohn, sobre todo si es de larga evolución o afecta extensamente al colon, requieren de una vigilancia estrecha mediante endoscopias, aunque en la actualidad no hay un acuerdo definitivo en cuanto a los protocolos que aplicar. Diversos estudios han demostrado una mayor eficacia en el seguimiento de la colitis ulcerosa que en la enfermedad de Crohn.[65].

Población con Poliposis Adenomatosa Familiar: La Poliposis Adenomatosa Familiar es una enfermedad con una herencia autosómica dominante que se caracteriza por la presencia de numerosos pólipos adenomatosos colorrectales con tendencia intrínseca a progresar a carcinoma colorrectal. El gen de APC se localiza en el brazo largo del cromosoma 5 (5q21-21). El diagnóstico de esta entidad se basa bien en criterios clínicos o en el diagnóstico genético. El criterio diagnóstico clínico se basa en la detección mediante estudio endoscópico y posterior estudio histopatológico de al menos 100 pólipos adenomatosos detectados a lo largo de toda la región colorrectal, aunque en edades más tempranas el número de pólipos puede ser menor por lo que se recomienda un estudio genético complementario. El diagnóstico de esta entidad también está basado en la detección de la mutación genética, aunque diversos estudios han demostrado que ésta es solo demostrable entre el 60% y el 80% en las familias afectadas de Poliposis Adenomatosa familiar. Un resultado positivo en el estudio genético es diagnóstico de poliposis

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Adenomatosa familiar y puede ser suficiente para la práctica de colectomía o proctocolectomía profiláctica cuando se detectan adenomas tubulares a partir de los 20-25 años. Asimismo la endoscopia del tubo digestivo alto debe realizarse desde que se realiza la cirugía, repitiéndose cada 2-5 años dependiendo de la presencia de pólipos en estómago o duodeno[66].

Carcinoma colorrectal hereditario no asociado a Poliposis (Síndrome de Lynch): La población con diagnóstico genético o clínico de síndrome de Lynch, debería ser sometida a estudio endoscópico cada 1-2 años desde la edad de los 20-25 años, o 10 años por debajo de la edad en la que fue diagnosticado el familiar más joven. Un estudio epidemiológico prospectivo y finalizado, dirigido hacia la detección mediante endoscopia de lesiones neoplásicas rectales en pacientes que cumplían los criterios de Ámsterdam para carcinoma colorrectal hereditario no asociado a poliposis ha demostrado la eficacia de la colonoscopia en reducir la mortalidad del cáncer colorrectal [67].

Criterios Revisados para Cáncer Colorrectal no Poliposo Hereditario (Síndrome de Lynch).

Criterios de Amsterdam (1991)

Tres o más familiares con cáncer colorrectal, más todos de los siguientes:

- Un paciente afectado debería ser un familiar de primer grado de los otros dos;
- El cáncer colorrectal debería comprometer al menos dos generaciones;
- Al menos un caso de cáncer colorrectal debería ser diagnosticado antes de los 50 años de edad.

Criterios de Ámsterdam II (Criterios Revisados por el International Collaborative Group sobre Cáncer Colorrectal no Poliposo Hereditario (HNPCC) en 1998).

Tres o más familiares con cáncer asociados a HNPCC (cáncer colorectal o cáncer de endometrio, intestino delgado, uréter, o pelvis renal) más todos de los siguientes:

- Un paciente afectado debería ser familiar de primer grado de los otros dos;
- Dos o más generaciones sucesivas deberían ser afectadas;
- Cáncer en uno o más familiares afectados debería ser diagnosticado antes de los 50 años de edad;
- La poliposis familiar adenomatosa debería ser excluida de los casos de cáncer colorrectal;
- Los tumores deben ser verificados por un examen histopatológico.

Criterios Amsterdam Modificados

Uno de estos criterios necesita ser encontrados:

- Familias muy pequeñas, puede ser considerado que tiene HNPCC con solo dos cánceres colorrectales en familiares de primer grado si al menos 2 generaciones tienen cáncer y al menos un caso de cáncer colorrectal fue diagnosticado a los 55 años de edad;
- En familias con dos parientes de primer grado afectados por cáncer colorrectal, la presencia de un tercer familiar con una neoplasia poco común de comienzo temprano o cáncer de endometrio es suficiente.

Criterios Revisados de Bethesda (2003)

Estos criterios necesitan ser encontrados:

- Cáncer colorrectal diagnosticado antes de los 50 años de edad;
- ***Tumores colorrectales sincrónicos o metacrónicos u otros relacionados a HNPCC (esto incluye estómago, vejiga, uréter, pelvis renal, tracto biliar, cerebro (glioblastoma), adenomas de glándulas sebáceas, queratoacantomas y carcinoma de intestino delgado), sin considerar la edad;***
- Cáncer colorrectal con una elevada inestabilidad de microsátélites que fuera diagnosticada antes de los 60 años;
- Cáncer colorrectal con uno o más familiares de primera generación con cáncer colorrectal u otros tumores relacionados con HNPCC. Uno de los cánceres puede ser diagnosticado antes de los 50 años (esto incluye adenomas, que pueden haber sido diagnosticados antes de los 40 años de edad);
- Cáncer colorrectal con dos o más familiares con cáncer colorectal u otros tumores relacionados con HNPCC, sin considerar la edad.

2.4- CLÍNICA

La edad habitual de presentación del cáncer colorrectal es entre los 60 y los 80 años de edad. En las formas hereditarias el diagnóstico suele ser antes de los 50 años. El cáncer colorrectal no suele dar síntomas hasta fases avanzadas y por eso la mayoría de pacientes presentan tumores que ya han invadido toda la pared intestinal o han afectado los ganglios locorregionales. Los síntomas y signos del carcinoma colorrectal son variables e inespecíficos. Los síntomas que llevan con más frecuencia a los pacientes a buscar atención médica son el dolor abdominal, la hemorragia rectal y los cambios en el ritmo defecatorio.

La clínica del carcinoma colorrectal depende de la localización de la lesión a lo largo del colon. Las lesiones neoplásicas localizadas en la región cecal o colon derecho se manifiestan clínicamente por alteraciones del tránsito intestinal o por cuadros de anemia ferropénica, debido a que la lesión neoplásica tiende a crecer exofíticamente alcanzando un gran tamaño y ocupando una gran parte de la luz del colon sin llegar a producir síntomas obstructivos antes de su detección. Por razones desconocidas las personas de raza negra tienen una incidencia mayor de lesiones en colon derecho que las personas de raza blanca.

Por el contrario la mayoría de lesiones neoplásicas localizadas en la región recto-sigmoidea o rectal debutan clínicamente de una forma más precoz y llamativa. La clínica se caracteriza por cuadros de dolor cólico en abdomen, que puede aliviarse con la defecación, hematoquecia, estreñimiento crónico, tenesmo, y deposiciones caracterizadas por heces acintadas o de diámetro considerablemente reducido, sin embargo en esta localización es un hallazgo infrecuente, todo ello justificado por la forma de crecimiento exo-endofítico generando anillos intraluminales estenosantes que ocupan gran parte de la circunferencia de recto. A veces el tenesmo y la hemorragia son síntomas frecuentes de hemorroides, pero ante una rectorragia con o sin trastornos del hábito intestinal (diarrea o estreñimiento) es necesario realizar un tacto rectal y una endoscopia de la totalidad del colon. La uretritis ocurre cuando el tumor se encuentra muy cerca de la uretra y puede comprimirla originando infecciones recurrentes urinarias. Cuando su extensión sobrepasa los límites de la pared rectal, el paciente puede aquejar síntomas urinarios atribuibles a invasión vesical como hematuria y polaquiuria. Si aparece una fístula recto-vesical pueden aparecer una clínica de hematuria e infecciones urinarias recidivantes.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Posibles **complicaciones** que se presentan en este tipo de neoplasias son la obstrucción y la perforación.

La *obstrucción* aguda del colon sugiere firmemente la presencia de una lesión neoplásica, sobre todo en ancianos. Los pacientes con obstrucción completa presentan distensión abdominal, dolor abdominal tipo cólico (lo que sugiere que la lesión se encuentra en el lado izquierdo que es más estrecho) y padecen de incapacidad para eliminar gases o heces.

La *perforación* en el cáncer de colon (complicación poco frecuente) se puede producir por dos mecanismos:

1. Como complicación de una obstrucción aguda en los tumores de colon izquierdo y suele producirse en el segmento proximal a la obstrucción que se encuentra distendido. La perforación es una complicación muy grave debido al paso de bacterias de la flora intestinal a la cavidad peritoneal produciendo peritonitis aguda fecal.
2. Como perforación de la propia tumoración. Ésta suele darse en las lesiones del lado derecho, y suele cubrirse mediante la formación de un plastrón (reacción del peritoneo y epiplón), dando lugar a la formación de una peritonitis circunscrita (absceso).

Otros síntomas frecuentes e independientes de la localización de la lesión neoplásica son, dolor abdominal, malestar general, fiebre y pérdida de peso.

2.5- DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del carcinoma colorrectal se realiza habitualmente cuando la clínica es manifiesta o a través de programas de screening.

A excepción de los pacientes que debutan con un cuadro clínico complicado como puede ser la obstrucción o la perforación, la duración de la clínica no se correlaciona con el pronóstico.

Los carcinomas colorrectales en estadios precoces de evolución son asintomáticos, y debido a que muchos síntomas no son específicos (molestias abdominales, cambios del tránsito abdominal, pérdida de peso sin causa aparente, fatiga continuada) se han realizado importantes esfuerzos en la detección en estadios precoces a través de programas de screening.

Clínica menos frecuente presente en carcinoma colorrectal, incluye intenso dolor abdominal, náuseas y vómitos, traduciendo por lo general complicaciones

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

como la obstrucción y la perforación. Asimismo también es posible detectar una masa palpable en neoplasias localizadas en segmentos intestinales del lado derecho.

El sangrado en el carcinoma colorrectal puede ser agudo o crónico. El sangrado crónico mezclado con heces y no evidente a simple vista puede desencadenar un cuadro de anemia ferropénica con el consiguiente cuadro clínico de debilidad. Se ha de comprobar que el paciente no toma anticoagulantes que justifiquen el cuadro clínico.

La obstrucción intestinal es más frecuente en lesiones neoplásicas localizadas en el lado derecho. Si la válvula ileocecal es competente, la obstrucción se manifiesta como un cuadro clínico agudo, mientras que si es incompetente la enfermedad se manifiesta con una evolución más insidiosa caracterizada por estreñimiento y aumento de distensión abdominal mantenida durante días.

El principal diagnóstico diferencial clínico que se realiza es con la diverticulitis.

La perforación en los carcinomas colorrectales puede manifestarse de forma aguda o crónica y puede localizarse en el mismo tumor o en proximidad al mismo con implicaciones pronósticas. El cuadro clínico de la perforación aguda puede ser idéntico al de la apendicitis o diverticulitis en forma de dolor, fiebre y masa palpable. La perforación crónica puede desarrollar la formación de una fístula hacia vejiga pudiendo dar un cuadro clínico de neumatúria o cistitis de repetición con múltiples microorganismos entéricos detectados mediante cultivo. En este cuadro de cistitis la citología, la cistoscopia y la biopsia no conducen al diagnóstico siendo la endoscopia colorrectal la prueba de mayor valor diagnóstico.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Marcadores tumorales de laboratorio:

A lo largo de las últimas décadas se ha intensificado el esfuerzo en la identificación de marcadores tumorales detectados en laboratorio que permitan un diagnóstico en estadios precoces del carcinoma colorrectal. Una gran variedad de estructuras proteicas, glicoproteicas, sustancias humorales y celulares han sido estudiadas como marcadores de carcinoma colorrectal, aunque ninguna de ellas han sido específicas de tumor.

El marcador tumoral más ampliamente estudiado ha sido el antígeno carcinoembrionario (CEA), que ha sido analizado en el estadiaje prequirúrgico y en el control evolutivo postquirúrgico de pacientes afectos de carcinoma colorrectal [68], aunque tiene un escaso valor predictivo en el diagnóstico de pacientes asintomáticos[69].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El test de detección de CEA tiene una escasa sensibilidad y especificidad en pacientes asintomáticos siendo inadecuado para el screening del carcinoma colorrectal en poblaciones sin clínica manifiesta. En estadios Dukes A y B, la sensibilidad de la técnica es de 36% mientras que en estadio Dukes C es del 74% y en el estadio Dukes D es del 83%, siempre que el nivel de CEA sea superior a 2,5 mg/ml.

Los valores de CEA por lo general se negativizan tras exéresis de la lesión neoplásica y pueden incrementarse en las recurrencias de la enfermedad. Los valores más altos de CEA son los observados en aquellas situaciones donde el carcinoma colorrectal se ha extendido más allá de la pared intestinal, en carcinomas pobremente diferenciados y en tumores con embolización vascular o invasión perineural [70]. Asimismo, niveles altos de CEA también pueden aparecer en lesiones neoplásicas de estómago, páncreas, mama y próstata. Los niveles de CEA no están nunca aumentados en pacientes sin enfermedad neoplásica aunque pueden observarse alterados en enfermedad hepática crónica y enfermedades renales [70].

El Ca 19-9 es un marcador que está siendo estudiado y que presenta unos resultados prometedores en términos de sensibilidad y especificidad para la detección de lesiones en estadio preneoplásico y lesiones neoplásicas en estadios precoces[71].

Un novedoso y también prometedor estudio para screening, es la detección de la mutación del oncogén RAS o genes de la poliposis colónica familiar en las heces, aunque desafortunadamente no es posible distinguir lesiones polipoides de lesiones neoplásicas.

Técnicas de Radiodiagnóstico:

La realización de una placa radiológica abdominal junto con un enema de bario puede resultar de ayuda en algunas situaciones donde la realización de una técnica endoscópica no es concluyente. Un ejemplo son aquellos pacientes con alteraciones anatómicas que impiden un adecuado paso del endoscopio por la región rectosigmoidea por lo que se puede combinar la realización de una colonoscopia del área rectal junto con la realización de un enema transitado de bario en el resto del segmento intestinal.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Técnica endoscópica y toma de biopsia:

La endoscopia nos permite la visualización de todas las áreas del colon. Con ella podemos visualizar toda la mucosa del intestino grueso, pudiendo detectar distintos tipos de lesiones como lesiones polipoides, neoplasias, lesiones diverticulares etc.

La gran ventaja de la endoscopia es la posibilidad de la exéresis de algunas lesiones y de la posibilidad de un posterior estudio histopatológico, o también la toma de muestras de las lesiones de mayor tamaño para un posterior análisis histopatológico.

La endoscopia con la toma de muestras y con posterior estudio histopatológico, es la técnica diagnóstica con mayor sensibilidad y especificidad en la detección del carcinoma colorrectal en las distintas situaciones que pueden acontecer en la población general y es una prueba diagnóstica imprescindible antes de cualquier procedimiento quirúrgico[72].

El muestreo de la lesión identificada endoscópicamente debe ser amplio, ya que si se muestrea tan solo el centro de la lesión el resultado puede ser un falso negativo resultando histológicamente un tejido de granulación, mientras que si la muestra es del área periférica a la lesión neoplásica el estudio histológico puede dar solo la imagen de epitelio hiperplásico de colon.

El estudio mediante **citología** es de un valor indudable. Raskin y Pletica estudiaron 87 pacientes con carcinoma e identificaron la lesión neoplásica mediante citología en 70 (80%) con una incidencia de falsos positivos de 0,45% [73]. Las lesiones neoplásicas localizadas en el tercio distal del recto pueden ser estudiadas citológicamente mediante cepillado con una sensibilidad incluso superior a la biopsia endoscópica[74, 75]. A pesar de estos resultados esta técnica no ha despertado el interés entre los clínicos.

Otras técnicas diagnósticas de uso más limitado en la práctica habitual, ya que son solo utilizadas en situaciones muy concretas como en el seguimiento de la enfermedad, la estadificación y ante determinadas complicaciones, y en estos casos como alternativa a las técnicas diagnósticas anteriormente descritas:

- Colonografía-TAC
- TAC
- Tomografía por emisión de positrones

2.6- VALORACIÓN DIAGNÓSTICA/ESTADIAJE PREQUIRÚRGICO DEL CÁNCER RECTAL

El tipo de tratamiento llevado a cabo sobre el carcinoma rectal depende en gran medida del nivel de infiltración alcanzado por las células neoplásicas y por la extensión a los ganglios linfáticos. Debido a la importancia que adquiere la infiltración de la pared intestinal de cara a un posterior tratamiento, es de gran importancia disponer de una técnica diagnóstica que nos permita valorar la infiltración de la pared rectal y el consiguiente estadiaje de forma prequirúrgica[76].

Los casos con un diagnóstico prequirúrgico de metástasis ganglionar, mediante las técnicas que se comentarán a continuación se benefician de un tratamiento quimioterápico y radioterápico de forma prequirúrgica, demostrando un mayor beneficio pronóstico en forma de menor recurrencia local y a distancia que si la quimioterapia y radioterapia se aplica después de la cirugía[77, 78]. A pesar de lo comentado anteriormente, el uso indiscriminado de quimioterapia y radioterapia prequirúrgica ha demostrado un sobretratamiento entre el 62% al 94% de los pacientes con enfermedad neoplásica limitada a mucosa, submucosa y muscular propia sin afectación ganglionar[79, 80].

Antes de la cirugía es fundamental, además de valorar la extensión local de la enfermedad, poder realizar una evaluación de la extensión a distancia de la enfermedad, mediante radiografías de tórax (para las metástasis pulmonares) o mediante ecografías abdominales o TAC abdominal para valorar posibles metástasis hepáticas o metástasis en otros órganos abdominales.

2.6.1 ECOGRAFÍA RECTAL ENDOANAL

El diagnóstico de confirmación de carcinoma rectal está basado en un estudio histopatológico sobre muestras de biopsia tomadas mediante endoscopia, sin embargo a través de esta técnica no es posible evaluar la profundidad de la invasión neoplásica.

La introducción de la ecografía rectal endoanal ha permitido un paso hacia delante en la valoración de la invasión tumoral y en la valoración de los ganglios linfáticos en el carcinoma rectal.

Tras la realización de la ecografía endoanal, los resultados obtenidos permiten una correcta planificación quirúrgica al igual que un mejor tratamiento prequirúrgico que permita reducir la posibilidad de recurrencia local y mejorar la morbilidad y la supervivencia[81, 82].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La realización de la endoscopia también permite la exéresis de lesiones con una invasión limitada a mucosa y submucosa, si su tamaño y nivel de infiltración han sido valorados ecográficamente.

Algunos estudios han valorado la utilidad de la ecografía endoanal en la evaluación del nivel de infiltración rectal, afectación perirrectal y metástasis ganglionar, no resultando adecuada para el estudio de metástasis a distancia (Tabla 2.2 y tabla 2.3).

Los datos extraídos de la literatura mencionan una seguridad global de la ecografía endoanal en el estudio del carcinoma rectal del 78%, especificidad de 73% y una sensibilidad de 94%. Por otro lado la T.A.C tiene una menor seguridad diagnóstica que las técnicas mencionadas anteriormente al no permitir un estudio de la infiltración tumoral a lo largo de la pared rectal [83] (Tabla 2.4 y 2.5).

AUTORES	Nº PACIENTES	ESPECIFICIDAD	SENSIB.	ÍND. SEGURIDAD
Northon and Tomas [84]	121	97%	93%	92%
Akahosi y cols. [85]	39			82%
Boyce y cols.[86]	38	77%	97%	91%
Cho y cols.[87]	76	70%	96%	86%
Hunerbein y cols. [88]	63			92%
Blomquist y cols. [89]	49	33%	89%	59%
Tseng y cols. [90]	73			89%
Snady y Merrick[91]				97%
Kuntz y cols. [92]	31			85%
Meyenberg y cols.[93]	90			84%
Hildebrandt y cols.[94]		89%	96%	

Tabla 2.2 Distintos estudios que evalúan el valor de la ultrasonografía endoscópica en el estudio de la infiltración de la pared rectal

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

AUTORES	Nº PACIENTES	ESPECIFICIDAD	SENSIB.	ÍND. SEGURIDAD
Northon y Tomas [84]	121	53%	83%	65%
Akahosi y cols. [85]	39	65%	83%	72%
Boyce y cols. [86]	45	91%	61%	76%
Cho y cols. [87]	27	74%	63%	70%
Hunerbein y cols. [88]	55			85%
Blomquist y cols. [89]	49			55%
Tseng y cols. [90]	73	76%	77%	77%
Snady y Merrick[91]				86%
Kuntz y cols. [92]	31			90%
Meyenberg y cols. [93]	90			64%
Hildebrandt y cols. [94]				78%

Tabla 2.3 Distintos estudios que evalúan el valor de la ultrasonografía endoscópica en el estudio de las metástasis ganglionares

	ESPECIFICIDAD	SENSIBILIDAD	SEGURIDAD
ECO	73%	94%	82%
T.A.C	63%	78%	73%
RNM	77%	86%	82%

Tabla 2.4 Comparación de las distintas técnicas diagnósticas en la determinación del estadio T del cáncer colorrectal.

	ESPECIFICIDAD	SENSIBILIDAD	SEGURIDAD
ECO	73%	74%	75%
T.A.C	78%	52%	62%
RNM	80%	62%	74%

Tabla 2.5. Comparación de distintas pruebas diagnósticas en la detección de ganglios linfáticos positivos para infiltración

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La ecografía rectal endoanal permite distinguir 5 capas a lo largo de la pared rectal, lo que permite valorar el alcance de la infiltración [95, 96].

La ecografía rectal endoanal puede presentar el inconveniente de sobreestimar la lesión neoplásica en determinadas situaciones, como pueden ser la imposibilidad de distinguir los cambios inflamatorios de una infiltración neoplásica o la mala interpretación de una pequeña irregularidad en el margen externo de la muscular propia con la consiguiente sobreinterpretación de la lesión neoplásica.

En lo que respecta a la detección de infiltración neoplásica en los ganglios linfáticos locorreionales, la ecografía rectal endoanal presenta una seguridad del 75%, especificidad del 73% y sensibilidad del 74% [97] (Tabla 2.5).

En el estudio de los ganglios linfáticos mediante la ecografía rectal endoanal se valora la ecogenicidad, el tamaño y la forma. Los ganglios linfáticos de apariencia redonda, bordes imprecisos y con imagen hipoecoica en su totalidad son sospechosos de estar infiltrados por la neoplasia, mientras que los ganglios con límites nítidos, forma elíptica-triangular e hipoecoicos con centro hiperecogénico son más sugestivos de ser reactivos.

2.6.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RNM)

Diversos estudios han afirmado que la Resonancia Magnética tiene un valor limitado en el estadiaje tumoral del carcinoma rectal cuando ésta era de baja resolución debido a la imposibilidad de separar las distintas túnicas de las que se compone la pared rectal, por lo que las lesiones tumorales eran sobrediagnosticadas ya que no se podía separar el límite entre la masa neoplásica y el tejido adyacente [98-101].

La bobina endorrectal produce imágenes con mayor resolución permitiendo la separación de las distintas capas de las que se compone la pared rectal, aunque la técnica tenía los inconvenientes de la colocación de la bobina en el recto, de la distorsión que se produce en la pared del recto y sobretodo de las limitaciones en la valoración de tumores estenosantes del recto [102]. Avances en la RNM y en la tecnología de la bobina han dado como resultado una mejora en las imágenes de alta resolución de la pelvis sin el inconveniente de tener que utilizar la bobina endorrectal.

Las **ventajas** de la Resonancia Magnética para el estadiaje del carcinoma rectal son:

- El gran campo de visión permite evaluar la totalidad del mesorrecto y la fascia mesorrectal.
- Todos los tumores con efecto masa o efecto estenosante pueden ser evaluados.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Los tumores que se extienden a mesorrecto o a fascia mesorrectal pueden ser evaluados
- Fibrosis perirrectal, reacción desmoplásica y angiogénesis vascular pueden ser evaluados y diferenciadas de la propia masa tumoral.

Las **limitaciones** de la Resonancia Magnética son:

- Imposibilidad de distinguir entre pT1 y pT2
- Imposibilidad en distinguir entre tumores que alcanzan la muscular propia en su cara interna (pT2) o aquellos que la infiltran en su totalidad (pT3).
- Imposibilidad en distinguir metástasis ganglionares entre 1 y 2 mm.

Por lo que respecta el estadiaje histopatológico, pN o afectación ganglionar por la lesión neoplásica, se puede afirmar que el tamaño del ganglio linfático tiene poca especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de infiltración neoplásica, debido a que ganglios de gran tamaño pueden ser tan solo reactivos mientras que ganglios de pequeño tamaño sí que pueden estar infiltrados [102-104].

Si se utiliza la RNM de alta resolución, la observación de aislados focos de mayor intensidad de señal en el ganglio linfático junto con un límite irregular del ganglio mejora la seguridad diagnóstica de la RNM. Una importante limitación es la dificultad en identificar focos tumorales de 1-2 mm. o identificar adenopatías con metástasis de <3 mm.

Tras el tratamiento prequirúrgico o también llamado tratamiento neoadyuvante con Radioterapia y quimioterapia, la RNM y la ecografía endorrectal pueden demostrar una reducción de la masa tumoral aunque en los casos donde se produce una buena respuesta al tratamiento neoadyuvante, la presencia de aisladas células neoplásicas inmersas en un estroma fibroso no pueden ser detectadas por estas técnicas de imagen[105].

2.6.3 LIMITACIONES DE LAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DE IMÁGEN EN EL ESTADIAJE DEL CARCINOMA RECTAL SOMETIDO A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

Tanto la ecografía endorrectal como la TAC presentan limitaciones en el estudio y valoración del estadiaje del carcinoma rectal sometido a un tratamiento neoadyuvante previo[106, 107].

La ecografía endorrectal tiene una sensibilidad del 94% en la detección de invasión local del carcinoma rectal antes de realizar cualquier tratamiento[108]. Esta sensibilidad baja hasta el 47% cuando el paciente es sometido a un tratamiento neoadyuvante previo, debido a los distintos cambios que se producen tras la radioterapia y quimioterapia sobre el lecho tumoral y tejidos adyacentes además de una posible fibrosis y edema sobre la pared rectal.

En un estudio epidemiológico prospectivo realizado por Napoleón y colaboradores [109] comparó la sensibilidad de la ecografía endorrectal en los casos que habían sido sometidos a radioterapia previa frente a los casos donde no se había realizado, demostrando en ambas situaciones una seguridad diagnóstica en la infiltración de ganglios linfáticos, aunque la detección del grado de invasión en profundidad de la pared rectal era significativamente más alto en el grupo que no había sido sometido a radioterapia prequirúrgica.

2.7- TRATAMIENTO NEOADYUVANTE DEL CARCINOMA RECTAL

Tratamiento neoadyuvante: Es aquel tratamiento quimioterápico o radioterápico prequirúrgico que se utiliza para conseguir que un tumor que por su tamaño o por su extensión loco-regional (estadios avanzados, estadio III) no es quirúrgico en ese momento, pase a serlo. También se incluiría a aquel tratamiento que se emplea en pacientes que de entrada son candidatos a cirugía pero que por otros motivos se piensa que pueden beneficiarse de un tratamiento con QT.

Los objetivos que persigue son: aumentar la supervivencia, aumentar el número de pacientes con tratamiento conservador y conocer la sensibilidad del tumor a la quimioterapia.

Ante la similitud de los términos neoadyuvante y adyuvante, es conveniente definir este segundo término.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tratamiento adyuvante, complementario o postquirúrgico: Uso de un tratamiento sistémico después de que un tumor primario sea controlado localmente por otro método (cirugía o radioterapia).

2.7.1 RADIOTERAPIA

La radioterapia puede utilizarse con varios fines en el contexto del cáncer de recto, el uso más común es, junto con la quimioterapia, como tratamiento neoadyuvante con el objetivo de reducir la recidiva local, disminuir la clínica local (tenesmo, sangrado) y mejorar la supervivencia a largo plazo. Asimismo, puede utilizarse con fines paliativos en tumores primarios o recidivas tumorales con enfermedad pélvica agresiva y en algunos de estos pacientes puede disminuir el volumen tumoral y permitir la revaloración de una posible intervención con fines curativos. También puede utilizarse con la intención de erradicar tejido microscópico residual después de una cirugía con finalidad curativa y, por último, puede utilizarse en casos muy seleccionados y, aunque suscita controversias, en carcinomas de recto pequeños y relativamente localizados con el fin de poder realizar una resección limitada pero conservando la función de los esfínteres.

De 34 estudios comparativos sobre la radioterapia en el cáncer de recto, en 25 de estos trabajos se ha comparado un grupo de pacientes tratados con radioterapia y cirugía (17 de ellos tratados con radioterapia preoperatoria y 8 con radioterapia postquirúrgica) con otro grupo tratado sin radioterapia; en 3 ensayos se han comparado la radioterapia preoperatoria con la postoperatoria[77, 78, 110]. En 1 se ha comparado de forma prospectiva el esquema largo con el corto en radioterapia preoperatoria [111] y en otra publicación se revisaron las diferencias entre la irradiación únicamente sobre la pelvis con la irradiación conjunta de la pelvis, el hígado y los ganglios paraaórticos[112]. Por último, en un trabajo de publicación reciente se ha evaluado el uso de refuerzo con radioterapia endocavitaria[113]. Según sus resultados se recomienda el tratamiento neoadyuvante con quimiorradioterapia en las neoplasias de recto en estadios II y III y preferiblemente en cursos largos. Sin embargo, este tratamiento no está libre de puntos controvertidos, algunos de los cuales siguen en evaluación en diferentes ensayos que se están realizando en diversos centros.

La radioterapia preoperatoria se realiza tanto sobre 4 campos (anteroposterior-posteroanterior y 2 laterales) como sobre tres campos (posteroanterior y 2 laterales). Los dos esquemas más conocidos son: el de corta duración (25 Gy en 5 sesiones durante 5 días con intervención quirúrgica la siguiente semana) más usado en el norte de Europa, y el de larga duración (45 Gy en 25 sesiones de 1,8 Gy diarios durante 5 semanas, con un periodo de reposo preoperatorio de 5-8 semanas), más utilizado en el resto de Europa.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las **ventajas** de la radioterapia preoperatoria son:

- Una mejor respuesta al efecto biológico debido a la oxigenación tisular (mayor en tejido cicatricial) con una mejor respuesta con dosis menores;
- Una disminución del tamaño de las lesiones vegetantes con una menor siembra intraoperatoria de células neoplásicas viables [114].
- Una mayor preservación de esfínteres cuando se utilizan dosis elevadas en lesiones del recto inferior [115].
- Una menor morbilidad entérica actínica al disminuir la dosis que recibe el intestino delgado cuando se trata una pelvis no intervenida y en la que la reflexión peritoneal impide al intestino delgado situarse en el campo de la irradiación.

Otra ventaja adicional de la radioterapia prequirúrgica es que el colon que se utiliza para realizar anastomosis es sano, ya que se sitúa en un campo que no recibe radioterapia.

El **inconveniente** más importante del tratamiento radioterápico preoperatorio es la posibilidad de sobretratamiento. Para intentar minimizar esta posibilidad, debe realizarse una estadificación preoperatoria adecuada, completa y eficaz, tanto locorregional como a distancia; para lo que se utiliza en la actualidad la TAC abdominal y la ecografía endorrectal. Algunos grupos han sustituido progresivamente la ecografía endorrectal por la resonancia magnética debido a su mayor fiabilidad en la evaluación de la invasión de la pared rectal (94% en la resonancia magnética y 69% en la ecografía endorrectal) [116]), aunque otros muestran unos resultados tan fiables con la ecografía endorrectal (64% en la evaluación de la pared y 60% en los ganglios) como con la resonancia magnética (64% y 62% respectivamente) [117] y reservan el uso de la resonancia magnética para los pacientes con lesiones estenóticas del recto superior o del área rectosigmoidea en donde es difícil realizar una ecografía endorrectal.

En lo que se refiere al tratamiento adyuvante o tratamiento postquirúrgico, diferentes estudios realizados durante la década de los ochenta demostraron la efectividad del tratamiento adyuvante en el cáncer de recto. En el Gastrointestinal Tumor Study Group (GITSG) se evaluó a 202 pacientes que fueron aleatorizados en 4 grupos: sólo cirugía, radioterapia postoperatoria y quimiorradioterapia postoperatoria. Los pacientes que recibieron tratamiento combinado presentaron una reducción significativa en el porcentaje de recidiva local (11%) y un aumento en la supervivencia a los 5 años (59%) en comparación con los que no recibieron tratamiento adyuvante (24% y 44% respectivamente). Estos resultados han sido confirmados en otros estudios multicéntricos [118, 119] por lo que en 1990 el

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Instituto de Salud Americano concluyó que el tratamiento postoperatorio con quimiorradioterapia debería estandarizarse[120].

En un inicio la radioterapia se indicaba después de la resección del tumor primario y solo se utilizaba en el período preoperatorio en las lesiones inicialmente irresecables, con la intención de revalorar su resecabilidad según la respuesta. Sin embargo, el tratamiento preoperatorio se ha ido incrementando paulatinamente debido a las ventajas que produce sobre el uso postoperatorio.

La bibliografía sobre el tratamiento con radioterapia preoperatoria sigue estando sujeta a controversia debida a las distintas dosis administradas y al tipo de cirugía realizada. Sin embargo, en todos los estudios, excepto en dos, se ha observado una reducción del índice de recidivas locales al combinar cirugía con radioterapia. Se debe señalar que el único estudio prospectivo en el que se ha realizado una cirugía considerada como óptima es el holandés[121] en el que se realizó una exéresis total del mesorrecto en las lesiones del recto medio y distal, y una exéresis hasta por lo menos 5cm. distales al borde caudal de la neoplasia en los tumores del recto proximal, con el objetivo de conseguir unos índices de recidiva local sin tratamiento adyuvante inferiores al 10%. En el estudio holandés, el índice de recidiva local para el grupo en el que sólo se realizó cirugía es del 8,2% frente al 2,4% del grupo que recibió radioterapia prequirúrgica. Sin embargo estos resultados son los observados a los dos años del tratamiento. Si se tiene en cuenta que el 55-80% de las recidivas locales de las neoplasias de recto ocurren en los dos primeros años de seguimiento[121], la probabilidad de recidiva a los 5 años en dicho estudio es del 12,1%. Por esta razón, el grado de calidad de la cirugía realizada en el estudio holandés ha sido cuestionado por algunos autores[122], que remarcan la importancia de los estándares de calidad en la cirugía del recto, que deben ser aplicados de forma sistemática en la práctica clínica y obligados en los estudios del tratamiento de las neoplasias de recto, con el fin de evaluar el tratamiento adyuvante de una forma objetiva.

2.7.2 DOSIS DE RADIOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

En los carcinomas rectales en estadios avanzados, la radioterapia prequirúrgica realizada como tratamiento neoadyuvante tan solo es óptima frente a la cirugía sola, si se administran dosis superiores a 20 Gy, observándose diferentes índices de recurrencia local en el caso contrario[123, 124].

Berger y colaboradores expusieron unos factores que predecían una mejor respuesta al tratamiento, entre los que se incluían el estadio clínico, grado de diferenciación tumoral y periodo de tiempo que pasa entre la radioterapia y la cirugía[124].

2.7.3 EFECTOS ADVERSOS DE LA RADIOTERAPIA PREQUIRÚRGICA

La radioterapia prequirúrgica se asocia a diversos efectos adversos.

En dos estudios se demostró que la morbilidad y/o mortalidad postquirúrgica se incrementaba en los casos donde se realizaba tratamiento neoadyuvante frente a los casos donde solo se realizaba cirugía como única actitud terapéutica. Entre estos efectos adversos se encontraban problemas cardiovasculares de diferente índole y complicaciones tromboembólicas[125, 126].

En un estudio epidemiológico prospectivo que utilizó una muestra de 1027 casos a los que se les administró tratamiento radioterápico previo a cirugía, se expusieron unos resultados donde la radioterapia incrementaba el riesgo de tromboembolismo venoso, fracturas de cadera, obstrucción intestinal y fístulas postquirúrgicas[127].

A nivel experimental, McCue y colaboradores demostraron en ratas un mayor riesgo de que se origine un carcinoma colorrectal en el lugar de anastomosis cuando se somete al paciente a radioterapia prequirúrgica, incrementándose también este riesgo en los casos con dosis administradas más altas[128].

Aunque algunos autores han expresado su convicción de que la radioterapia prequirúrgica produce una alta incidencia de complicaciones sobre las áreas de anastomosis[129], los únicos estudios orientados en demostrar tales efectos adversos tan solo se han realizado en ratas.

Recientemente, Kuzu y colaboradores expusieron los resultados de sus estudios que concluían que aquellos casos sometidos a radioterapia prequirúrgica presentaban una evolución clínica similar a los casos control, sin mostrar una mayor cantidad de complicaciones en el área de anastomosis frente a aquellos casos que solo se sometían a tratamiento quirúrgico[130].

2.8- TRATAMIENTO DEL CÁNCER RECTAL

Los cuatro posibles tratamientos a los que puede ser sometido un paciente con carcinoma rectal son:

- Tratamiento quirúrgico
- Radioterapia
- Quimioterapia
- Inmunoterapia

Dependiendo del estadio en el que se encuentra la lesión neoplásica, se pueden combinar dos o más de estos tipos de tratamiento o se pueden administrar de forma consecutiva.

2.8.1 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

El tratamiento de elección del carcinoma rectal es la intervención quirúrgica. La cirugía se puede realizar mediante laparotomía media o bien mediante laparoscopia. En los dos casos se tiene como objetivo la exéresis del segmento intestinal donde se localiza el tumor junto con un margen de seguridad por ambos extremos. Durante las últimas décadas son muchos los cambios acontecidos en este campo, consiguiendo una cirugía cada vez menos agresiva y al mismo tiempo más precisa.

El estadiaje prequirúrgico es fundamental para poder decidir un tratamiento neoadyuvante adecuado y para poder realizar y seleccionar la técnica quirúrgica más conveniente para cada paciente.

Hace 25 años la mayoría de centros hospitalarios expusieron que el índice de recurrencia local tras la realización de cirugía estándar era de aproximadamente entre el 30 y 40% [131, 132]. Durante la década de los ochenta se abrieron diversos centros especializados en cirugía rectal que consiguieron índices de recurrencia local entre el 5 y 10%. Fue el profesor Bill Heald (Basingstoke, UK) quien comenzó con el debate de la importancia de la escisión mesorrectal total durante la realización de la técnica quirúrgica del carcinoma rectal, demostrando que la recurrencia local se reducía de forma considerable hasta cifras por debajo del 10% [133-135].

Hace 20 años, aproximadamente el 75% de todos los pacientes con carcinoma rectal eran sometidos a una resección abdomino-perineal con la colocación de una colostomía definitiva. Durante las últimas dos décadas ha habido

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

una tendencia hacia la realización de técnicas quirúrgicas menos agresivas con el objetivo inicial de preservación de los esfínteres y en consecuencia a incrementar la calidad de vida del paciente. En la actualidad tan solo el 10- 20% de los pacientes sufrirán una colostomía definitiva[136].

La recurrencia local tras cirugía en muchas ocasiones refleja un fallo en la técnica quirúrgica y varía de cirujano a cirujano[129].

Desde el punto de vista quirúrgico el recto es dividido en tres regiones o segmentos, alto, medio e inferior, cada uno con una longitud aproximada de 5 centímetros. La técnica quirúrgica empleada depende de la localización de la lesión neoplásica. En lesiones localizadas en segmento alto o región recto-sigmoidea puede ser realizada una resección anterior baja, donde se realiza una exéresis del segmento intestinal donde se localiza la lesión junto con un margen de seguridad de intestino libre de lesión. En lesiones localizadas en el segmento medio e incluso en las del segmento inferior (extraperitoneal) una técnica basada en la total escisión mesorrectal con preservación de esfínteres es la técnica de elección. En tales circunstancias al menos una distancia de 3,5-4 centímetros desde el vértice anal debería de ser tenida en cuenta. No se observa un incremento de la recurrencia local o reducción de la supervivencia cuando se realiza una técnica donde se preservan los esfínteres respecto a los tumores localizados a menos de 1,5-2 centímetros donde se realiza una técnica más agresiva como es la amputación abdomino-perineal[136-138]. En aproximadamente el 5-10% de los tumores localizados en tercio medio y en 30-40% de los tumores localizados en tercio inferior que presentan cierta dificultad en obtener un adecuado margen de seguridad distal junto con el tamaño de la masa tumoral con un alto nivel de infiltración y un pobre grado de diferenciación histológica obligan a la realización de resección abdomino-perineal con la colocación de una colostomía permanente, independientemente de la localización del tumor. Por lo general la mortalidad por la intervención quirúrgica es de aproximadamente el 5%.

Algunos autores proponen técnicas conservadoras en algunas situaciones.

- La escisión local puede ser posible en lesiones malignas T1 que son fácilmente accesibles mediante tacto rectal, grado histológico 1 o 2, sin presencia de adenopatías y sin sospecha de infiltración en el mesorrecto, detectado mediante ecoendoscopia. En los casos T2 con grado 1 o 2 el debate está abierto.
- Resección local más radioterapia: durante los últimos años ha sido probada esta práctica, aunque el papel de la radioterapia postquirúrgica no ha sido del todo aclarado[139].

- Radioterapia endocavitaria: puede ser utilizada en algunos casos de pacientes de elevada edad donde existan contraindicaciones para la intervención quirúrgica[140].

2.8.2 TOTAL ESCISIÓN MESORRECTAL: IMPORTANCIA DEL MARGEN DE RESECCION CIRCUNFERENCIAL

Quirque y colaboradores[129] resaltaron la importancia de la afectación del margen quirúrgico circunferencial mediante la exposición de datos estadísticos que reflejaban que hasta el 85% de los pacientes presentaban recurrencia locales si tras intervención quirúrgica y posterior estudio histopatológico presentaban afectación del margen circunferencial.

Empezando por las dos series de Leeds y una tercera serie de 586 pacientes de Leeds, estos datos fueron confirmados por los datos del ensayo sobre la excisión mesorrectal total del grupo noruego y holandés[121, 135, 141]. Ambos ensayos que incluyen a más de 3600 pacientes demuestran que la afectación del margen de resección circunferencial es un factor predictivo de recidiva local.

Actualmente se considera esencial la determinación del estado del margen circunferencial en el estudio de las piezas de resección. Puesto que se relaciona con la calidad de la cirugía, su conocimiento es importante para el control de calidad de la cirugía realizada, y en cuanto a su relación con la enfermedad avanzada, su conocimiento es importante como factor pronóstico de recidiva local, extensión a distancia y de supervivencia [135, 141-143]. Algunos autores argumentan que la afectación del margen circunferencial refleja más una enfermedad avanzada que una técnica quirúrgica inadecuada. Para apoyar tal afirmación se basan en el hecho de que pacientes con afectación del margen circunferencial presentan menor intervalo libre de enfermedad y menor supervivencia, [144]. Birbeck y cols. [141] encontraron más posibilidades de afectación del margen circunferencial cuando el estadio Dukes era más avanzado. Sin embargo la positividad del margen circunferencial era la única variable independiente de recidiva local y supervivencia.

Las tasas de afectación del margen circunferencial varían ampliamente en los trabajos publicados[145-149], con cifras entre el 28 y el 2% Estas diferencias pueden deberse a que los pacientes pertenecientes al grupo de Guillem y cols. [146] recibieron tratamiento neoadyuvante con quimiorradioterapia, mientras que sólo el 4,3% de los pacientes del trabajo de Birbeck y cols. [141] y ninguno de los del trabajo de Nagtegaal y cols. [142] recibieron tratamiento neoadyuvante. Wibe y cols. [135] en su estudio de calidad del Norwegian Rectal Cancer Group, informan

sobre una tasa de afectación del margen circunferencial en el 9%, y sólo en el 6% de los pacientes que habían recibido radioterapia preoperatoria. Otro factor a tener en cuenta es que en algunos trabajos sólo se considera que el margen circunferencial se encuentra afecto si el borde quirúrgico está a menos de 1 milímetro. Aunque no se tienen en cuenta los otros tipos de afectación del margen circunferencial descritos en el trabajo del grupo de Leeds, en el que se diferencian hasta 6 formas de afectación del margen circunferencial, en función de si el borde quirúrgico está en contacto con la masa tumoral, con zonas de tumor sin continuidad con el tumor principal, en contacto con un ganglio linfático invadido por el tumor, o bien, en el borde quirúrgico se encuentra embolización de vasos sanguíneos, linfáticos o invasión perineural[141].

Existen ciertas discrepancias en la consideración de margen de resección circunferencial positivo entre distintos autores ya que para Quirque el margen de resección circunferencial es positivo cuando el límite de infiltración neoplásica se encuentra a menos de 1 milímetro, mientras que Nagtegaal expone que el límite tiene que ser menor de 2 milímetros. Los datos de Nagtegaal no son compartidos por el grupo noruego o de Leeds y se basan en una muestra muy reducida[145].

2.8.3 RADIOTERAPIA

La radioterapia consiste en la emisión de rayos de alta energía con el objeto de destruir las células neoplásicas. Tras la realización de una técnica quirúrgica adecuada, la radioterapia puede destruir pequeños restos de lesión neoplásica que no fueron eliminados por la cirugía. La radioterapia y la quimioterapia generalmente se utilizan de forma conjunta ya que mejoran sus efectos respecto a si se utilizasen por separado.

En el cáncer de recto la radioterapia que se administra tras la cirugía tiene como principal objetivo evitar la recurrencia local a nivel de la pelvis y también es posible su administración en el tratamiento de las recurrencias locales que están causando una clínica importante como el dolor, obstrucción, etc.

Las diferentes posibilidades de radioterapia son:

- Radioterapia externa
- Radioterapia endocavitaria
- Braquiterapia

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Radioterapia externa

La radioterapia externa concentra la radiación sobre la lesión neoplásica desde una máquina que se encuentra en el exterior del cuerpo y que se llama acelerador lineal. Este es el tipo de radioterapia que se emplea con más frecuencia en personas que padecen carcinoma colorrectal. Los tratamientos se aplican 5 días por semana durante un período de varias semanas. Cada tratamiento sólo dura unos minutos y es similar a una radiografía diagnóstica. Al igual que en las radiografías diagnósticas, la radiación pasa a través de la piel y de otros tejidos antes de alcanzar la lesión neoplásica. La exposición real a la radiación es muy rápida, y la mayor parte del tiempo se usa para colocar con precisión al paciente, a fin de que la radiación sea dirigida exactamente a la lesión neoplásica.

Radioterapia endocavitaria

La radioterapia endocavitaria, al igual que la radioterapia externa, se genera de una fuente de radiación ubicada en el exterior del cuerpo. Consiste en un dispositivo controlado manualmente que se coloca en el ano. El dispositivo emite radiación de alta intensidad durante algunos minutos. Este tratamiento se repite aproximadamente tres veces más en intervalos de alrededor de dos semanas para una dosis completa. La ventaja de este tratamiento consiste en que la radiación se dirige a través del ano y llega al recto sin pasar a través de la piel y otros tejidos del abdomen. Esto les permite a algunos pacientes, particularmente a personas de más edad, evitar la cirugía radical y la colostomía. Sólo se utiliza en casos de tumores pequeños.

Braquiterapia

La Braquiterapia (terapia de radiación interna) utiliza pequeñas pastillas de material radiactivo que se colocan junto o directamente sobre la lesión neoplásica. Algunas veces la radioterapia interna se utiliza para tratar a pacientes con carcinoma rectal, particularmente personas enfermas o ancianas que no podrían tolerar la cirugía curativa. Por lo general este es un procedimiento que se realiza en una sola vez y no requiere de visitas diarias durante varias semanas.

GENERALIDADES (REACCIONES ADVERSAS, INDICACIÓN...)

La morbilidad aguda por radioterapia afecta en mayor o menor grado a la mayoría de los pacientes y se manifiesta con alteraciones gastrointestinales, hematológicas, dermatológicas y plexopatías lumbosacras, aunque remite en unas pocas semanas[150-153]. En la literatura se describe que un pequeño porcentaje de pacientes pueden padecer cuadros graves, debidos a sépsis y problemas intestinales, que sitúan la tasa de mortalidad secundaria a radioterapia entre 0,3 y 18% [150, 151, 154]. Esta morbimortalidad tan importante se atribuye a factores del paciente (edad, diabetes, arteriosclerosis) y a la técnica de irradiación. La radioterapia también puede presentar efectos secundarios tardíos, como son oclusiones intestinales, enteritis y proctitis actínicas, cifrándose entre 4 y 15% de los casos[150, 152, 155, 156].

Con la difusión de los ensayos clínicos con radioterapia preoperatoria realizados en la década de los 90 se ha sugerido que es preferible administrar radioterapia preoperatoria[154, 157, 158] porque así se podría conseguir una menor incidencia de efectos secundarios y complicaciones, además de ser menor la probabilidad de afectación del intestino delgado.

Sin embargo, con la estandarización de la excisión mesorrectal total en el cáncer de recto, surge ahora la controversia de la necesidad o no de radioterapia prequirúrgica debido a la baja tasa de recidiva local con la total excisión mesorrectal, cifras similares a la que se obtienen con la quimiorradioterapia preoperatoria[133, 159-161].

Por tanto, teniendo en cuenta la morbilidad de la radioterapia preoperatoria y la tasa de recidiva local con la total excisión mesorrectal y con la radioterapia prequirúrgica, la cuestión pendiente sería si la pauta estándar en el cáncer de recto es la excisión total mesorrectal acompañada o no de quimiorradioterapia preoperatoria [154, 162]. La respuesta a esta cuestión se espera con los resultados de los ensayos que se encuentran en marcha actualmente. Por otra parte se debería ser más selectivo y poner el énfasis en definir qué casos, analizados individualmente, pueden beneficiarse de un tratamiento neoadyuvante basándose en factores pronósticos[157, 162].

Aumentar la supervivencia total, aumentar la ausencia de enfermedad, disminuir la tasa de recidiva local y tener menos complicaciones postoperatorias no deben ser los únicos objetivos en el tratamiento del cáncer de recto. Hay que considerar la posibilidad de ofrecer a los distintos pacientes la mejor calidad de vida posible. Así se debería de ser más crítico en la indicación de la quimiorradioterapia postoperatoria ante el deterioro de la calidad de vida que puede implicar, dejándola sólo para algunos pocos pacientes con muy alto riesgo de progresión.

QUIMIOTERAPIA

La utilización de la quimioterapia tras la cirugía incrementa la tasa de supervivencia de los pacientes con carcinoma rectal que se encuentran en determinados estadios de su evolución. A esto se le llama quimioterapia adyuvante (adicional), la cual se administra cuando no hay evidencia de lesión neoplásica, aunque persiste la posibilidad de recidiva. El objetivo de la terapia adyuvante es atacar sobre aquellas células neoplásicas que puedan haber escapado del tumor primario y puedan alojarse en otras partes del cuerpo.

La quimioterapia utiliza agentes farmacológicos que se administran por vía parenteral o por vía oral. Estos agentes llegan a cualquier zona del cuerpo por el torrente sanguíneo, lo que los hace especialmente útiles en aquellos tumores en estadio metastásico.

Entre los distintos agentes farmacológicos utilizados como quimioterapia se encuentran:

- El fluorouracilo (5-FU) es el quimioterápico que se utiliza con más frecuencia en el tratamiento del cáncer de colon. Si se administra en tratamiento adyuvante se hace conjuntamente con Leucovorín para aumentar su eficacia.
- La Capecitabina (Xeloda) es un agente que se administra por vía oral que se transforma en 5-FU una vez llega al tumor. Se puede utilizar en lugar del 5-FU intravenoso y actúa como si el 5-FU hubiera sido dado en forma continua. Los posibles efectos secundarios son náuseas, diarrea y un enrojecimiento de manos y pies que en algunos casos es acompañado de descamación de la piel.
- El Irinotecan (Camptosar) se utilizaba en el tratamiento de pacientes que no respondían a la terapia paliativa con 5-FU. Sin embargo, se ha visto que el Irinotecan combinado con el 5-FU y Leucovorín es más eficaz que el 5-FU y Leucovorín solos como primer tratamiento para las personas que padecen de carcinoma colorrectal metastásico, por lo que es habitual utilizarlo como tratamiento de primera elección en esta situación. Uno de los problemas que surgen con el Irinotecan es su mala metabolización por parte de algunos pacientes por lo que genera una importante toxicidad en estos casos. La toxicidad principal del Irinotecan se traduce en una grave diarrea y en alteraciones hematológicas en forma de recuentos sanguíneos bajos.
- El Oxaliplatino (Eloxatin) es muy eficaz cuando se utiliza con el 5-FU y Leucovorín. Su principal efecto secundario es que causa parestesias y sensación de hipertermia en varias partes del cuerpo, principalmente en brazos y piernas. Este efecto secundario puede durar meses aunque desaparece en la mayoría de los casos

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El tratamiento adyuvante más eficaz parece ser una combinación de quimioterapia llamada FOLFOX (ácido folínico, 5-FU, y Oxaliplatino). Otro régimen consiste en administrar 5-FU y Leucovorín semanalmente por infusión intravenosa rápida junto con el Oxaliplatino. Aunque esto último pueda resultar tan efectivo como FOLFOX, parece ocasionar más efectos secundarios como la diarrea.

Las terapias dirigidas son aquellas que atacan específicamente alguna zona de las células cancerosas que las hace diferentes a las células normales, por lo que los efectos secundarios son menores que los anteriores agentes quimioterápicos.

Entre los distintos agentes se encuentran:

- La Cetuximab (Erbix) es una proteína producida por el hombre, llamada anticuerpo monoclonal que ataca específicamente al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), una molécula que normalmente aparece en grandes cantidades sobre la superficie de las células cancerosas. En aproximadamente en el 10% de los pacientes cuyas lesiones neoplásicas continúan creciendo a pesar de otros tratamientos, el Cetuximab producirá una reducción en el tamaño del tumor. Este porcentaje se duplica cuando es combinado con el Irinotecan, incluso si los pacientes han sido tratados con Irinotecan anteriormente. El Cetuximab se administra por vía parenteral. El efecto secundario más grave es una reacción alérgica durante su primera infusión. Otros efectos secundarios menos graves son lesiones cutáneas, fiebre, estreñimiento y fatigabilidad.
- El Panitumumab (Vectibix) es otro anticuerpo monoclonal que ataca las células del carcinoma colorrectal, y surte efecto como el Cetuximab. Los efectos tóxicos más graves son cicatrices pulmonares, reacciones cutáneas graves y reacciones alérgicas al fármaco.
- El Bevacizumab (Avastin) es otro anticuerpo monoclonal que ha sido utilizado como tratamiento de primera línea contra el cáncer colorrectal metastásico. Se administra junto con otros agentes quimioterápicos. Este anticuerpo ataca el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), que ayuda a los tumores a desarrollar nuevos vasos sanguíneos para obtener nutrientes (angiogénesis). La administración es por vía parenteral. Entre los efectos secundarios más graves destacan el sangrado, perforaciones intestinales y cicatrización lenta de las heridas, mientras que entre los efectos secundarios más frecuentes se incluyen la hipertensión arterial, formación de trombos, leucopenias, cefaleas, úlceras de la mucosa bucal, pérdida de peso, diarrea.

En la actualidad se están realizando diversos estudios clínicos donde se utilizan diferentes combinaciones de agentes de quimioterapia y terapias dirigidas.

2.8.5 INMUNOTERAPIA

La terapia biológica es un tratamiento que utiliza el sistema inmunitario del paciente para combatir el cáncer. Sustancias fabricadas por el mismo cuerpo o fabricadas en el laboratorio se utilizan para reforzar, dirigir o restaurar las defensas naturales del cuerpo contra el cáncer. Este tipo de tratamiento del cáncer se conoce como bioterapia o inmunoterapia.

In vivo, el sistema inmune rechaza las células tumorales de varias maneras: citotoxicidad celular mediada dependiente de anticuerpos, citotoxicidad dependiente del complemento, lisis por células asesinas naturales e inmunidad mediada por células T. Los anticuerpos monoclonales destruyen las células tumorales por la citotoxicidad celular mediada dependiente de anticuerpos [163].

La citotoxicidad celular mediada dependiente de anticuerpos ocurre cuando la Fc terminal del anticuerpo se une al receptor Fc de una célula efectora (monocito, macrófago o célula asesina natural) y la Fab terminal de la molécula se une al antígeno específico tumoral celular. Al cruzarse las dos células, la célula efectora lisa y destruye a la célula tumoral.

El antígeno tumoral ideal es aquel que sea expresado exclusivamente por la célula tumoral; esto permite que el anticuerpo lo identifique selectivamente. Uno de los más conocidos es el 17-1 A proveniente de tumores epiteliales, tales como el carcinoma colorrectal [163].

Los anticuerpos monoclonales son selectivos en enfermedad micrometastásica; además, las células que forman el clon metastásico están en estado de hibernación por lo que son resistentes a los agentes quimioterapéuticos, en cambio los anticuerpos monoclonales actúan independientemente del ciclo celular.

A diferencia de los malos resultados en enfermedad avanzada, el 17-1 A ha demostrado servir como terapia adyuvante. En 1994, Riethmuller documentó un 30% de aumento de la supervivencia a los 5 años en pacientes con estadio Dukes C que recibieron 17- 1 A. El efecto fue mayor en el control de la enfermedad distante que en la recurrencia local [164].

Los anticuerpos monoclonales se utilizan de diversas maneras en la enfermedad maligna; se pueden radiomarcarse para efectos diagnósticos; se les puede poner fármacos, citotóxicos o radioisótopos para efectos terapéuticos [165].

Inicialmente, los anticuerpos monoclonales eran extraídos de ratones inmunizados, de ahí, el término murino, pero el desarrollo de anticuerpos humanos anti-murinos que se detectaron entre el 15 y el 100% de los pacientes, los cuales

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

atacaban los anticuerpos monoclonales y neutralizaban su acción, obligó a que se desarrollaran otros tipos de anticuerpos monoclonales [165].

Los anticuerpos quiméricos son producto de la unión de una región constante humana a las regiones variables de los anticuerpos murinos. Con lo anterior se busca disminuir los anticuerpos humanos anti-murinos aunque la inmunidad es menor posiblemente porque generan una menor respuesta inflamatoria y anti-idiotípica, la cual estimula respuestas inmunes tales como producción de interleucina 2 (IL 2) y proliferación linfocitaria[163].

Los anticuerpos bioespecíficos son producidos artificialmente al cruzar dos anticuerpos, uno dirigido contra el antígeno de superficie de la célula tumoral y el otro contra una molécula estimuladora de la célula efectora (complejo célula T receptora).

2.8.6 ELECCIÓN DEL TIPO DE TRATAMIENTO

El tratamiento del carcinoma rectal viene determinado principalmente por el estadio de evolución en el que se encuentra.

CANCER RECTAL EN ESTADIO 0

El cáncer rectal en estadio 0 es la forma más superficial de presentarse la lesión neoplásica. En el estadio 0 la infiltración de la celularidad neoplásica queda limitada a nivel de la mucosa rectal.

Opciones terapéuticas:

1. Escisión local o polipectomía simple.
2. Resección de la mucosa rectal en todo su espesor por vía transanal
3. Irradiación endocavitaria [166-168].
4. Radioterapia local [166].

CANCER RECTAL EN ESTADIO 1

El estadio 1 se corresponde con el estadio A de Dukes o con el estadio A y B1 de Astler- Coller. Se trata de un estadio de enfermedad localizada con un alto índice de curación.

Opciones terapéuticas:

1. Resección quirúrgica amplia y anastomosis: es la denominada resección anterior baja con anastomosis coloanal.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. Resección quirúrgica amplia con resección abdominoperineal en aquellas situaciones donde el tumor se encuentre en un segmento tan distal que no permite una anastomosis termino terminal.
3. Escisión local: casos T1 con diámetro tumoral máximo inferior a 4 cm. Casos grado 1-2 sin afectación venosa o extensión perineural. Pacientes con T2 tienen un riesgo de afectación ganglionar de 18, 26 y 40% para grados 1,2 y 3 respectivamente y deberían ser tratados también con quimioterapia y radioterapia adyuvante [139, 169-171]
4. Radioterapia endocavitaria: en casos donde el tumor sea de menos de 3 centímetros de diámetro máximo y en grados 1-2 sin ulceración [140, 172].

CANCER RECTAL ESTADIO II

El estadio II se corresponde con el estadio B de Dukes o con el estadio B2 y B3 de Astler-Coller.

Opciones terapéuticas:

1. Resección quirúrgica amplia y resección anterior baja con reanastomosis colorrectal o coloanal cuando sea factible, seguida de quimioterapia y radioterapia postoperatoria, preferiblemente mediante participación en un ensayo clínico [119, 173-176].
2. Resección quirúrgica amplia con resección abdominoperineal con quimioterapia adyuvante y radioterapia postoperatoria [177, 178].
3. Exenteración pélvica parcial o total en la rara situación en que haya invasión vesical, uterina, vaginal o prostática, con quimioterapia adyuvante y radioterapia postoperatoria,
4. Radioterapia preoperatoria con quimioterapia, o sin ella, seguida de cirugía con intento de preservar la función del esfínter con quimioterapia adyuvante subsiguiente [155, 176, 179, 180].
5. En instituciones que cuentan con los instrumentos apropiados, se podría considerar la radioterapia intraoperatoria con haz de electrón (IORT por sus siglas en inglés) en los sitios con residuos microscópicos o masivos de enfermedad, después de una extirpación quirúrgica. Cuando se ha combinado con quimioterapia y radioterapia de haz externo en pacientes bien seleccionados, la IORT con o sin FU-5 ha dado como resultado mejor control local en las experiencias obtenidas en instituciones individuales [181].

CANCER RECTAL EN ESTADIO III

Se corresponde con el estadio C de Dukes o con el estadio C1-C3 de Astler – Collier

El cáncer rectal en estadio III implica enfermedad con afectación de ganglios linfáticos. El número de ganglios linfáticos positivos afecta el pronóstico: los pacientes con infiltración neoplásica de 1 a 3 ganglios tienen una supervivencia superior a los que tienen 4 o más ganglios comprometidos.

Un ensayo aleatorio efectuado por el Gastrointestinal Tumor Study Group demostró un incremento tanto en el intervalo libre de enfermedad como en la supervivencia general cuando se combina la radioterapia con la quimioterapia después de la resección quirúrgica, en pacientes cuyo cáncer rectal ha penetrado a través de la pared intestinal a la grasa perirrectal (estadio II) o ha producido metástasis en los ganglios linfáticos regionales (estadio III)[173]. Se ha observado una mayor supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer rectal en estadio III tratados con quimioterapia y radioterapia comparados con los tratados con radiación sola[119, 120].

Opciones de tratamiento:

1. Amplia resección quirúrgica y resección anterior baja con reanastomosis colorrectal o coloanal cuando sea posible, seguida de quimioterapia y radioterapia postoperatoria[119, 173-175].
2. Resección quirúrgica amplia con resección abdominoperineal con quimioterapia adyuvante y radioterapia postoperatoria[120, 138, 177, 178].
3. Exenteración pélvica total o parcial en el caso infrecuente de que haya invasión vesical, uterina, vaginal o prostática, con quimioterapia adyuvante y radioterapia postoperatoria.
4. Radioterapia preoperatoria con quimioterapia o sin ella, seguida de cirugía con intento de preservar la función del esfínter con quimioterapia adyuvante posterior [176, 179, 180].
5. En instituciones que cuentan con los instrumentos apropiados, se podría considerar la radioterapia intraoperatoria con haz de electrón (IORT por sus siglas en inglés) en los sitios con residuos microscópicos o masivos de enfermedad, después de una extirpación quirúrgica. Cuando se ha combinado con quimioterapia y radioterapia de haz externo en pacientes bien seleccionados, la IORT ha dado como resultado mejor control local en la experiencia obtenida en una sola institución.[181].
6. Quimiorradiación paliativa.

CANCER RECTAL EN ESTADIO IV

Se corresponde con el estadio D de Astler-Coller.

El cáncer del recto en estadio IV implica una enfermedad con metástasis a distancia. Los métodos para tratar las metástasis hepáticas incluyen la resección parcial del hígado o la administración de quimioterapia intraarterial con portas de infusión o bombas implantables. Para los pacientes con metástasis hepáticas en número limitado (tres o menos) se puede tener en cuenta la posibilidad de resección, que ha dado como resultado una tasa de 20- 40% de supervivencia a los 5 años[182-188]. Se han usado otras técnicas ablativas locales para tratar las metástasis del hígado, incluso criocirugía, embolización y radioterapia intersticial[189, 190]. Para aquellos pacientes con metástasis hepáticas consideradas no resecables (debido a factores tales como la localización o a un excesivo número de las mismas) se considera que la ablación crioquirúrgica está relacionada con un control tumoral a largo plazo. Las variables de pronóstico que predicen un resultado positivo de la crioterapia, son similares a las de resecado hepático, e incluyen los niveles bajos de antígeno carcinoembrionario (CEA) preoperatorio, ausencia de enfermedad extrahepática, márgenes negativos y ganglios linfáticos negativos para la presencia de células infiltrantes [191].

Los pacientes con metástasis pulmonares en número limitado, así como aquellos con tanto metástasis pulmonares como hepáticas, también podrían ser tenidos en cuenta para resección quirúrgica y se puede esperar una supervivencia superior a 5 años[188, 192, 193]. Resulta falso el papel de la terapia sistémica adicional, después de una resección potencialmente curativa de una metástasis del hígado. Un ensayo de floxuridina hepática arterial más fluorouracilo sistémico (FU-5) más leucovorina, mostró una mejoría a 2 años en cuanto a la supervivencia en general y la supervivencia libre de enfermedades (86% versus 72%, $P = 0,03$) en comparación con la terapia sistémica de FU-5 sola[194].

La quimioterapia intra arterial hepática con floxuridina para tratar las metástasis hepáticas ha producido tasas mayores de respuesta general pero sin una mejora constante de la supervivencia cuando se compara con la quimioterapia sistémica[195-199]. La polémica con respecto a la eficacia de la quimioterapia local ha llevado al inicio de un ensayo clínico de fase III con participación de múltiples instituciones (CALGB-9481) comparando la infusión hepática arterial con la quimioterapia sistémica.

La quimioterapia ha sido usada paliativamente en el cáncer recurrente del recto y en el que se encuentra en estadio IV, considerándose estándar el tratamiento a base de 5-FU[174, 200, 201]. El 5-FU ha resultado ser más citotóxico y, al combinarse con

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

leucovorina o metotrexato, muestra mejores tasas de respuesta pero con efectos variables en la supervivencia[202-208]. Algunos ensayos clínicos aleatorios muestran que el interferón alfa parece incrementar la toxicidad en la terapia de 5-FU pero sin contribuir con ningún beneficio clínico[209, 210]. Los regímenes de infusión continua de 5-FU también han dado como resultado una tasa más elevada de respuesta en algunos estudios y una ligera mejoría de la supervivencia media[211]. Regímenes orales que usan profármacos de 5-FU o inhibidores de dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) (GW 776C85) simulan farmacológicamente infusiones continuas y están bajo evaluación clínica[212]. La opción de quimioterapia a base de 5-FU para un paciente debe basarse en las tasas de respuestas conocidas y en el perfil de toxicidad del régimen escogido, al igual que con el coste y la calidad de vida[213, 214].

Opciones de tratamiento:

1. Resección quirúrgica/anastomosis o derivación de las lesiones obstructivas en casos seleccionados o resección de carácter paliativo[215].
2. Resección quirúrgica de metástasis aisladas (hígado, pulmón, ovarios)[182, 195, 216, 217].
3. Quimiorradiación con carácter paliativo local [218, 219].
4. Quimioterapia sola con presencia de enfermedad a distancia después de la resección de la enfermedad local.
5. Ensayo clínico en el que se evalúan nuevos fármacos y bioterapias.

CANCER RECTAL RECURRENTE

El cáncer rectal que recurre localmente puede ser reseccable, en especial si ya se había realizado una intervención quirúrgica con resultados inadecuados.

Para los pacientes con recurrencia local después de un intento inicial de resección curativa, la terapia local agresiva, la resección abdominoperineal o exenteración pélvica total o posterior puede llevar a un período de supervivencia prolongado sin enfermedad[220].

La utilización de la quimiorradioterapia en pacientes no irradiados previamente con recurrencias pélvicas localizadas en estado avanzado (invasión de la pared pélvica, el sacro, o los órganos adyacentes), puede aumentar la posibilidad de resección permitiendo una cirugía más conservadora con la conservación del esfínter anal[221, 222].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La radioterapia intraoperatoria en aquellos pacientes con enfermedad local recurrente que hubieron recibido radiación de haz externo previamente, podría mejorar el control local con una morbilidad aceptable [223].

La presencia de hidronefrosis asociada con la recurrencia parece ser una contraindicación para la cirugía con intenciones curativas [224]. Para algunos pacientes bien seleccionados con metástasis limitadas en número localizadas en pulmón, se puede considerar la resección y se puede esperar una posibilidad de supervivencia superior a 5 años [188, 192, 193].

La quimioterapia ha sido usada de forma paliativa en el cáncer recurrente de recto y en el que se encuentra en estadio IV, considerándose estándar el tratamiento a base de fluorouracilo (5-FU) [174].

El FU-5 ha demostrado ser más citotóxico y al combinarse con leucovorina [202-208], metotrexato] u otros agentes [225-228], muestra mejores tasas de respuesta aunque con efectos variables en la supervivencia. Algunos ensayos clínicos aleatorios muestran que el interferón alfa parece agregar toxicidad a la terapia de FU-5 sin producir ningún beneficio clínico [209, 210]. Los regímenes de infusión continua de FU-5 también han dado como resultado una tasa más elevada de respuesta en algunos estudios, y un beneficio escaso en la supervivencia media [211]. Los beneficios de la infusión continua de FU-5 en comparación con regímenes de bolo han sido resumidos en un metaanálisis. Regímenes orales que usan profármacos de FU-5 o inhibidores de DPD (GW 776C85) simulan farmacológicamente infusiones continuas y están bajo evaluación clínica [212]. La opción de quimioterapia a base de FU-5 para un paciente individual debe fundarse en las tasas de respuestas conocidas y en el perfil de toxicidad del régimen escogido, al igual que valorar aspectos relacionados con el coste y la calidad de vida [213, 214].

Entre los métodos innovadores que intentan alterar los patrones de toxicidad y mejorar potencialmente los beneficios clínicos figura la terapia cronomodulada en la que se varían las dosis de los fármacos durante el día para poder administrar dosis de mayor intensidad sin aumentar los efectos adversos [229].

El Irinotecan (CPT-11) es un inhibidor de la Topoisomerasa-I con una tasa de respuesta parcial del 10-20% en los pacientes afectos de cáncer de recto con metástasis a distancia, en los pacientes que no han recibido quimioterapia previamente y en los pacientes que están siendo tratados con terapia de FU-5 [230, 231]. Hoy día es considerado como tratamiento estándar en aquellos pacientes en estadio IV que no responden ante el FU-5 [232].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En un par de ensayos europeos aleatorios realizados con pacientes de cáncer colorrectal refractarios al FU-5, el CPT-11 ha sido comparado con ambos; el re-tratamiento con FU-5 y el mejor apoyo terapéutico. En ambos ensayos hubo una ventaja tanto en la calidad de vida como en la supervivencia entre los pacientes tratados con CPT-11 sobre los tratados con FU-5 o apoyo terapéutico[233, 234].

Se diseñaron dos ensayos controlados, aleatorios, prospectivos en fase III, para evaluar la combinación de FU-5, leucovorina y CPT-11 con FU-5 y leucovorina sola. El primero de estos ensayos comparó el bolo de FU-5, leucovorina, y CPT-11, con el bolo de FU-5 y leucovorina sola y al CPT-11; el objetivo primario fue la supervivencia sin evolución de enfermedad [234]. El ensayo demostró un beneficio significativo en términos de tasas de respuestas confirmadas, tiempo transcurrido hasta la evolución del tumor y supervivencia en general [234]. El tratamiento combinado mostró respuestas confirmadas en el 39% de los pacientes en comparación con el 21% de los pacientes tratados con FU-5 y leucovorina solamente, y el 18% de los pacientes tratados con CPT-11. Este beneficio favoreció de manera significativa el uso de la combinación. Además, el tiempo transcurrido hasta la evolución del tumor, se prolongó de forma significativa con el uso de la combinación (7,0 versus 4,3 meses, $P = 0,004$). También la combinación mejoró la supervivencia media; la supervivencia media fue de 14,8 meses en los pacientes que se encontraban en el grupo de combinación y de 12,6 meses para pacientes tratados con FU-5 y leucovorina ($P = 0,042$).

Otro fármaco, el **Tomudex**, es un inhibidor específico de la Timidilato sintetasa y ha demostrado una actividad similar a la del bolus FU-5 y la leucovorina [235, 236].

El Oxaliplatino solo o combinado con FU-5 y leucovorina ha presentado resultados alentadores en pacientes con cáncer colorrectal con metástasis a distancia; tanto en pacientes que habían recibido tratamiento previo como en los que no, y en pacientes que no responden al FU-5 [237, 238]. Un ensayo llevado a cabo en múltiples centros, concluye con una tasa de respuesta del 21%, una supervivencia media sin progresión de la enfermedad de 5 meses, y una supervivencia media de 11 meses [239]. La supervivencia general a partir de la quimioterapia de primera línea fue de 19 meses. En este ensayo el Oxaliplatino se administró primero, seguido de una infusión de 48 horas con FU-5, con infusiones cortas de leucovorina.

Los comités de datos y seguridad en el monitoreo de los grupos cooperativos que conducen estudios en los que se compara que tan valioso es el FU-5/leucovorina/CPT-11 con FU-5/leucovorina en el entorno adyuvante y a FU-5/leucovorina/oxaliplatino o oxaliplatino/CPT-11 en el entorno de enfermedad avanzada, ha suspendido el registro de nuevos pacientes en estos ensayos debido al inesperado aumento en la tasa de mortalidad en el grupo de FU-5/leucovorina/CPT-

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

11[240]. Este régimen de 3 fármacos parece ser más tóxico de lo que se había informado inicialmente. La mayor parte de las muertes ocurridas en ambos estudios se presentaron en los primeros 60 días, generalmente durante el primer ciclo de quimioterapia. Esto podría implicar una mayor sensibilidad en una minoría de los pacientes, posiblemente con base en diferencias genéticas en los pasos claves en la activación/desactivación metabólica del Irinotecán, FU-5, o ambos agentes. Análisis adicionales podrían proveer cierta guía en el ajuste de las dosis para el ciclo inicial, la selección de pacientes o ambos. Por el momento, el uso de este régimen debe estar acompañado de una atención cuidadosa a las primeras señales de diarrea, deshidratación, neutropenia, u otros efectos tóxicos, sobre todo durante el primer ciclo de quimioterapia.

Opciones de tratamiento: La resección del cáncer rectal que recurre localmente puede ser paliativa o curativa en pacientes seleccionados [215].

1. La resección de metástasis hepáticas en pacientes seleccionados (la tasa de curación a 5 años con resección de metástasis solitarias excede el 20%)[182, 216, 217, 233, 241].
2. Resección de metástasis aisladas pulmonares u ováricas.
3. Radioterapia paliativa [223, 232].
4. Quimioterapia paliativa [203, 204, 225, 242].
5. Quimiorradiación paliativa.
6. Colocación endoscópica de férula para eliminar la obstrucción como medida paliativa [243].

Las recurrencias en el cáncer de colon y recto pueden diferir, mientras que en los tumores localizados en colon se suelen producir en su evolución metástasis hepáticas, los tumores de recto suelen recurrir más frecuentemente a nivel local. Esta distinta forma de evolución condiciona un abordaje terapéutico distinto.

2.9- ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL CARCINOMA COLORRECTAL

2.9.1 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Las características macroscópicas vienen determinadas por la fase o el momento del estadio evolutivo en que el tumor es diagnosticado.

Los carcinomas rectales pueden presentar un crecimiento intraluminal, exofítico dando la apariencia de una estructura fungosa. También pueden adoptar un crecimiento endofítico dando una imagen macroscópica de lesión ulcerada. Otra forma de posible presentación es en forma de infiltración difusa o de linitis plástica con un crecimiento endofítico difuso. Por último también puede adoptar un crecimiento anular afectando a toda o parte de la circunferencia de la pared rectal, ocasionando una estenosis evidente de la luz.

Los carcinomas localizados en el colon proximal o segmento de colon derecho presentan una tendencia a un crecimiento en forma de masas exofíticas, mientras que las lesiones neoplásicas localizadas en segmentos de colon transverso, descendente, sigma y recto presentan un predominantemente crecimiento endofítico y anular.

A la sección de un carcinoma, casi todos presentan una apariencia relativamente homogénea aunque también es posible observar en algunas ocasiones áreas de necrosis, y si se trata de carcinomas mucinosos se observa la presencia o el desprendimiento de un material de apariencia mucoide.

2.9.2 HISTOPATOLOGÍA

La forma más frecuente de presentación de la lesión tumoral localizada en recto es en forma de adenocarcinoma rectal.

La característica que mejor define al adenocarcinoma rectal es la invasión o infiltración de celularidad epitelial maligna a través de la muscularis mucosae alcanzando la submucosa. Si la celularidad neoplásica no invade la muscularis mucosae y su presencia queda limitada a la lámina propia, en dicha situación es mínima la posibilidad de metástasis a distancia, denominando esta situación como una neoplasia intraepitelial.

El adenocarcinoma rectal se compone de un conjunto de células epiteliales cilíndricas y células globoides, con ocasional presencia de células endocrinas y la

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

excepcional presencia de células de Paneth [244]. La celularidad anteriormente descrita por lo general presenta núcleos hipercrómicos, ovoides, con polaridad alterada, presencia de nucleolo prominente y una cromatina vesiculosa. El citoplasma es abundante y la celularidad epitelial se dispone por lo general formando luces glandulares irregulares. Estas características dependen del grado de diferenciación de la lesión neoplásica. En su crecimiento o infiltración el carcinoma rectal por lo general produce una reacción inflamatoria y desmoplásica en el tejido adyacente. La mayoría de células inflamatorias son linfocitos T [245], aunque también es posible encontrar linfocitos B, células plasmáticas, histiocitos, eosinófilos y células dendríticas [246].

En su crecimiento el tumor infiltra progresivamente la pared intestinal y puede alcanzar la grasa peri-intestinal embolizando estructuras vasculares.

El límite de la lesión tumoral puede presentar focos residuales de una lesión polipoide, aunque es más frecuente la presencia de cambios hiperplásicos en las estructuras glandulares, en forma de glándulas de mayor tamaño, con luces irregulares y tortuosas y con un incremento del número de células caliciformes respecto a la mucosa normal [247], estos cambios son llamados “mucosa transicional” [248, 249]. Estos cambios son reactivos, pueden ocurrir también en otros tipos de tumores y en áreas adyacentes a una anastomosis [250-254].

GRADO DE DIFERENCIACIÓN

El grado de diferenciación del adenocarcinoma rectal se basa en la cantidad de componente glandular distinguible y en el grado de semejanza del epitelio neoplásico con el epitelio glandular intestinal.

El grado se agrupa en:

- Bien diferenciado (grado 1): la presencia de estructuras glandulares constituye más del 95% del total de la lesión neoplásica
- Moderadamente diferenciado: (grado 2): el componente glandular constituye el 50-95% del total del tumor.
- Pobrementemente diferenciado (grado 3): el componente glandular constituye entre el 5-50% de la lesión.
- Indiferenciado (grado 4): menos del 5% del tumor presenta diferenciación glandular

Cuando el adenocarcinoma rectal presenta heterogeneidad en el grado de diferenciación se debe destacar aquella área con mayor grado de diferenciación excluyendo la zona de invasión que se encuentra en profundidad [255].

Los adenocarcinomas mucinosos y de células en anillo de sello son por definición grado 3, aunque si se demuestra por estudios complementarios la inestabilidad de microsátélites más frecuente en este tipo histológico, el grado de diferenciación pierde importancia pronóstica.

CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS TUMORES MALIGNOS DE TIPO EPITELIAL EN RECTO (OMS)

1. NEOPLASIA INTREPITELIAL
ASOCIADA O NO A ENFERMEDAD INFLAMATORIA CRONICA
INTESTINAL
 - Neoplasia intraepitelial glandular de bajo grado
 - neoplasia intraepitelial glandular de alto grado
2. CARCINOMA
 - Adenocarcinoma (8140/3)
 - Adenocarcinoma Mucinoso (8480/3)
 - Adenocarcinoma tipo células en anillo de sello (8490/3)
 - Carcinoma de células pequeñas (8041/3)
 - Carcinoma de células escamosas (8070/3)
 - Carcinoma Adenoescamoso (8560/3)
 - Carcinoma Medular (8510/3)
 - Carcinoma Indiferenciado (8020/3)
3. CARCINOIDE (Neoplasias endocrinas bien diferenciadas) (8240/3)
 - Neoplasia productora de Serotonina (8241/3)
 - Tumor productor de Glucagón y PP/PYY (8244/3)
 - Otros
4. MIXTOS (Adenocarcinoma-Carcinoide) (8244/3)
5. OTROS.

TIPOS HISTOPATOLÓGICOS DE CARCINOMAS RECTALES

ADENOCARCINOMA MUCINOSO

Comprenden aproximadamente el 15% de los carcinomas colorrectales y su localización más frecuente es el recto.

Se asocian más frecuentemente a la presencia de adenomas que el convencional adenocarcinoma.

Se define como la lesión neoplásica de tipo epitelial constituida por >50% de componente coloide o mucinoso [256]. Esta variedad se caracteriza por presentar abundantes lagos de moco que bañan a la celularidad neoplásica epitelial que adopta un patrón en estructuras acinares, formando estructuras cordonaes o de forma aislada [257].

El material mucinoso puede localizarse también a nivel intracelular dando a la célula neoplásica una apariencia en anillo de sello al desplazar a su núcleo hacia la periferia [256], por lo general estas lesiones adoptan macroscópicamente una apariencia exofítica [258].

Esta variedad se asocia frecuentemente y de forma característica con aquellos carcinomas con inestabilidad de microsatélites.

El adenocarcinoma mucinoso presenta un peor pronóstico que el adenocarcinoma típico, sobre todo cuando se localiza en recto o son lesiones que se diagnostican en estadio B [256, 259, 260].

ADENOCARCINOMA CON CELULAS TIPO ANILLO DE SELLO (CARCINOMA TIPO LINITIS PLÁSTICA)

Se define por la presencia de células neoplásicas con abundante material mucinoso intracitoplasmático ocupando una extensión superior al 50% [261]

Afecta a pacientes en edades más tempranas de la vida.

Macroscópicamente se suele presentar en forma de infiltración difusa de la pared rectal [262].

Microscópicamente el tumor infiltra adoptando un patrón difuso, no apreciándose formación de estructuras glandulares [263, 264]. La celularidad neoplásica presenta mucina intracelular con desplazamiento del núcleo, lo que contrasta con la variedad del adenocarcinoma mucinoso donde la mucina predominante es a nivel extracelular.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El pronóstico es infausto. La lesión suele metastatizar antes a los ganglios linfáticos regionales, en continuidad al peritoneo y ovarios en mujeres que dar metástasis a distancia en hígado [265, 266].

Se debe realizar el diagnóstico diferencial con el carcinoma gástrico difuso metastásico mediante estudio inmunohistoquímico donde el resultado de CK7- y de CK20+ apoya el diagnóstico de primario intestinal, mientras que si el resultado es de CK7+ y CK20- iría a favor de un carcinoma gástrico [267-269].

CARCINOMA ADENOESCAMOSO

Es una forma poco frecuente de variedad neoplásica donde histológicamente se observa una lesión neoplásica constituida por celularidad epitelial tipo escamoso y de tipo adenocarcinoma entremezclada en una proporción similar.

CARCINOMA MEDULAR

Es una rara variante caracterizada por la presencia de nidos de células neoplásicas con un núcleo vesicular, con prominente nucleolo y con un abundante citoplasma eosinófilo. También se observa un denso infiltrado linfocitario intraepitelial y estromal.

Se localiza más frecuentemente en el ciego o colon derecho y tiene una mayor prevalencia en sexo femenino.

Tiene un pronóstico más favorable en comparación con otros tipos de carcinoma colorrectales a pesar de su apariencia histopatológica [270, 271].

Por lo general presenta inestabilidad de microsatélites.

CARCINOMA INDIFERENCIADO

Lesión neoplásica de estirpe epitelial que carece de diferenciación.

A pesar de tratarse de lesiones sin ningún grado de diferenciación, son lesiones con características genéticas distintivas y con una asociación a inestabilidad de microsatélites.

OTROS TIPOS HISTOLÓGICOS

Las siguientes formas de lesión neoplásica presentan una muy escasa representatividad en la región rectal.

- *Adenocarcinoma hepatoide*: se compone tanto de un componente glandular como de una diferenciación hepatocelular de forma entremezclada. Son lesiones neoplásicas malignas de mal pronóstico [272].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- *Carcinoma anaplásico*: su componente celular fundamental son células de núcleos bizarros y pleomórficos junto con células gigantes multinucleadas y un patrón sólido de crecimiento. Su comportamiento es muy agresivo con mal pronóstico [273].
- *Carcinoma con diferenciación trofoblástica*: se compone de celularidad neoplásica inmunohistoquímicamente positiva frente a hCG localizada focalmente junto a un adenocarcinoma convencional o de forma ocasional constituyendo el único componente de la lesión neoplásica maligna [274].
- *Carcinoma basaloide (cloacogénico)*: se compone de nidos sólidos tumorales con empalizada periférica, lo que recuerda al carcinoma de células basales característico de la piel. Son muy infrecuentes en localización colorrectal [275].
- *Carcinoma con diferenciación neuroendocrina*: se pueden presentar en diversas formas: con aisladas células neuroendocrinas, fenómeno característico de lesiones sometidas a tratamiento neoadyuvante; en forma mixta junto a un adenocarcinoma convencional; como un carcinoma de células pequeñas similar al que aparece a nivel pulmonar; y en forma de los típicos tumores carcinoides [276].
- *Carcinoma con características rabdoideas*: se componen de celularidad de apariencia rabdoide, son típicos en ciego y presentan un comportamiento agresivo [277].
- *Carcinoma con diferenciación escamosa*: son lesiones neoplásicas que se localizan más frecuentemente en la región cecal, aunque también se pueden localizar en otras zonas del colon y recto [278, 279]. Puede observarse junto con diferenciación glandular (Adenoescamoso) anteriormente descrito o en forma pura. Este tipo de diferenciación está asociado a casos de colitis ulcerosa. En los casos localizados en la región rectal se debería realizar el diagnóstico diferencial con carcinomas primarios del epitelio escamoso de la región anal que se han extendido a nivel submucoso por continuidad.
- *Carcinosarcoma*: son tumores malignos que se componen tanto de células epiteliales tipo carcinoma como de componentes heterólogos mesenquimales.

EXTENSIÓN Y METÁSTASIS

La forma más frecuente de extensión del carcinoma colorrectal es hacia los ganglios linfáticos regionales e hígado.

Las metástasis ganglionares son más frecuentes en los tumores que presentan un mayor grado de infiltración y un menor grado de diferenciación [280].

Debido a la gran importancia pronóstica que tienen las metástasis ganglionares es necesario durante el tallado de la pieza quirúrgica el aislamiento del mayor número de adenopatías posibles, resultando conveniente que haya un mínimo de 14-15 adenopatías [281, 282]. La localización y separación de las adenopatías está dificultada cuando existe radioterapia y quimioterapia prequirúrgica.

Las metástasis hepáticas son más frecuentes en aquellos casos donde histológicamente ya se observe una invasión o embolización vascular [283]. Otras localizaciones típicas de metástasis son peritoneo, pulmones y ovarios. En muy raras ocasiones las metástasis pueden localizarse en el sistema nervioso central, útero, hueso y cavidad oral [284-286]. Debido a la semejanza morfológica de las metástasis por adenocarcinoma rectal frente a adenocarcinomas de otras localizaciones es fundamental la ayuda de la Inmunohistoquímica y de la Biología molecular en el diagnóstico diferencial [287, 288].

2.10- ESTADIAJE DEL CARCINOMA COLORRECTAL

CLASIFICACIÓN DE DUKES, ASTLER COLLER Y TNM

Son clasificaciones histopatológicas realizadas sobre las piezas quirúrgicas; su correlación con estadios clínicos o por imágenes (T.A.C, ecografía, resonancia nuclear magnética, etc.) no son 100% comparables, lo que cuestiona la sensibilidad y la especificidad de estas técnicas para establecer el estadio correctamente de la enfermedad micro y/o macroscópica.

CLASIFICACION DE DUKES [289]:

Publicada en 1932:

Estadio A: Carcinoma limitado a la pared del recto.

Estadio B: Carcinoma que traspasa la pared rectal y se continúa en tejido extrarrectal sin afectación ganglionar.

Estadio C: Metástasis a ganglios regionales.

CLASIFICACIÓN DE ASTLER Y COLLER [290]:

Publicada en 1954, modificó la de DUKES:

- Tiene en cuenta al peritoneo visceral como barrera anatómica contra la diseminación del cáncer.

- Además del recto, incluye el colon intraabdominal.

Estadio A: tumor limitado a la mucosa.

Estadio B1: tumor infiltra la muscular propia, pero no la rebasa.

Estadio B2: tumor que rebasa la muscular propia y alcanza la grasa pericólica.

Estadio C1: igual que B1, con afectación de los ganglios linfáticos.

Estadio C2: igual que B2, con afectación de los ganglios linfáticos.

Detectaron como grupo de buen pronóstico, con un buen control local y excelente supervivencia, a los tumores confinados a la mucosa.

TURNBULL: (1967)

- Introdujo el *Estadio D:* metástasis a distancia.

- Agregó el concepto de que la invasión de los órganos vecinos altera el pronóstico de forma adversa.

GUNDERSON Y SOSIN: (1974).

Estadio B3: adherencia o invasión de órganos o estructuras adyacentes, sin afectación de los ganglios linfáticos.

Estadio C3: igual que B3, con afectación de los ganglios linfáticos.

GANGLIOS LINFATICOS

N 1: ganglios pericólicos a menos de 5 cm del tumor.

N 2: ganglios a lo largo de un vaso mayor que irriga el tumor.

N 3: ganglios en el origen de un vaso principal.

NUMERO DE GANGLIOS LINFATICOS POSITIVOS

- *N1*: De 1 a 3 ganglios linfáticos positivos para infiltración neoplásica

- *N2*: 4 o más ganglios linfáticos positivos para infiltración neoplásica.

Con el objetivo de poder unificar e integrar los diversos factores pronósticos e histopatológicos de significancia, detectados a lo largo de décadas de estudio y con la finalidad de tener una única clasificación que permita evaluar, comparar y verificar las experiencias de diversos centros dedicados al tema, se adoptó la clasificación TNM por el American Joint Committee of Cancer, el National Cancer Institute y los National Institutes of Health.

CLASIFICACION TNM

TX: el tumor primario no puede ser evaluado.

T0: no hay evidencia de tumor primario.

Tis: carcinoma in situ

T1: tumor que invade la submucosa

T2: tumor que invade la muscular propia

T3: tumor que sobrepasa la muscular propia alcanzando la subserosa o los tejidos no peritonizados pericólicos o perirrectales.

T4: tumor que perfora el peritoneo visceral o que directamente invade otros órganos o tejidos. Cuando se trata de carcinoma rectal: útero, anexos, vagina (pared posterior), vejiga y próstata.

NX: los ganglios linfáticos regionales no pueden ser valorados.

N0: ganglios linfáticos regionales sin metástasis.

N1: Metástasis de 1 a 3 ganglios linfáticos pericólicos o perirrectales.

N2: Metástasis en 4 o más ganglios linfáticos pericólicos o perirrectales.

N3: Metástasis en algún ganglio linfático a lo largo del curso de un tronco vascular.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

MX: las metástasis a distancia no pueden ser valoradas.

M0: no hay metástasis a distancia.

M1: existe metástasis a distancia.

GRADO HISTOPATOLÓGICO

El grado histopatológico se clasifica en:

GX: grado no puede ser clasificado

G1: bien diferenciado

G2: moderadamente diferenciado

G3: pobremente diferenciado

G4: indiferenciado

ESTADIO HISTOPATOLÓGICO

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1 T2	N0 N0	M0 M0
Estadio II	T3 T4	N0 N0	M0 M0
Estadio III	Cualquier T Cualquier T	N1 N2 N3	M0 M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

2.11- PRONÓSTICO DEL CARCINOMA DE RECTO

El carcinoma rectal es una de las lesiones neoplásicas más frecuentes en el mundo desarrollado.

El cáncer rectal es potencialmente una enfermedad curable. La intervención quirúrgica con resección radical representa la primera opción terapéutica y da como resultado la curación de aproximadamente el 50% de los pacientes [291, 292]. La recurrencia tras la cirugía es la principal causa de mortalidad.

El pronóstico del carcinoma rectal está claramente asociado con el grado de infiltración de la tumoración a través de la pared intestinal, la presencia o ausencia de ganglios linfáticos infiltrados por células neoplásicas y por la presencia o ausencia de metástasis a distancia. Todas estas características vienen reflejadas en los diferentes sistemas de estadiaje [293].

Otros parámetros que son relevantes en el pronóstico del cáncer rectal son; el grado de diferenciación, la invasión vascular y la invasión perineural. También es de gran importancia el número de ganglios linfáticos que se encuentran infiltrados.

En el carcinoma rectal cobra una gran importancia la valoración del margen circunferencial y la total escisión mesorrectal en la evolución de la enfermedad localizada en tercio medio o tercio inferior rectal y en la posibilidad de recurrencia local [295]. La obstrucción y perforación intestinal son características clínicas que predicen un mal pronóstico [293].

Otros factores pronósticos tales como la mutación de p53, Ka ras, bcl-2, TGF alfa, EGF, índice de proliferación y aneuploidia están bajo diferentes estudios para su valoración bien de forma individual o combinada en el pronóstico del carcinoma [291-294].

Los niveles altos en suero de Antígeno carcinoembrionario (CEA) y de Antígeno Carbohidrato 19-9 (CA19-9) también son indicadores de mal pronóstico [296].

Algunos estudios epidemiológicos retrospectivos sugieren que transfusiones perioperatorias intervienen de forma negativa en el pronóstico de pacientes con carcinoma colorrectal [297]. En un único estudio epidemiológico prospectivo se encontró que la necesidad de transfusiones sanguíneas alogénicas tras intervención quirúrgica era un factor predictivo independiente de recurrencia local [298], aunque este hallazgo no fue confirmado en un gran y multiinstitucional estudio epidemiológico prospectivo que comparaba transfusiones sanguíneas autólogas frente transfusiones alogénicas [299]. En ambos estudios se concluye que los

pacientes que no son sometidos a transfusiones sanguíneas presentan menor riesgo de recurrencia, aunque esto no puede servir de base para no realizar transfusiones debido a que otros estudios no apoyan tal hallazgo [300].

PRONÓSTICO DEL CANCER RECTAL EN ESTADIO AVANZADO

Por lo general, el tiempo de supervivencia media de un paciente con carcinoma rectal en estadio avanzado que no recibe ningún tratamiento es de 5-6 meses, mientras que si es tratado con quimioterapia (5-FU) la supervivencia oscila en 10-12 meses y en menos del 5% de los casos los pacientes alcanzan los 5 años de supervivencia.

Existen una serie de factores que tienen una clara influencia en el pronóstico tras tratamiento y deberían ser considerados en el manejo individual de cada paciente [301].

Factores asociados al paciente:

- *Edad*: por sí mismo no es un factor predictivo de respuesta al tratamiento.
- *Sexo*: el sexo femenino presenta una mayor supervivencia que el sexo masculino, aunque este no es un factor predictivo de respuesta al tratamiento.
- *Presencia de clínica asociada a la lesión neoplásica*: pacientes asintomáticos presentan mayor supervivencia y mejor respuesta a quimioterapia que aquellos pacientes que debutan con una clínica florida.

Factores asociados a la enfermedad

- La extensión de la enfermedad se asocia inversamente con la probabilidad de respuesta y supervivencia [302].
- El grado de diferenciación del tumor se correlaciona con el índice de supervivencia, aunque los estudios realizados hasta ahora son insuficientes para determinar si va a existir o no una respuesta a la quimioterapia.
- El antígeno carcinoembrionario (CEA): la utilidad de la determinación de los niveles de CEA en plasma tras la intervención quirúrgica ha cobrado una gran importancia debido a su valor predictivo de recurrencia. Cuando se realiza un control de los niveles de CEA tras cirugía y en pacientes con enfermedad metastásica el aumento se debe o predice un fallo de respuesta al tratamiento médico.

Factores relacionados con el tratamiento

- Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que el tratamiento neoadyuvante de radioterapia junto con quimioterapia sobre los pacientes con carcinomas rectales en estadios avanzados han ejercido un efecto beneficioso sobre el pronóstico de la enfermedad.

En resumen, los factores pronósticos del cáncer rectal se pueden dividir en:

Características del tumor primario

- Tamaño y extensión de la lesión neoplásica(TNM).
- Afectación o no afectación del límite circunferencial.
- Obstrucción intestinal.
- Perforación intestinal.
- Patrón de infiltración.
- Grado de diferenciación.

Presencia de invasión vascular

- Embolización tumoral de los vasos linfáticos o infiltración perineural
- Cambios reactivos de los ganglios linfáticos regionales.

Características morfológicas del tumor

- Angiogénesis.

Consecuencias de la técnica quirúrgica

- Cambios inflamatorios y desmoplásicos reactivos a la infiltración neoplásica.
- Distancia entre el margen de resección y el tumor
- Presencia de tumor residual.

De forma individualizada se pueden tratar distintos factores pronósticos ya mencionados anteriormente.

Se ha asociado un mal pronóstico a las lesiones de gran tamaño y con una apariencia macroscópica sésil.

Respecto a características histopatológicas asociadas a un mal pronóstico aparte de las mencionadas anteriormente y que se relacionan con el estadio tumoral, se

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

observa una peor evolución en las lesiones tumorales con un patrón infiltrativo a diferencia de las que éste es expansivo, y en variedades de adenocarcinoma como el anaplásico, el mucinoso y el carcinoma adenoescamoso [261, 303-306].

La presencia de metástasis ganglionares localizadas en adenopatías del margen mesentérico o más distal se ha asociado a un mal pronóstico, mientras que la presencia de micrometástasis, detectadas por técnicas de Inmunohistoquímica, en los ganglios linfáticos locorregionales tiene un valor pronóstico discutido [307, 308].

La Angiogénesis o neovascularización del tumor es crucial en el crecimiento del tumor. Se ha comprobado que unos altos niveles de estructuras vasculares en el lecho tumoral empeoran el pronóstico [309].

La presencia de un intenso infiltrado inflamatorio (especialmente polimorfonucleares tipo eosinófilos) y de una intensa reacción desmoplásica se ha asociado a un mejor pronóstico [310].

Otras características propias del carcinoma rectal que se asocian a un peor pronóstico son: invasión vascular linfática, invasión perineural y un patrón de crecimiento acinar en forma de pequeñas y regulares estructuras tubulares [311].

Algunas de las alteraciones genéticas identificadas en el carcinoma colorrectal son marcadores pronósticos [312, 313]. La pérdida alélica del cromosoma 18q se ha relacionado con un mal pronóstico. Otros estudios exponen que la pérdida en el cromosoma 17p, 1p, 5q, 8p, o 18q, la reducción de expresión del gen DCC, la sobreexpresión p53, la reducción de expresión de p27, la elevada expresión de ciclina A, la mutación del gen ras, la expresión de genes de la apoptosis (bcl2, bax, survivin), la expresión de moléculas de superficie celular (CD44 y sus variantes, ICAM1, galectina 3) y las enzimas metabólicas (GLUT1 transportador de glucosa, timidilato sintetasa, ornitina descarboxilasa, ciclooxigenasa 2) tienen valor pronóstico. Es de destacar que aquellos carcinomas colorrectales con inestabilidad de microsatélites tienen un mejor pronóstico y menor frecuencia de metástasis que los tumores que no presentan esta inestabilidad de microsatélites [314].

Hasta el día de hoy el estudio de características morfológicas que permitan predecir una respuesta al tratamiento quimioterápico es bastante limitado, aún así se ha visto que algunas alteraciones moleculares pueden actuar como marcadores predictivos. Existen estudios realizados in vitro que demuestran que el status del TP53 es crucial. La ruta de la TP53 está estrechamente relacionada con la regulación del ciclo celular y de la apoptosis. Se ha comprobado que los tumores con inestabilidad de microsatélites aparte de presentar un mejor pronóstico, no se benefician del tratamiento quimioterápico con 5-FU [314].

SUPERVIVENCIA A LOS 5 AÑOS EN FUNCIÓN DEL ESTADIO TNM

- T1 = 97%
- T2 = 90%
- T3 = 78%
- T4 = 63%
- Cualquier T, N1, M0 = 66%
- Cualquier T, N2, M0 = 37%
- Cualquier T, N3, M0 = datos no disponibles
- Cualquier M1 = 4%

2.12- GENÉTICA DEL CARCINOMA COLORRECTAL

Hoy día, se cree que existen dos vías patogénicamente distintas para el desarrollo del carcinoma colorrectal y que en ambas se producen una acumulación progresiva de múltiples mutaciones.

La primera vía, denominada APC/ β -catenina, se caracteriza por una inestabilidad cromosómica que da lugar a una acumulación progresiva de mutaciones en una serie de oncogenes y genes supresores de tumores. La evolución del cáncer colorrectal a través de esta vía sigue una serie de etapas morfológicamente identificables. Lo primero en aparecer es una proliferación localizada del epitelio intestinal que se continúa con la formación de pequeños adenomas que aumentan de tamaño progresivamente, van evolucionando a pólipos displásicos y acaban por desarrollar cánceres infiltrantes. A este proceso evolutivo se le denomina secuencia adenoma-carcinoma. Las implicaciones genéticas de esta vía son las siguientes:

- Pérdida del gen supresor de tumores APC. Éste parece el primer paso en la formación de los adenomas. En la poliposis adenomatosa familiar y en el síndrome de Gardner, las mutaciones del gen APC de la línea germinal origina la aparición de múltiples adenomas que evolucionan con el tiempo a cánceres. Para que un adenoma se origine, se tienen que perder las dos copias del gen APC. Las funciones de la proteína APC están íntimamente relacionadas con la β catenina, de forma que favorece la degradación de ésta; cuando se pierde la función APC, la β catenina acumulada pasa al núcleo celular y activa la transcripción de varios genes, tales como MYC y ciclina D1, que estimulan la proliferación celular. En el 80% de los cánceres colorrectales esporádicos se encuentran mutaciones de APC.
- Mutación de K-RAS: el gen K-RAS codifica una señal de transducción molecular que oscila entre un estado activado de unión al trifosfato de guanosina y un estado inactivo de unión al difosfato de guanosina. El gen Ras mutado queda atrapado en un estado activado que envía señales mitóticas e impide la apoptosis. Es típico que la mutación K-RAS siga a la pérdida de APC, por lo que se encuentra en menos del 10% de adenomas de tamaño inferior a 1cm., en el 50% de los mayores de 1cm. y en el 50% de los adenocarcinomas.
- Delección de 18q21: entre el 60-70% de los cánceres colorrectales se detecta la pérdida de un posible gen supresor de tumores situado en 18q21. En esta localización cromosómica se encuentran tres genes: DCC (ausente en los

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

carcinomas colorrectales), DPC4/SMAD4 (ausente en el carcinoma de páncreas) y SMAD2. No está claro cuál de estos genes es importante en la carcinogénesis intestinal. El gen DCC codifica una molécula de adherencia celular llamada netrina-1, que interviene en el control de la dirección axonal. DPC/SMAD4 y SMAD2 codifican componentes de la vía de señalización del factor transformador del crecimiento beta (TGF- β). Como la señalización de TGF- β inhibe normalmente el ciclo celular, la pérdida de estos genes podría permitir un crecimiento celular ilimitado.

- Pérdida de TP53: entre el 70-80% de los carcinomas colorrectales se observa la desaparición de este gen supresor de tumores, situación que no se da en el caso de los adenomas. Esto indica que las mutaciones de TP53 ocurren de forma tardía en el carcinoma colorrectal

La secuencia adenoma-carcinoma descrita es la responsable del 80% de los carcinomas colorrectales esporádicos.

La segunda vía se caracteriza por lesiones genéticas en los genes reparadores de los desajustes del ADN. Esta vía interviene en aproximadamente en el 15% de los carcinomas colorrectales esporádicos. Como sucede en el esquema APC/ β -catenina, las mutaciones se acumulan, pero los genes afectados son distintos y a diferencia de la secuencia adenoma-carcinoma, no existe una correlación morfológica claramente identificable. La reparación defectuosa del ADN causada por la desactivación de los genes de reparación del ADN desajustado es el acontecimiento fundamental y, probablemente inicial en los carcinomas colorrectales que se originan por esta vía. Las mutaciones hereditarias en unos de estos cinco genes de reparación del ADN desajustado (MSH2, MSH6, MLH1, PMS1 y PMS2) son las responsables del carcinoma colorrectal no polipósico hereditario. De estos genes, MLH1 es el implicado con mayor frecuencia en los carcinomas colorrectales hereditarios. La pérdida de los genes de reparación del DNA desajustado conduce a un estado hipermutable en el que secuencias sencillas y repetidas de ADN, denominadas microsatélites, son inestables durante la reparación del ADN, lo que hace que estas repeticiones experimenten alteraciones generalizadas. La inestabilidad de los microsatélites resultantes es la firma molecular de la reparación defectuosa de los desajustes del ADN, por lo que esta vía suele conocerse como vía de inestabilidad de microsatélites. Casi todas las secuencias de microsatélites se sitúan en regiones génicas que carecen de actividad codificadora o promotora de genes que participa en la regulación del crecimiento celular. Entre estos genes figuran el del receptor del TGF- β tipo II y BAX. La señalización TGF- β inhibe el crecimiento de las células epiteliales del colon y el gen BAX estimula la apoptosis. La pérdida de reparación de los desajustes conlleva

una acumulación de mutaciones en estos y otros genes reguladores del crecimiento que culmina con la aparición de carcinomas colorrectales.

Aunque no existe una secuencia adenoma- carcinoma fácilmente identificable que tipifique los tumores originados a partir de los defectos en la reparación de los desajustes, se ha descrito que algunos de los denominados pólipos hiperplásicos del colon derecho tienen inestabilidad de microsatélites, por lo que podrían ser precancerosos. Los tumores plenamente desarrollados que surgen por la vía de reparación de los desajustes muestran características morfológicas distintivas, como son la localización preferente en el colon proximal, la histología mucinosa y la infiltración por linfocitos. En general estos tumores tienen un mejor pronóstico que aquellos con un estadio similar producidos a través de la vía APC/-catenina.

2.13- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS CON SIGNIFICADO PRONÓSTICO ASOCIADAS A CARCINOMAS RECTALES DIAGNOSTICADOS EN ESTADIOS AVANZADOS QUE SON SOMETIDOS A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

La utilización de la radioterapia con o sin quimioterapia acompañante se ha incrementado progresivamente como tratamiento prequirúrgico o neoadyuvante sobre pacientes que tienen carcinomas rectales en estadios avanzados, detectados mediante técnicas de imagen tipo ecografía endorrectal o resonancia magnética. Los resultados de este tipo de tratamiento han demostrado que mejoran la supervivencia y el control local en pacientes que sufren de esta enfermedad en estadios avanzados[315].

Sobre el cáncer rectal se han realizado múltiples estudios que tienen como objetivo clasificar a los distintos pacientes en categorías pronósticas para, de esta forma, poder aplicar tratamientos más efectivos y, por otro lado, poder beneficiar a los pacientes de una menor morbilidad. Los criterios más aceptados en esta clasificación son el estadiaje tumoral TNM, el estadio de Astler-Coller y algunas características histopatológicas como la invasión vascular, invasión perineural, margen tumoral con crecimiento expansivo o infiltrativo, grado de diferenciación, distancia entre el margen tumoral y el margen circunferencial, etc.

La aplicación de radioterapia, con o sin quimioterapia asociada, produce una serie de modificaciones o asociación de determinadas características morfológicas en las piezas quirúrgicas que posteriormente son estudiadas. Estas características

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

morfológicas y su significado pronóstico no han sido hasta ahora del todo caracterizadas.

Son muchos los estudios que relacionan un tratamiento neoadyuvante basado en radioterapia junto con quimioterapia con una regresión tumoral, con disminución del tamaño de la masa tumoral y con sustitución del tejido neoplásico por tejido fibroso o fibroinflamatorio[316-319]. Muchos trabajos demuestran que estas modificaciones que sufre el tejido tumoral tras tratamiento neoadyuvante, implican también una reducción del estadiaje neoplásico(“Downstaging”) respecto al que se había realizado antes de la cirugía mediante técnicas de imagen, y por lo tanto se asocia a un mejor pronóstico [317-319].

La pieza quirúrgica que ha sido sometida previamente a tratamiento neoadyuvante debe ser estudiada de forma distinta a como se realizaría si no se hubiera aplicado este tratamiento neoadyuvante. La respuesta patológica al tratamiento neoadyuvante se determina por la cantidad de tumor viable residual frente a la cantidad de fibrosis o tejido fibroinflamatorio detectado en el seno de la masa tumoral. El estadio patológico del tumor residual (ypT) lo determina la zona más profunda de invasión del tumor viable residual (la mucina acelular es una forma de respuesta al tratamiento neoadyuvante y no representa tumor residual).

Entre las distintas características morfológicas de la pieza quirúrgica sometida a tratamiento neoadyuvante, se encuentran el nivel de respuesta tumoral, que ha evolucionado en el tiempo con distintos tipos de gradación. En un principio Mandard y cols. en 1994 [320] propusieron una forma de medir la respuesta tumoral mediante el grado de regresión tumoral que aparece en el cáncer esofágico tras tratamiento neoadyuvante. Esta medición era mediante cinco categorías distintas. Grado 1: mostraba una ausencia de celularidad neoplásica identificable con sustitución por tejido fibroso a lo largo de las distintas capas de la pared esofágica. Grado 2: se caracteriza por la presencia aislada de células neoplásicas a lo largo de un denso estroma fibroso. Grado 3: presencia de mayor cantidad de células neoplásicas pero con un todavía estroma fibroso predominante. Grado 4: mayor cantidad de tejido neoplásico que fibrosis estromal. Grado 5: ausencia de regresión tumoral. Posteriormente variaciones a estos criterios han sido aplicados al cáncer rectal sometido a tratamiento neoadyuvante [321, 322]. Wheeler y cols. [323] realizaron tres categorías en función del grado de regresión tumoral. Grado de regresión 1: indica una buena respuesta. En esta categoría la lesión tumoral casi desaparece o quedan pequeños focos microscópicos de carcinoma. Grado 2: traduce una acentuada fibrosis pero con focos macroscópicos de tumor presentes. Grado 3: indica una pobre respuesta, con escasa fibrosis y con presencia de gran cantidad de tejido neoplásico. Desde el punto de vista histopatológico para la evaluación del grado de regresión tumoral se siguen las categorías de Dworak [322]. Esta clasificación se basa en cuatro grados de regresión. Grado 1: no se aprecian

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

modificaciones de la masa tumoral. Grado 2: escasas a moderadas modificaciones en la cantidad de tumor junto con modificaciones histológicas consecuencia del tratamiento neoadyuvante. Grado 3: persistencia de aislados y escasos focos microscópicos de tumor junto con un dominio de los cambios estromales y glandulares consecuencia del tratamiento neoadyuvante. Grado 4. No se identifica la presencia de celularidad neoplásica representando un grado de regresión tumoral total.

El tratamiento neoadyuvante basado en radioterapia con o sin quimioterapia acompañante produce una serie de modificaciones a tener en cuenta en el estudio histopatológico de la pieza quirúrgica. Estas modificaciones microscópicas se pueden clasificar en tres categorías.

1. Alteraciones ocurridas en el estroma del tejido rectal
2. Alteraciones citológicas de las células neoplásicas.
3. Cambios o modificaciones de la mucosa adyacente a la lesión neoplásica.

2.13.1 ALTERACIONES ESTROMALES E INFILTRADO INFLAMATORIO

Las modificaciones que sufre el tejido estromal de la pared rectal están directamente relacionadas con el grado de regresión tumoral anteriormente descrito.

El tejido tumoral en respuesta al tratamiento neoadyuvante puede ser sustituido por tejido fibroso, material mucinoso o por un infiltrado celular inflamatorio constituido por linfocitos, neutrófilos, células plasmáticas y/o eosinófilos. El tejido tumoral también puede sufrir necrosis en respuesta a la radioterapia. Otra modificación que puede aparecer es una angeítis post irradiación.

2.13.2 MODIFICACIONES EN LA CELULARIDAD NEOPLÁSICA.

Entre las alteraciones citológicas que se pueden observar en las células residuales neoplásicas se encuentran: marcada eosinofilia citoplásmica, pérdida del patrón glandular con tendencia a la formación de nidos sólidos, diferenciación endocrina (demostrada mediante estudio inmunohistoquímico con cromogranina). A nivel nuclear se puede producir un incremento del pleomorfismo y de la hipercromasia, también se pueden producir modificaciones en cuanto al número de mitosis y por último como anteriormente se ha mencionado también se pueden producir fenómenos de necrosis.

2.13.3 MODIFICACIONES DE LA MUCOSA ADYACENTE

Ulceración de la mucosa rectal.

Presencia de displasia de alto grado

Shia y colaboradores [324] realizaron un estudio estadístico donde buscaban darle una significación pronóstica a las distintas modificaciones histopatológicas anteriormente citadas. Los resultados se describen en tabla 2.6.

Existen pocos estudios que asocien unas determinadas características morfológicas con un significado pronóstico que aparezcan tras someter al paciente a tratamiento neoadyuvante, en aquellas lesiones neoplásicas detectadas en los estadios más avanzados y que son sometidas a dicho tratamiento neoadyuvante basado en radioterapia acompañada o no a quimioterapia. En estos estudios el significado pronóstico de estas modificaciones morfológicas es motivo de discusión [317, 325, 326].

La importancia de la regresión tumoral y el grado de la misma ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista de su significado pronóstico por diversos autores [317-319]. Theodoropoulos y cols. [318] en un estudio con una muestra de 88 casos obtuvieron unos resultados de 18% de casos donde se observaba una respuesta patológica total y un 40% de “Downstaging”, mostrando que en ambos casos se observaba un mejor pronóstico de supervivencia.

Nagtegaal y cols. [327] expusieron que los pacientes que presentaban un intenso infiltrado inflamatorio rodeando a la celularidad neoplásica presentaban menores índices de recurrencia (3,4% vs 6,9% $P= 0,03$). Un recuento alto de eosinófilos también se ha asociado como factor pronóstico independiente del estadio al igual que la vascularización, expresión de p53 y grado histológico [328].

Del estudio realizado por Shia y cols. [324] y cuyos resultados vienen expuestos en la Tabla 2.6 se pueden deducir algunas conclusiones partiendo de las modificaciones morfológicas que sufre el carcinoma rectal tras el tratamiento neoadyuvante con radioterapia y quimioterapia. En general una marcada respuesta inflamatoria no es frecuentemente vista en los carcinomas rectales. Una reacción inflamatoria leve es observada en aquellos casos que se sometieron a un curso corto de radioterapia prequirúrgica (5x5 Gy) 5 días antes a cirugía [327]. En estos casos la celularidad predominante eran linfocitos T y neutrófilos. De tales hallazgos se puede deducir que el sistema inmune de los pacientes tratados con radioterapia puede quedar algo deprimido respecto al que no, por el contrario los resultados anteriormente analizados demuestran que aquellos pacientes que tras radioterapia mantienen una buena respuesta inmune en forma de moderado o intenso infiltrado

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

inflamatorio junto con ulceración del lecho tumoral presentan un mejor pronóstico y estos resultados permiten orientar una línea de investigación sobre la importancia de las distintas terapias orientadas a potenciar o intensificar una reacción del sistema inmune.

De las características morfológicas más claramente observadas en la celularidad neoplásica se encuentran la eosinofilia citoplásmica y la presencia de lagos más o menos extensos de mucina. Algunos autores han identificado la presencia de eosinofilia citoplásmica con transformación o diferenciación endocrina demostrada con estudios inmunohistoquímicos con cromogranina [276]. La presencia de lagos de mucina sustituyendo a la lesión tumoral es un fenómeno que no solo se ha identificado tras los cursos largos de radioterapia preoperatoria sino que también está presente en el caso de los cursos cortos de radioterapia [327]. No se ha de identificar la presencia de mucina con la persistencia de tumor viable [329]. La ausencia de implicación pronóstica de la eosinofilia citoplásmica o diferenciación endocrina sugiere que tales alteraciones reflejan distintos estadios de degeneración tumoral, aunque es de gran importancia para la interpretación diagnóstica y de esa forma evitar confusiones por parte del patólogo. La presencia de positividad para cromogranina en focos residuales de tumor no debería confundirse con una nueva neoplasia endocrina o con un carcinoma endocrino de alto grado ya que en tales casos el pronóstico y tratamientos posteriores son diferentes al adenocarcinoma rectal convencional. De igual forma la presencia de lagos de mucina, como anteriormente se ha citado, no ha de confundirse con presencia de tumor viable.

Por lo que respecta a la persistencia de la displasia tras tratamiento neoadyuvante, Shia y cols. expusieron que hasta el 42,4% de los casos estudiados presentaban displasia de grado variable y que ésta se asociaba a un peor pronóstico o respuesta al tratamiento. En algunos casos la persistencia de displasia se asociaba a regresión de la lesión neoplásica adyacente, interpretándolo como que la lesión displásica carece de algunos cambios genéticos que sí presentan las lesiones infiltrantes y que la hacen menos sensibles a la radioterapia y a la quimioterapia.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 2.6 Asociación de características patológicas con ausencia de enfermedad mediante Análisis Univariante (Shia y cols, 2004)

	FRECUENCIA	CORRELACIÓN CON AUSENCIA DE ENFERMEDAD (P)
CARACT. PATOLÓGICAS		
Respuesta patológica >95%	74,2% (49/66)	0,056
Metástasis ganglionar	25,8% (17/66)	0,002
ypT3 o mas	54,5% (36/66)	0,016
Ausencia de modificación de estadio	59,1% (39/66)	0,004
Invasión linfovascular	17,5%	0,008
ALTERACIONES ESTROMALES		
Estroma fibrótico	59,1% (39/66)	0,001
Predominio de infiltrado linfoplasmocitario	66,7% (18/27)	NS
Predominio de eosinófilos peritumorales (>50 cga.)	43,9% (25/57)	NS
ALTERACIONES EN CÉLULAS NEOPLÁSICAS		
Citología alterada en >50% de tumor residual	29,8% (17/57)	NS
Grado nuclear alto	29,8% (17/57)	NS
Mitosis		NS
Necrosis en >5% de tumor	14,0% (8/57)	NS
Lagos de mucina	21,2% (14/66)	NS
Diferenc. neuroend.	67,9% (36/53)	NS

CANBIOS EN LA MUCOSA

Ulceración	21,2% (14/66)	0,026
Displasia de alto grado	43,9% (29/66)	NS
Adenoma con displasia de bajo grado	33,3%	NS

Tabla 2.7 Correlación de características patológicas con ausencia de enfermedad mediante Análisis Multivariante

	Riesgo Ratio	95% CI
Estado ganglionar	16,0	4.20, 61.17
Tipo de respuesta estromal	-	0, 2.80
Ulceración	10.5	2.76, 40.0

2.14- FENÓMENOS MOLECULARES DETECTADOS MEDIANTE ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO CON “POSIBLE” IMPORTANCIA PRONÓSTICA EN PACIENTES CON CARCINOMA RECTAL EN ESTADIOS AVANZADOS Y SOMETIDOS A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

2.14.1 APOPTOSIS

La apoptosis se puede definir como el conjunto de reacciones bioquímicas que tienen lugar en la célula y que concluyen con su muerte de una forma ordenada, programada y silenciosa. El epílogo sería “cada célula tiene un momento para vivir y otro para morir”.

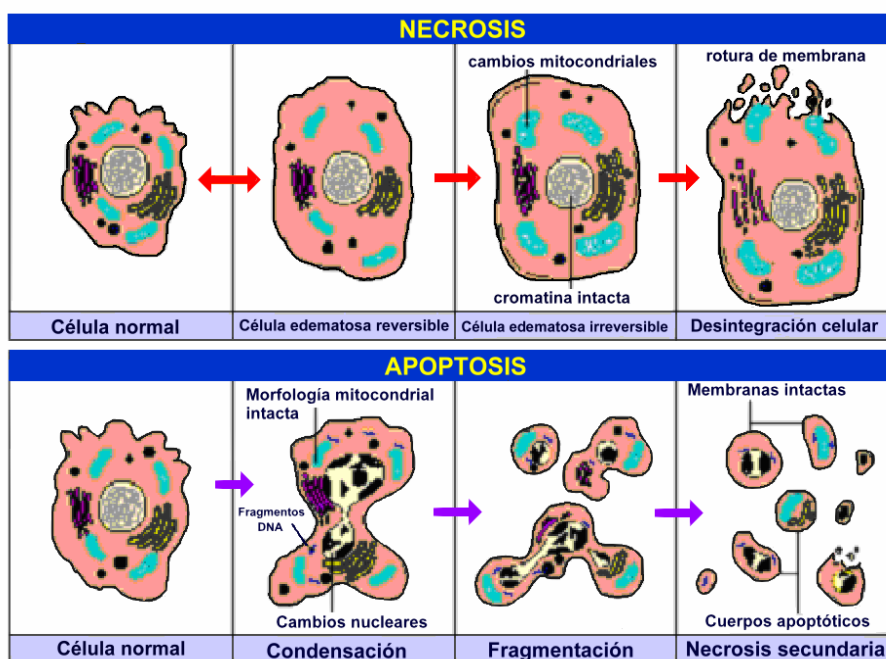
En la apoptosis el proceso afecta a determinadas células, no necesariamente contiguas, y no a todas las células que constituyen un área tisular.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La célula apoptótica sufre una serie de cambios morfológicos que la definen como tal. La membrana plasmática se altera y aparece el característico blebbing. El volumen celular se reduce considerablemente y el citoplasma se condensa. El núcleo se reduce y la cromatina se hace más densa y se colapsa dividiéndose al final en varias esferas.

La célula apoptótica es fagocitada por macrófagos o por células vecinas, evitando así la respuesta inflamatoria local ocasionada en la necrosis cuando la célula al romperse libera su contenido al medio. La participación de células vecinas en este proceso se manifiesta además por la capacidad de éstas de enviar señales moleculares a la célula que debe morir como mecanismo complementario al que desarrolla la célula misma cuando se determina molecularmente su autodestrucción. El proceso de apoptosis dura entre 30 y 60 minutos en células en cultivo. Uno de los más lentos se produce en células hepáticas empleando como promedio 3 horas.

El estudio e identificación específico de cuerpos apoptóticos se ha logrado con tinciones derivadas de la uridina (TUNEL en donde la U corresponde a uridina). Sin embargo, en algunas células como las neuronas, la uridina tiñe también tejidos necróticos perdiendo la especificidad. En tales casos se recurre a anticuerpos monoclonales capaces de reconocer fragmentos de ADN integrados en los cuerpos apoptóticos. La imagen que da la apoptosis al microscopio electrónico se caracteriza por la presencia de fragmentos de cromatina agrupados en conglomerados globuliformes, la granulación fina del contenido citoplasmático, la persistencia de algunos orgánulos hasta el final del proceso, como las mitocondrias, y la integridad de la membrana celular.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La descripción de una forma de necrosis, integrada en la fisiología de los mamíferos y que es diferente a la necrosis osmótica convencional, comienza a finales del siglo XIX (1885) por el Dr. Walter Fleming y sus colaboradores que fueron capaces de reconocer morfológicamente mediante microscopía óptica, fenómenos fisiológicos involutivos en los folículos ováricos o en la mama post-lactancia dándoles el nombre de cromatolisis. Sin embargo no fue hasta 1914 cuando este término volvió a aparecer en la literatura médica gracias al Dr. Ludwig Graper, en un estudio sobre el desarrollo del saco vitelino. Posteriormente, en 1951 Glucksmann, describió cómo este fenómeno podría explicar algunos de los cambios que se producen durante el desarrollo embriológico. En la década de los 60, gracias al desarrollo de la microscopía electrónica se avanzó mucho en el conocimiento de este tipo de fenómeno. El concepto de "muerte celular programada" fue acuñado por Lockshin y Williams en 1964 y describía la muerte de las células que ocurría en lugares y momentos determinados como eventos programados dentro del plan de desarrollo del organismo. Años después, en 1972, Kerr, Wyllie y Currie a partir de una recopilación de evidencias morfológicas, establecieron las diferencias entre los dos tipos de muerte celular. La patológica, que ocurre por ejemplo en el centro de una lesión aguda como trauma o isquemia, está caracterizada por la ruptura celular y recibe el nombre de necrosis celular, y la fisiológica, que ocurre durante el desarrollo o la hemostasis del organismo, que mantiene la integridad de la célula y a la que Kerr y sus colaboradores llamaron apoptosis. Según este grupo, la muerte por apoptosis respondía a un programa de muerte intracelular que podía ser activado o inhibido por una variedad de estímulos, tanto fisiológicos como patológicos.

En 1982 tuvo lugar un descubrimiento que abrió las puertas al estudio profundo de las bases moleculares y genéticas del proceso de apoptosis. Horvitz publicó los estudios genéticos realizados sobre el nematodo *Caenorhabditis elegans* en los que se describieron los genes encargados del control y la ejecución de la apoptosis en este organismo. Gracias a la homología existente entre estos genes en *C. elegans* y organismos superiores, la apoptosis en este nematodo ha sido tomada como referente del proceso en todos los sistemas y esto ha podido identificar una parte importante de la red de mecanismos que lo controlan.

El término, procedente del griego “*apoptosis*”, significa la caída de las hojas de un árbol o de los pétalos de una flor, y fue propuesto por un profesor griego de la universidad de Aberdeen por la similitud morfológica entre ambos eventos.

La muerte celular programada es un mecanismo básico implicado de forma decisiva en numerosos procesos. Entre ellos podemos destacar:

ELIMINACIÓN DE TEJIDOS DAÑADOS O INFECTADOS

La apoptosis puede ocurrir, por ejemplo, cuando una célula se halla dañada y no tiene posibilidades de ser reparada, o cuando ha sido infectada por un virus. La "decisión" de iniciar la apoptosis puede provenir de la célula misma, del tejido circundante o de una reacción proveniente del sistema inmune. Cuando la capacidad de una célula para realizar la apoptosis se encuentra dañada (por ejemplo, debido a una mutación), o si el inicio de la apoptosis ha sido bloqueado (por un virus), la célula dañada puede continuar dividiéndose sin mayor restricción dando como resultado a un tumor que puede ser de carácter maligno. Por ejemplo, como parte del "secuestro" del sistema genético de la célula llevado a cabo por los papillomavirus humanos (HPV), un gen denominado E6 se expresa originando un producto que degrada la proteína p53, vital para la ruta apoptótica.

DESARROLLO

Las primeras observaciones que se realizaron del fenómeno de la muerte celular programada (MCP) fueron hechas en el contexto del desarrollo. De hecho, el término muerte celular programada se comenzó a utilizar para definir la muerte celular ocurrida en un determinado momento y en un lugar determinado como parte del plan de desarrollo de un organismo.

Los objetivos son los siguientes:

- Formación de distintas estructuras: El ejemplo más claro de esto es la eliminación de las membranas interdigitales para la formación de los dedos en vertebrados superiores. Otro proceso de formación de estructuras en que está involucrada la apoptosis es en el vaciado de cuerpos sólidos para crear una luz.
- Eliminación de estructuras: En el proceso de desarrollo a veces se forman estructuras que después es necesario suprimir.
- Control de las células defectuosas: Durante el desarrollo, se eliminan por apoptosis células anormales, con localización errónea, no funcionales o potencialmente peligrosas, de forma que solo completen el proceso de desarrollo las células no dañadas. Para ilustrar esto existen estudios en los que se irradian hembras de ratón durante la gestación. La mayoría de los embriones mueren a consecuencia de esto, pero el incremento de anormalidades en los ratones que nacen es muy bajo lo que indica que existe un mecanismo de protección contra el daño celular en el que interviene la apoptosis.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Formación de células diferenciadas especiales: Existen en los organismos ciertos tipos celulares que son especiales ya que han perdido su núcleo y orgánulos en el proceso de diferenciación terminal. Es el caso de los hematíes o los queratinocitos de la piel. Aunque está aún sin determinar, existen indicios de que estos procesos especializados de diferenciación son en realidad formas modificadas de apoptosis.

En el proceso global de desarrollo es posible que ocurra una combinación de señales positivas y negativas para dar lugar a que esta se desarrolle de forma favorable.

HOMEOSTASIS

En un organismo adulto, la cantidad de células que componen un órgano o tejido debe permanecer constante, dentro de ciertos límites. Las células de la sangre y de la piel, por ejemplo, son constantemente renovadas por sus respectivas células progenitoras. Por lo tanto, esta proliferación de nuevas células tiene que ser compensada por la muerte de otras células. A este proceso se le conoce como homeostasis.

La homeostasis se logra cuando la relación entre la mitosis y la muerte celular se encuentra en equilibrio. Si este equilibrio se rompe, pueden ocurrir dos cosas:

- Las células se dividen más rápido de lo que mueren, desarrollando un tumor.
- Las células se dividen más lentamente de lo que mueren, produciéndose un grave trastorno de pérdida celular.

REGULACIÓN DEL SISTEMA INMUNITARIO

Ciertas células del sistema inmunitario, los linfocitos B y los linfocitos T, son sofisticados agentes de la respuesta defensiva del organismo frente a infecciones así como hacia células propias que hayan adquirido o desarrollado algún tipo de malignidad. Para llevar a cabo su trabajo, las células B y T deben tener la habilidad de discriminar lo propio de lo extraño y lo sano de lo enfermo, gracias a la especialidad de sus receptores. De hecho, los linfocitos T citotóxicos pueden ser activados por fragmentos de proteínas expresadas inapropiadamente (derivadas, por ejemplo, de una mutación maligna) o por antígenos extraños producidos como consecuencia de una infección intracelular. Después de activarse tienen la capacidad de migrar, proliferar y reconocer a las células afectadas, induciendo una respuesta de muerte celular programada.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los receptores de las células B y T inmaduras no se generan por procesos de una elevada precisión, sino por procesos aleatorios de elevada capacidad para generar variabilidad. Esto significa que muchas de estas células inmaduras pueden no ser efectivas (porque su receptor no sea capaz de unir ningún antígeno conocido) o ser peligrosas para el propio organismo porque sus receptores sean capaces de reconocer con elevada afinidad antígenos propios. Si estas células fuesen liberadas sin otros procesamientos, muchas podrían volverse autorreactivas y atacar células sanas. El mecanismo por el que el sistema inmune regula este proceso es la eliminación tanto de los no efectivos como los potencialmente autorreactivos mediante apoptosis. Por lo tanto, el desarrollo de un sistema inmune maduro y efectivo depende de una serie de reguladores positivos y negativos de las vías de apoptosis.

MECANISMO DE ACCIÓN

Dado que la apoptosis actúa como oponente a la mitosis, es muy importante su relación con el ciclo celular. En el ciclo celular hay cuatro fases: mitosis (M), fase de control celular G1, síntesis de ADN (S) y fase de control G2. La apoptosis puede iniciarse en el tercio final de G1 para impedir que una célula dañada ingrese a la fase de síntesis de manera que las mutaciones no se reproduzcan durante la replicación del ADN y en la fase G2 para impedir que las células que no hayan llegado a la madurez entren en mitosis.

Los motores del ciclo celular son complejos proteicos formados por subunidades llamadas ciclina y kinasas dependientes de ciclinas (CDK), sintetizados por genes específicos. La síntesis de estos complejos es constante porque son altamente inestables, de ahí que el nivel de ellos varíe de acuerdo al momento evolutivo de la fase a que están asignados. Así en el avance de la fase G1 a la S actúa la ciclina D asociada a las kinasas ciclino-dependientes 2, 4 y 6 (cdk 2 4 6). En la segunda mitad del G1 aumenta la presencia de ciclina E con la kinasa ciclino-dependiente 2. En la fase de síntesis actúa la ciclina A con cdk 2 y en la fase G2, la ciclina B con cdk 2. En la fase G1 se han podido determinar dos puntos importantes: G0 (en la mitad de la fase) donde el ciclo puede detenerse y la célula bloquea su crecimiento pero se mantiene metabólicamente activa y un punto de restricción (en unión de los 2/3 con 1/3 final de esta fase) en que se puede detener el ciclo para corregir defectos celulares (en especial de su ADN), lo que si no se consigue induce el mecanismo de muerte celular. En la fase G2 también existen elementos de detección de inmadurez celular que inducen la apoptosis cuando la célula no está capacitada para entrar en mitosis. De esta manera, durante el ciclo celular se determina cuándo la célula debe entrar en el proceso de autodestrucción o continuar el ciclo y dividirse. Se ejerce así un balance entre mitosis y apoptosis, regulando la población celular de cada tejido.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En el mecanismo molecular que controla la apoptosis actúan varios agentes, de los cuales uno de los más importantes y mejor estudiados es el complejo de cisteinil-aspartato proteasas (caspasas). Se han descrito 11 caspasas en células humanas que provocan una degradación proteica bien definida hasta llegar a la formación de cuerpos apoptóticos. Algunas caspasas son "iniciadoras" y otras "efectoras" del proceso catalítico, actuando sobre endonucleasas que son las responsables directas de la fragmentación del ADN. La cadena de degradación proteica tiene sucesivos clivajes dependientes de la ubicación del ácido aspártico que se repite en la estructura de la enzima. Se han descrito hasta 40 sustratos en la catálisis, proceso que en células cultivadas dura entre 30 y 40 minutos. La activación de las caspasas, que existen en calidad de pro-caspasas inactivas, se produce por diversas vías en que participan varios complejos moleculares.

Vía extrínseca

La vía extrínseca o de los "receptores de muerte" establece conexiones con el espacio extracelular, recibiendo señales proapoptóticas desde el exterior y de las células vecinas. Dos familias de receptores se han identificado con estas características: la proteína Fas y el factor de necrosis tumoral (TNF).

La proteína transmembrana Fas en su porción intracelular enlaza con un factor intermedio denominado FADD (factor associated death domain), nombre que sólo señala que está comprometido con la zona de la molécula Fas que participa en la muerte celular, activando las caspasas-8 y -10. En cambio, si la parte interna de la molécula se asocia a otro factor llamado DaXX, se activan proteín-quinasas que conducen al efecto contrario, es decir, estimulan el ciclo celular y la mitosis. Esta vía Fas permanece inactiva hasta que se produce en su parte externa el enlace con un cofactor llamado ligando Fas, proteína que actúa como detonador que enciende una vía en que sólo las caspasas están inactivas y el resto de la cadena está preparado para recibir el enlace exterior. Esta característica permite actuar con gran rapidez sin necesidad de sintetizar otros factores.

Algo similar sucede con el otro receptor de membrana TNF. Su porción intracelular conecta con complejos intermedios como el Tradd (TNF receptor associated death domain) y Raidd (receptor associated interleukine death domain) que activan caspasas "iniciadoras" de la apoptosis. Pero si se asocian a otro complejo llamado Traf (TNF receptor associated factor) activan proteín-quinasas y estimulan la proliferación celular, es decir, el efecto contrario.

Las alternativas de una misma vía de actuar en pro o en contra de la apoptosis se repiten en otros mecanismos.

Vía intrínseca o mitocondrial

Otra vía de inducción de apoptosis es la vía llamada mitocondrial. Las proteínas de la familia de Bcl-2 regulan la apoptosis ejerciendo su acción sobre la mitocondria. La activación de proteínas pro-apoptóticas de la familia de Bcl-2 produce un poro en la membrana externa de las mitocondrias que permite la liberación de numerosas proteínas del espacio intermembrana; entre ellas, el citocromo c.

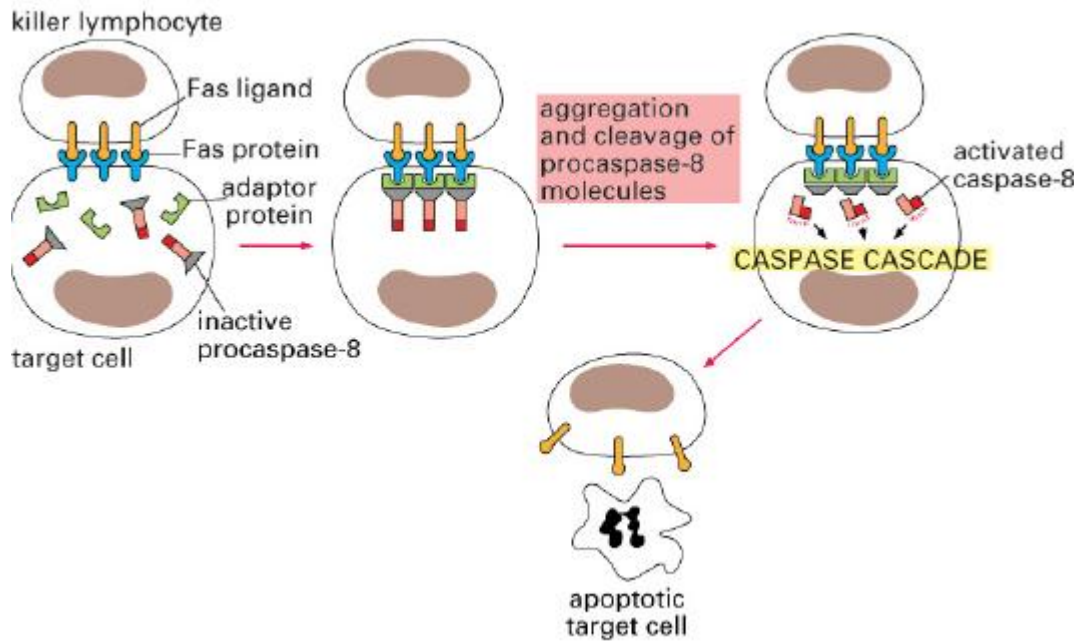
El citocromo c, una vez en el citosol, activa un complejo proteico llamado "apoptosoma", que activa directamente a la caspasa-9. Una vez que la caspasa-9 está activada, ésta activa a las caspasas efectoras como la caspasa-3, lo que desencadena las últimas fases de la apoptosis.

Las proteínas de la familia de Bcl-2 se agrupan en tres familias: la familia de las proteínas antiapoptóticas (Bcl-2, Bcl-Xl, Mcl-1 y otras); la familia de proteínas proapoptóticas de tipo "multidominio" (Bax y Bak) y las proteínas proapoptóticas de tipo "BH3-only" (Bid, Bim, Bad y otras). Las proteínas tipo multidominio pueden producir poros por si solas en liposomas, lo que indica que probablemente son suficientes para formar el poro mitocondrial que permite la liberación del citocromo c. Las proteínas tipo *BH3-only* activan a estas proteínas, y las antiapoptóticas inhiben la formación del poro. Estas proteínas son los reguladores más importantes del proceso de apoptosis.

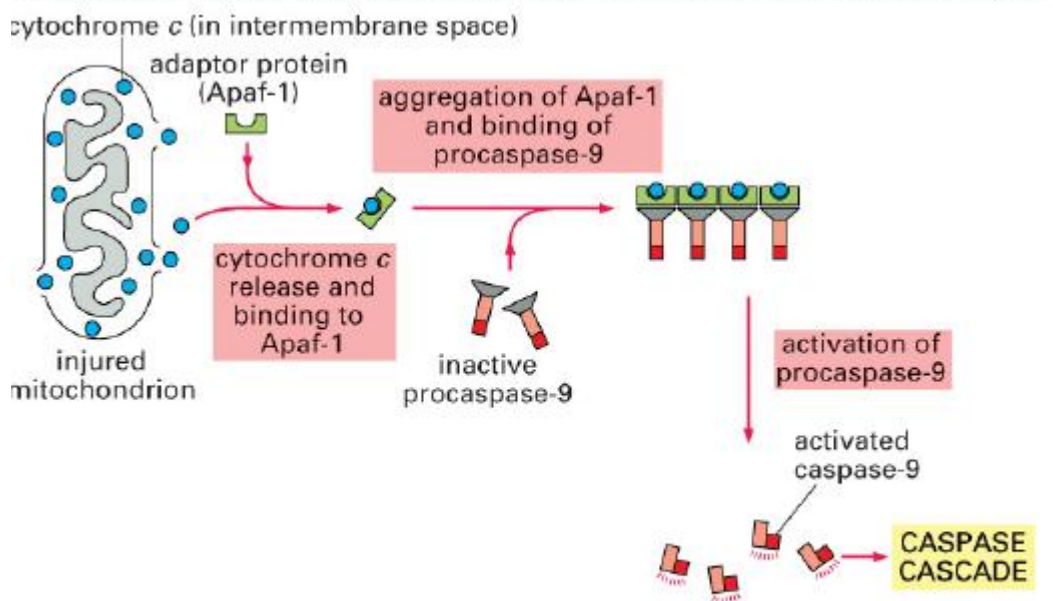
La vía mitocondrial puede conectarse también con la vía de receptores de muerte, ya que una vez activada la caspasa-8 por dichos receptores, esta caspasa activa a la proteína Bid, lo que provoca la apertura del poro mitocondrial y la activación de la caspasa-9.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

(A) ACTIVATION OF APOPTOSIS FROM OUTSIDE THE CELL (EXTRINSIC PATHWAY)



(B) ACTIVATION OF APOPTOSIS FROM INSIDE THE CELL (INTRINSIC PATHWAY)



PATOLOGÍAS VINCULADAS CON LA APOPTOSIS

La apoptosis es una función biológica de gran relevancia en la patogenia de varias enfermedades estudiadas hasta el momento. Podemos destacar el cáncer, malformaciones, trastornos metabólicos, neuropatías, lesiones miocárdicas y trastornos del sistema inmunitario.

- **Enfermedades asociadas a la inhibición de la apoptosis:**

1. Cáncer: linfoma no Hodgkin folicular (Bcl-2 +), carcinoma (p53 +), tumores hormono-dependientes
2. Enfermedades autoinmunitarias: lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis autoinmunitaria
3. Infecciones virales: Herpesvirus, Poxvirus, Adenovirus

- **Enfermedades asociadas a aumento de la apoptosis:**

1. SIDA
2. Enfermedades neurodegenerativas: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, retinitis pigmentosa, degeneración cerebelosa
3. Síndromes mielodisplásicos (MDS): anemia aplásica

APOPTOSIS Y CANCER RECTAL EN ESTADIO AVANZADO SOMETIDO A TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

La mayoría de los carcinomas rectales se originan a partir de lesiones polipoides tipo adenomas, destacándose que un reducido índice de apoptosis es observado en la transformación maligna de estos adenomas [330-332], aunque todavía queda por aclarar el verdadero papel de la apoptosis en el desarrollo de estas lesiones malignas [333-335].

En la situación concreta del carcinoma rectal sometido a tratamiento neoadyuvante, la apoptosis puede jugar un papel importante como valor predictivo de respuesta a este tratamiento, previo a la intervención quirúrgica de los tumores rectales que se encuentran en estadios altos.

Es importante destacar que el tratamiento con radioterapia antes de la cirugía no produce las mismas respuestas en los distintos pacientes, dependiendo esta situación de los distintos protocolos de administración que existen (dosis administrada, tiempo de administración, tiempo transcurrido entre la última dosis y

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

la intervención quirúrgica)[336, 337]. Sin embargo es también importante destacar que pacientes con características epidemiológicas y clínico-patológicas similares presentan respuestas diferentes al tratamiento neoadyuvante. Estas diferencias probablemente se deban a características biológicas intrínsecas e individuales de cada lesión neoplásica.

Diversos marcadores moleculares asociados en la regulación del ciclo celular, apoptosis, o reparación del DNA han sido propuestos como marcadores pronósticos y de respuesta al tratamiento neoadyuvante, aunque hasta la fecha ninguno ha sido demostrado como marcador predictivo de respuesta a quimiorradioterapia prequirúrgica [338-343].

Muchos estudios han intentado asociar la importancia de la apoptosis con la respuesta al tratamiento neoadyuvante en el carcinoma rectal, utilizando en sus estudios marcadores implicados en la ruta de la apoptosis tan fundamentales como el bcl-2, p53, Bax e incluso estableciendo asociaciones con la actividad proliferativa del tumor. La importancia de estas conclusiones radica en la posibilidad de individualizar a los pacientes entre los que responderán al tratamiento neoadyuvante y los que no.

La apoptosis ocurre de forma espontánea en los distintos tumores, y el grado en que ésta ocurre varía incluso entre los del mismo origen histopatológico.

Rich y colaboradores [344] encontraron un mayor índice apoptótico en muestras tumorales de pacientes que no habían sido sometidos a tratamiento neoadyuvante y que tras el mismo habían presentado una buena regresión tumoral respecto a aquellos casos donde la regresión tumoral no había sido buena .

Scott y colaboradores [345] en un estudio realizado con una pequeña muestra de 24 casos, obtuvieron resultados similares.

Estudios epidemiológicos que comparan los niveles de apoptosis en muestras biópsicas de tumores no tratados con neoadyuvancia y muestras correspondientes a la pieza quirúrgica tras haber sido sometida a tratamiento neoadyuvante, concluyen con un incremento del índice de apoptosis en las muestras de la pieza quirúrgica [346], observándose un mayor índice apoptótico entre los “respondedores” al tratamiento neoadyuvante respecto a los que no responden[347]. Sin embargo otros tumores sólidos han presentado resultados contradictorios en el papel de la apoptosis en la respuesta al tratamiento con radioterapia y/o quimioterapia previa a la cirugía [348].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

¿Qué es lo que determina que un tumor sea más o menos propenso a la apoptosis? Aunque desde la literatura médica queda claro que la tendencia a la apoptosis puede ser regulada mediante diversos factores, dos genes parecen tener una importancia fundamental.

El p53 (gen supresor tumoral) y el bcl-2 (oncogén). En ciertas líneas celulares la pérdida de función de p53 ha dado como resultado una disminución de la apoptosis y por lo tanto una mayor radiorresistencia [349], aunque otros autores presentan conclusiones contrarias [350]. Fu y colaboradores [351] realizaron un estudio combinando la p53 y p21 mediante estudio inmunohistoquímico y lo asociaron con la respuesta al tratamiento neoadyuvante. Los resultados fueron, que más del 80% de los casos con p53+ y p21- eran casos con buena respuesta al tratamiento prequirúrgico, mientras que en más del 90% de los casos con p53- y p21+ eran casos con mala respuesta a la radioterapia prequirúrgica.

El gen bcl-2 sintetiza una proteína de membrana intracelular con capacidad para inhibir la apoptosis. Dos grupos de estudio distintos han publicado una inversa relación entre bcl-2 y la apoptosis espontánea en el carcinoma rectal [352]. Rich y colaboradores encontraron una mejor respuesta al tratamiento neoadyuvante en tumores que eran bcl-2 negativos. Aunque en una mayoría de estudios no se encontraba asociación entre bcl-2, apoptosis y regresión tumoral tras tratamiento. [345, 346].

Bax es una proteína proapoptotica. Su expresión induce alteración de la permeabilidad mitocondrial, lo que conduce a la liberación del citocromo c y al comienzo de una cascada de reacciones que culminan con la muerte celular [353]. El papel de Bax en la respuesta al tratamiento neoadyuvante ha sido evaluado en múltiples estudios; la pérdida de la expresión se ha observado en situaciones de mala respuesta al tratamiento neoadyuvante en el carcinoma rectal [322, 354], mientras que la sobreexpresión se ha observado en situaciones de mejor respuesta, mediante una inducción de la apoptosis [355, 356]. A pesar de estas afirmaciones, Rau y colaboradores [340] presentaron unos resultados contrarios en un estudio donde evaluaban el factor pronóstico de p53, p21, Bax, Ki67 y hMSH2 en carcinomas rectales antes y después de tratamiento quimiorradioterápico previo a cirugía. Sus resultados concluían que los niveles de Bax y del resto de marcadores estudiados no tenían influencia con la respuesta al tratamiento, aunque una expresión reducida de p21 y una expresión incrementada de Ki67 tras el tratamiento se correlacionaban con una mejor supervivencia. Estas conclusiones también fueron compartidas parcialmente por Chang y colaboradores [357], quienes sugirieron que la apoptosis juega un papel importante en la respuesta del carcinoma rectal al tratamiento neoadyuvante y que la proteína Bax puede ser un marcador en la predicción de la respuesta del carcinoma rectal. Sin embargo, el 46% del grupo de

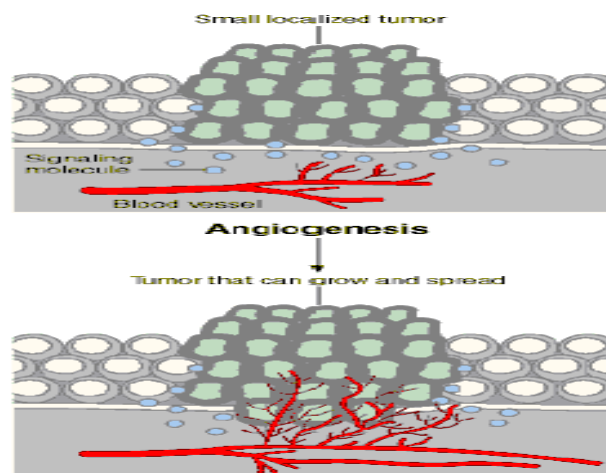
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

casos que presentaron una total regresión tras tratamiento no expresaron Bax. Esta situación implicaba que marcadores complementarios a Bax son necesarios para valorar la posibilidad de respuesta del carcinoma rectal al tratamiento neoadyuvante. En este contexto se investigó si la relación entre Bax/bcl-2 podía ser un complementario factor predictivo a la respuesta, sin embargo los resultados no fueron satisfactorios [358]. Tannapel y colaboradores observaron que tras tratamiento neoadyuvante se incrementaba la expresión de Bax y que los casos que respondían bien al tratamiento neoadyuvante presentaban un índice de proliferación menor (Ki67). El mecanismo mediante el cual la radioterapia prequirúrgica induce un incremento en la expresión de la proteína Bax y una reducción de la actividad proliferativa es aún desconocido. Por otro lado también observaron un mayor índice de apoptosis y expresión de Bax en tumores p53 negativos, sugiriendo que el p53 podría ser un factor regulador en la apoptosis del cáncer rectal[346].

2.14.2 ANGIOGÉNESIS

El término angiogénesis significa formación de vasos sanguíneos. Durante la misma se distinguen 2 procesos.

1. *Vasculogénesis*: formación de vasos sanguíneos provenientes de células endoteliales diferenciadas, que proliferan a la par del crecimiento del cuerpo y que generalmente se detiene después de establecerse la estructura vascular adulta.
2. *Angiogénesis*: La angiogénesis o neovascularización es la neoformación de vasos sanguíneos que se origina por la gemación o brote de vasos ya existentes es un mecanismo que puede ocurrir durante toda la vida.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La angiogénesis ocurre como un proceso fisiológico, durante el ciclo reproductivo de la mujer fértil a nivel del endometrio, en el ovario durante el crecimiento de la red capilar folicular y en la formación de la placenta. Es fundamental para la actividad reproductiva y para la reparación o cicatrización de los tejidos[359].

La formación y el crecimiento de los vasos es un fenómeno estrictamente controlado. La angiogénesis se convierte en un proceso patológico que acompaña a la aparición de enfermedades neoplásicas y no neoplásica (Imagen 2.1).

La desviación de los tejidos hacia un fenotipo angiogénico, incluye cambios en el equilibrio local entre los factores reguladores positivos y negativos (Imagen 2.2), del crecimiento de los vasos y que ocurre por uno de los mecanismos siguientes:

- Sobreexpresión intracelular de uno o más reguladores positivos de la angiogénesis.
- Movilización de proteínas angiogénicas de la matriz extracelular (producidas por los macrófagos).
- Combinación de estos procesos.

Existen 12 proteínas angiogénicas reconocidas en la actualidad. Las más comúnmente identificadas en los tumores son el factor de crecimiento básico de fibroblastos (Bfgf) y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) (tabla 1)[360].

Los factores reguladores que inhiben o disminuyen la angiogénesis pueden actuar por 2 mecanismos:

1. Inhibición de la proliferación celular.
2. Inhibición de la quimiotáxis.

Estas moléculas pueden actuar desde la circulación o en la matriz extracelular (Tablas 2.8 y 2.9).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 2.8. Reguladores endógenos positivos de la proliferación de las células endoteliales

Factor	Peso molecular	Años
Mitógenos endoteliales		
Factor de crecimiento de fibroblastos		
Básico	18	1984
Ácido	19,4	1984
Factor de crecimiento del endotelio vascular	45	1985
Factor de transformación α	5,5	1985
Factor estimulador de las colonias de granulocitos	17	1986
Factor de crecimiento placentario	25	1986
Interleukina 8	40	1987
Factor de crecimiento de los hepatocitos	92	1983
Proliferina	35	1989
Cambios en la síntesis de ADN		
Factor de crecimiento de las células endoteliales-derivado de plaquetas	45	1991
Otros mecanismos		
Factor de transformación β	25	1992
Factor de la necrosis tumoral	17	1993
Angiogeninas	14,1	1994

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 2.9 *Reguladores endógenos negativos de la proliferación de las células endoteliales*

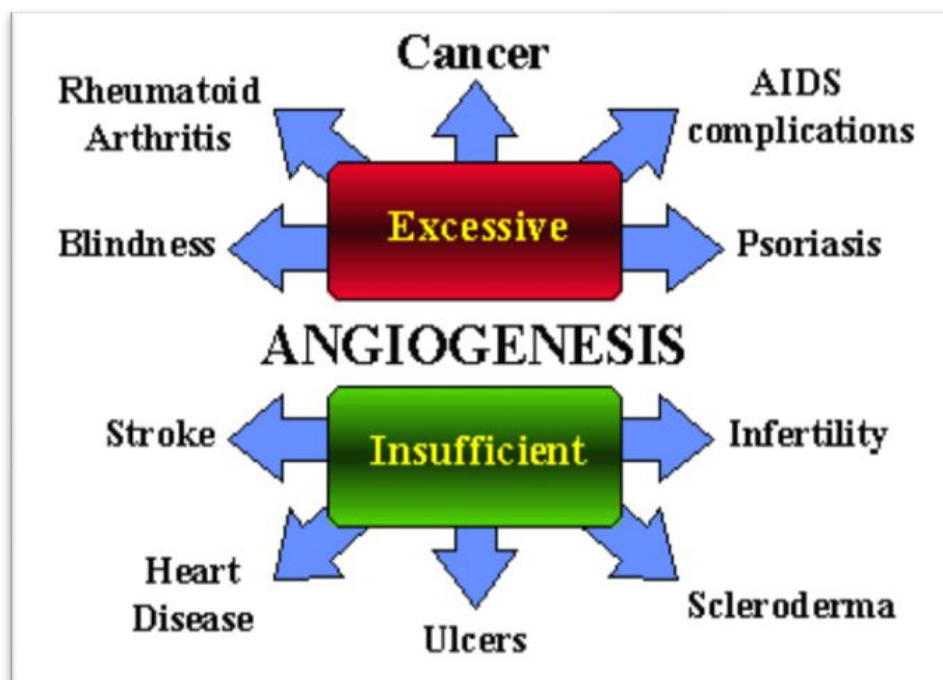
Factor	Inhiben la proliferación	Inhiben la quimiotaxis	En la circulación	En la matriz extracelular
Factor plaquetario Trombospodina-1	Sí	Sí	Sí	No
	Sí	Sí	Sí	Sí
Inhibidores de las metaloproteinasas				
TIMP-1	No	Sí	Sí	Desconocido
TIMP-2	Sí	Sí	Sí	Desconocido
TIMP-3	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Sí
Prolactina	Sí	Sí	-	-
Angiostatina	Sí	Sí	Sí	-
FGF-r	Sí	-	Sí	-
TGFb	Sí	Sí	Sí	-
Interferón alfa	Sí	Sí	Sí	-
Proliferinas placentarias	Sí	Sí	Sí	-

ANGIOGÉNESIS NO TUMORAL

El término "enfermedades angiogénicas" es aplicable a procesos caracterizados por un crecimiento anormal de la microcirculación, tanto en defecto como en exceso. Como ejemplos se pueden citar:

- Neovascularización ocular[361].
- Isquemia cardíaca[359].
- Aterosclerosis (neovascularización de las placas de ateroma).
- Hemangiomas en la infancia.
- Artritis reumatoide.
- Psoriasis.
- Úlcera péptica.

Imagen 2.1. Enfermedades angiogénicas



ANGIOGÉNESIS TUMORAL

Se define como la nueva formación de vasos sanguíneos, producida o mediada por las células tumorales.

Los vasos sanguíneos son un componente importante del estroma tumoral y por lo tanto la angiogénesis es un factor que puede predecir el pronóstico en muchas neoplasias humanas y tanto es así, que se considera que existe una correlación importante entre el número y la densidad de los vasos sanguíneos con los estados metastásicos, tamaño del tumor, tipo histológico y por consiguiente grado de malignidad tumoral[362]. Imagen 2.3

La realización del crecimiento tumoral requiere de nuevos vasos y la identificación de los factores que median en la angiogénesis permite comprender este proceso patológico y abre nuevos horizontes hacia el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad [359].

Fase prevascular

El tumor se desarrolla sin neovascularización. Rara vez sobrepasan los 2 a 3 mm³, suelen ser lesiones asintomáticas y clínicamente no detectables. Sus células pueden crecer tan rápido como en las variedades vascularizadas pero predominan las micrometástasis, pues la proliferación y la muerte celular se mantienen en equilibrio.

Fase angiogénica

Se declara cuando un subgrupo de células se desvían hacia un "fenotipo angiogénico" y el tumor se vasculariza. A partir de este momento, cambian las perspectivas clínicas, el tumor se convierte en clínicamente detectable, sintomático, produce metástasis y aumenta su grado de malignidad [363].

Los nuevos vasos dotan al tumor de una vía a través de la cual las células tumorales emigran del tumor primario y entran en la circulación.

El aumento de los vasos neoformados se relaciona con un peor pronóstico en los tumores sólidos. Sin embargo en los tumores de partes blandas (angiosarcomas, liposarcomas, hemangiopericitoma) no se correlaciona con la existencia de metástasis a distancia, ni recurrencia local. En éstos el patrón de vascularización es más un criterio diagnóstico que un factor predictivo [364].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Moléculas más frecuentemente implicadas en la Angiogénesis tumoral:

Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)

Existen 2 variedades, ácidas y básicas, ambas pueden por estimulación paracrina incrementar la síntesis de factores angiogénicos por los macrófagos del tejido conectivo o estimular la proliferación de las células endoteliales [365]. El FGF al igual que otros factores de crecimiento tumoral, al aumentar el índice de actividad mitótica, facilita la proliferación de las células tumorales y endoteliales vasculares en las áreas más vascularizadas del tumor[360].

Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)

Es considerado el factor de crecimiento angiogénico más importante [366]. Generalmente actúa de forma coordinada con otros factores como el PDGFB. Se expresa abundantemente en tumores de origen epitelial y asociado con otros estados clínicos como isquemia del miocardio y enfermedades retinianas, en las cuales su elevación es estimulada por la isquemia tisular. En los tejidos neoplásicos su síntesis es promovida por las propias células tumorales [360, 366].

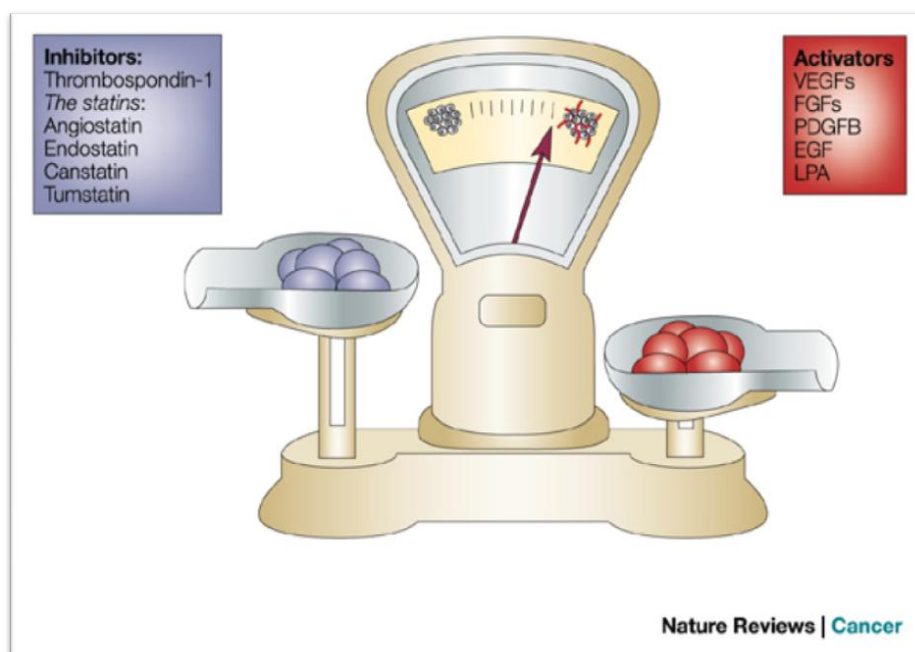


Imagen 2.2 Factores activadores e inhibidores de la angiogénesis tumoral

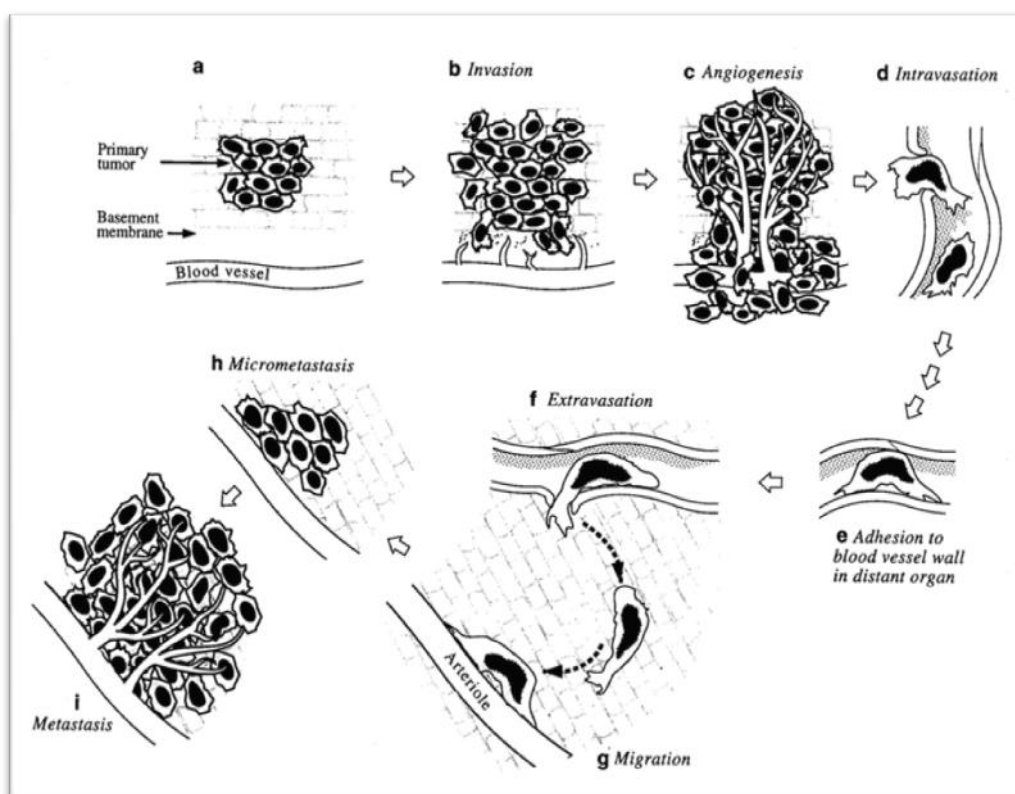


Imagen 2.3 Fases de la angiogénesis en lesiones neoplásicas malignas

IMPORTANCIA PRÁCTICA DE LA ANGIOGÉNESIS

1. Diagnóstico y pronóstico de procesos patológicos.
2. Aceleración terapéutica durante la reparación tisular.
3. Inhibición terapéutica.

1. Aplicaciones diagnósticas y pronósticas

El empleo de técnicas inmunohistoquímicas (IHQ), permite cuantificar la angiogénesis mediante marcadores endoteliales como el factor de Von Willebrand [362]; PECAM-1; las VE-Cadherinas, reconocidas como el único marcador endotelial específico identificado; marcadores moleculares como la IL-6, factor paracrino capaz de estimular directamente la angiogénesis; los factores de crecimiento VEGF y FGF-b [359, 365]; los genes de p53 [367], el factor VIII [368] y los gangliósidos GM3 y Gtlb [367].

La cuantificación de la angiogénesis permite:

- Predecir la presencia de metástasis.
- Predecir la recurrencia de un tumor.
- Diferenciar procesos proliferativos.
- Predecir la involución de las lesiones.

2. Aceleración terapéutica

Se han realizado estudios preclínicos en los que la aceleración de la angiogénesis en pacientes con úlcera gástrica o duodenal causada por drogas (antiinflamatorias no esteroideas) refractarias al tratamiento convencional, acelera el proceso de curación tras la administración de FGF b por vía oral.

3. Inhibición terapéutica

La neovascularización paradójicamente reduce de forma gradual el acceso al tumor de las drogas quimioterapéuticas. En los estadios iniciales los tejidos tumorales están en general bien perfundidos, pero el incremento de la presión intersticial y la relativa ausencia de linfáticos intratumorales, puede causar compresión vascular y de forma eventual necrosis. La terapia tumoral antivascular es considerada una novedosa forma de terapia anticáncer, pues la inhibición de la angiogénesis es efectiva en el control del crecimiento tumoral. Se han obtenido compuestos antiangiogénicos naturales y tumorales, que se encuentran en estudios preclínicos.

ANGIOGÉNESIS TUMORAL EN EL CÁRCINOMA DE RECTO

La angiogénesis juega un papel importante en el desarrollo y progresión en la evolución de distintas lesiones malignas, presentando también una gran importancia en la diseminación de las células tumorales a distancia [369, 370].

Poco se sabe del mecanismo mediante el que las células tumorales consiguen entrar en el sistema linfático. Algunos autores piensan que los vasos linfáticos tienen un papel pasivo frente a las células tumorales que se encuentran en proximidad. Por el contrario otros autores piensan que la linfangiogénesis juega un papel más activo en las metástasis ganglionares [371, 372]. Se han realizado estudios sobre la importancia pronóstica de la densidad de vasos linfáticos, observándose que no existe un acuerdo concluyente sobre la importancia de los mismos en las metástasis [371-373].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El sistema linfático es el primer camino que suelen tomar las células neoplásicas de muchos tumores en el caso de las metástasis, y las metástasis ganglionares suelen ser un elemento pronóstico fundamental.

Diversos estudios han defendido que dentro de los tumores sólidos no existían vasos linfáticos, observándose tan solo en la periferia de los mismos [374, 375], sin embargo Clarijs y colaboradores [376] demostraron la presencia de vasos linfáticos en el seno del tumor, mediante técnicas inmunohistoquímicas con CD31 y PAL-E. Otros autores han observado este fenómeno en el caso concreto de los melanomas [377], mama [377], tumores de cabeza y cuello [378], carcinoma de páncreas [379] y carcinoma colorrectal [380].

La angiogénesis y la linfangiogénesis pueden aportar información útil en la evaluación del cáncer rectal, principalmente para estimar el riesgo de metástasis. Sin embargo no se le ha dado la misma importancia pronóstica a si estos vasos linfáticos se localizan en el seno del tumor o en la periferia de los márgenes infiltrantes, no habiendo acuerdo entre los distintos autores [381].

Hasta hoy día son pocos los estudios que han pretendido asociar la cantidad de estructuras vasculares con el pronóstico del carcinoma rectal y con la asociación de otros factores pronósticos [380, 382]. En estos estudios se ha observado una tendencia a la asociación entre la densidad de estructuras vasculares y la presencia de metástasis ganglionares, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos [382]. Por el contrario, en un estudio realizado por Saad y colaboradores [380] se utilizó un marcador inmunohistoquímico (D2-40) que marcaba de forma específica los vasos linfáticos. En este estudio se observó una asociación estadísticamente significativa entre la densidad de vasos linfáticos intratumorales y la presencia de metástasis ganglionares y metástasis hepáticas con independencia del estadio tumoral. En este mismo estudio se observó una correlación entre la densidad de estructuras vasculares D2-40 (vasos linfáticos) y la densidad de estructuras vasculares CD31, concluyendo que la angiogénesis y linfangiogénesis pueden ocurrir a través de un mismo mecanismo.

Numerosas publicaciones han transmitido la idea de que las células neoplásicas son capaces de sintetizar factores de crecimiento angiogénicos, incluyendo VEGF [370, 383]. Algunos estudios han apoyado la idea de que el VEGF tiene un valor pronóstico independiente [370, 383]. Sin embargo otros muchos estudios no han compartido dicha conclusión [384].

Una vez explicada la importancia de la angiogénesis en la evolución pronóstica de las distintas lesiones neoplásicas, es de interés destacar su importancia en el tratamiento y en el diseño de diferentes agentes que actúen frente

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

a las células tumorales, o mejor expresado frente a la angiogénesis y en consecuencia frente a la lesión neoplásica.

Como anteriormente se ha mencionado, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un potente mediador de la angiogénesis tumoral [385]. El VEGF puede ser activado por las células tumorales a través de múltiples factores que incluyen oncogenes, genes supresores de tumor, citoquinas (IL1, IL 6) e hipoxia [386]. Se ha visto que el VEGF conduce a un incremento de la permeabilidad de la vascularización de los vasos tumorales, produciéndoles una capacidad defectuosa en su difusión de oxígeno y afectando a la capacidad de transmisión de los distintos agentes quimioterápicos contra las células tumorales[386, 387].

Numerosos estudios inmunohistoquímicos han demostrado la ausencia de VEGF en la mucosa intestinal normal, mientras que se ha demostrado su presencia en los carcinomas colorrectales. Wong y colaboradores [388] investigaron la relación temporal entre la expresión de VEGF y la evolución adenoma-carcinoma, interpretando que el VEGF es un factor que inicia la angiogénesis en una fase temprana de la secuencia adenoma-carcinoma. Nozue y colaboradores [389] describieron la importancia del VEGF antes y después del tratamiento neoadyuvante en carcinomas rectales en estadios avanzados. Los resultados mostraron que la inmunorreactividad de VEGF era más intensa cualitativa y cuantitativamente tras el tratamiento neoadyuvante. Otros estudios [390] han concluido que la inmunorreactividad leve o negativa en las células tumorales de muestras biópsicas tomadas antes del tratamiento neoadyuvante, tiene una fuerte asociación con una completa regresión tumoral o una mejor respuesta al tratamiento neoadyuvante (100% de los carcinomas rectales con VEGF negativo en endoscopia diagnóstica pretratamiento respondían frente al tratamiento neoadyuvante). Las conclusiones de este último estudio demuestran que el VEGF evaluado inmunohistoquímicamente sobre muestras biópsicas de tumores preirradiados puede resultar de utilidad como predictor de respuesta al tratamiento neoadyuvante.

En 1971, Judah Folkman fue el primero en relacionar la angiogénesis tumoral como un elemento fundamental sobre el que actuar en el tratamiento del cáncer y que la angiogénesis es un componente necesario en el crecimiento de tumores sólidos y hematológico [391]. El carcinoma colorrectal ha sido el primer tipo de tumoración sólida donde la terapia que actúa sobre la inhibición de la angiogénesis ha dado unos resultados positivos en cuanto a la supervivencia se refiere [392]. En concreto se trata del tratamiento con Bevacizumab, con el cual se han obtenido resultados positivos en el tratamiento de cáncer colorrectal (en otros tipos de cáncer esta bajo una activa investigación), mediante su efecto de inhibición de la angiogénesis [393]. Asimismo también se está investigando con otros agentes antiangiogénesis como el Vatalamib, Celecoxib, Talidomida, Angiozima, etc.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El estudio del carcinoma colorrectal que se realiza sobre pacientes que han sido diagnosticados en un estadio inicial de la enfermedad es interesante con el fin de establecer categorías pronósticas que nos permitan diferenciar aquellos pacientes que se van a beneficiar de terapias complementarias o por el contrario éstas no les va a producir ningún efecto beneficioso, y por tanto, evitaren la reacciones adversas a las mismas. Todavía no existe consenso sobre la importancia de la angiogénesis vascular en estas situaciones.

Takahashi, Frank y cols, [384, 394] indican que el pronóstico es significativamente mejor en el grupo de pacientes con menos angiogénesis respecto al conjunto de pacientes que tienen una mayor angiogénesis.

En un trabajo realizado por Giatromanolaki y cols [395] se vió una fuerte asociación entre el infiltrado inflamatorio linfocitario CD3+ peritumoral y la intensidad de la angiogénesis en el seno del carcinoma colorrectal. Este mismo autor, en otro trabajo [396] ha demostrado que el infiltrado inflamatorio contribuye en el fenómeno de la angiogénesis vascular.

Jass [397] ya había demostrado con anterioridad que el infiltrado linfocitario es más intenso en los carcinomas colorrectales diagnosticados en estadio pN0, destacando la importancia del sistema inmune en la defensa de la progresión tumoral. Este mismo grupo de trabajo concluye que la densidad vascular en el seno del tumor diagnosticado en estadio pN0, no aporta ninguna información en cuanto al pronóstico si lo comparamos con otras variables con importancia pronóstica y que ya vienen reflejadas en los sistemas de estadiaje tradicionales como son el margen de infiltración y la profundidad de infiltración. La presencia del infiltrado linfocitario observado en los carcinomas colorrectales diagnosticados en estadios más precoces y el efectivo papel del sistema inmune en estimular la angiogénesis, puede interferir en la menor trascendencia de la angiogénesis vascular en predecir el pronóstico en este grupo de pacientes.

2.14.3 TIMIDILATO SINTETASA

En el caso del carcinoma rectal, la clasificación de Astler-Coller y el estadiaje TNM clasifica al carcinoma de acuerdo a su apariencia histológica. Sin embargo, la práctica clínica demuestra que aquellos tumores con características histopatológicas similares, presentan distintas respuestas al tratamiento y por lo tanto tienen pronóstico diferente.

Aunque se ha demostrado que el cáncer colorrectal presenta una patogenia muy heterogénea desde el punto de vista clínico y patológico, el tratamiento quimioterápico empleado, por el momento es estándar [398]. Habitualmente, todos los pacientes con carcinoma colorrectal en estadios III y IV son tratados con quimioterapia adyuvante. Sin embargo, un estudio realizado por Moertel y colaboradores [399] indica que tras la cirugía, la supervivencia a los 5 años era tan solo del 45%, mientras que los pacientes que han recibido quimioterapia adyuvante el porcentaje de supervivencia ascendía al 65%. Estos resultados indican que la mitad de los pacientes no hubieran necesitado la quimioterapia para su curación y que el 35% de los pacientes fallecieron a pesar del tratamiento adyuvante. Los cambios genéticos observados en el cáncer de recto están siendo estudiados como posibles marcadores que puedan predecir una respuesta a una intervención terapéutica [400].

La Timidilato Sintetasa es una enzima que participa en la síntesis de ADN. Es la diana intracelular fundamental para la acción de las fluoropirimidinas, entre las que se encuentran los fármacos antineoplásicos más usados en los carcinomas colorrectales, en forma de 5-FU y raltitrexed (Tomudex). La Timidilato Sintetasa cataliza la metilación de la deoxiuridina monofosfato. Esta reacción enzimática aporta la única fuente celular de timidina, por lo que es un paso crítico en la síntesis de ADN. En el interior de la célula el 5-FU es transformado en fluordeoxiuridina monofosfato, que es un potente inhibidor de la Timidilato Sintetasa. La administración conjunta de ácido fólico y 5-FU potencia la inhibición de la Timidilato Sintetasa. En cultivos in vitro de líneas celulares tumorales el nivel de la proteína Timidilato Sintetasa se relaciona inversamente con la sensibilidad y respuesta a 5-FU. Además se ha demostrado, in vivo e in vitro, que los niveles de Timidilato Sintetasa aumentan de forma reactiva, cuando se expone a las células a agentes citotóxicos como 5-FU [401].

En un estudio realizado sobre 294 pacientes con cáncer de recto, incluidos en el protocolo *National Surgical Adjuvant Breast Project*, se demostró que la expresión de Timidilato Sintetasa posee valor pronóstico de recidiva y supervivencia. La expresión elevada de Timidilato Sintetasa en el tumor se asoció con mala evolución. El 49% de los pacientes cuyos tumores presentaban baja expresión de Timidilato Sintetasa se encontraban libres de recidiva a los 5 años, frente al 27% en pacientes con niveles

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

elevados; además el 60% de los pacientes con niveles bajos de Timidilato Sintetasa estaban vivos a los 5 años frente al 40% con niveles altos de Timidilato Sintetasa. En un análisis multivariante el nivel de Timidilato Sintetasa se comportó como factor predictivo independiente del estadio de Dukes [402].

Recientemente se ha demostrado que la presencia de Timidilato Sintetasa es diferente cuantitativamente en las distintas localizaciones metastásicas del carcinoma rectal. Gorlick y colaboradores [403] han demostrado que los niveles de Timidilato Sintetasa es mayor en metástasis pulmonares que en las hepáticas. De estos datos podemos deducir la necesidad de cuantificar la expresión de esta enzima con el fin de obtener un mejor indicador de la falta de respuesta al 5-FU.

Existe una publicación que analiza la importancia del polimorfismo del gen de la Timidilato Sintetasa en el infraestadiaje del cáncer de recto tratado con quimioterapia preoperatoria basada en 5-FU. En este estudio quedan incluidos 65 pacientes y se demuestra que los valores altos de Timidilato Sintetasa hacen que el tratamiento quirúrgico no consiga bajar el estadio de la enfermedad (22 frente al 60%), demostrando resistencia al 5-FU [404].

Las vías de actuación de citostáticos como el 5-FU vienen catalizadas o facilitadas por determinadas proteínas que son sintetizadas por unos genes determinados, produciendo como resultado final un incremento o disminución de la Timidilato Sintetasa. Para ello disponemos del análisis de expresión de genes y de la determinación de los llamados polimorfismos genéticos. Un polimorfismo genético consiste en una variante genética frecuente en la población (>1%) y que puede modificar la función de la proteína para la que el gen está codificando.

Respecto a la expresión de genes, como anteriormente ya se ha mencionado, la relación de los títulos de expresión de la Timidilato Sintetasa tumoral y la respuesta al 5-FU ha sido demostrada. Lenz y colaboradores [405] demostraron en 57 pacientes con adenocarcinoma gástrico que la respuesta al tratamiento con 5-FU y la supervivencia están relacionados con los títulos de expresión de la Timidilato Sintetasa. Otros estudios se han basado en el grado de actividad y expresión del gen dihidropirimidina deshidrogenasa. En un estudio realizado por el grupo de Lenz se analizaron al mismo tiempo los valores de la Timidilato Sintetasa y la Dihidropirimidina deshidrogenasa en enfermos con neoplasia colorrectal. Se demostró que todos los pacientes que respondían al 5-FU tenían niveles bajos de Timidilato Sintetasa y Dihidropirimidina Deshidrogenasa, por lo que se concluye que estos factores son pronósticos en el carcinoma colorrectal. También es importante el incremento de la toxicidad al 5-FU producido por el déficit de Dihidropirimidina Deshidrogenasa y que explica los casos de toxicidad grave con la administración de este fármaco [406].

Respecto a los polimorfismos genéticos, son variaciones de la estructura de un gen, preferentemente de la zona promotora. Son variaciones germinales, por lo tanto forman parte de la estructura genética del individuo, de manera que no se modifican ni por efecto de los tratamientos. El análisis se puede realizar a partir de una muestra de

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

sangre con extracción de ADN de los linfocitos. En la mayoría de los casos se correlacionan con la expresión del gen y en la conservación o no de la función de la proteína.

El gen de la Timidilato Sintetasa presenta un polimorfismo en la zona promotora consistente en un doble o triple tándem de repetición de 28 pares de bases. Los pacientes pueden tener doble repetición en los dos alelos y ser homocigotos para dos repeticiones; triple repetición en los dos alelos y ser homocigotos para tres repeticiones, o tener dos o tres repeticiones y ser heterocigotos. Dado el elevado número de repeticiones hacen que el peso molecular sea distinto, se pueden separar estas formas mediante electroforesis. Estudios *in vitro* han demostrado que la triple repetición en los dos alelos da valores de hasta 2,6 veces más altos de Timidilato Sintetasa que para los homocigotos para dos repeticiones [407]. Según el polimorfismo de la Timidilato Sintetasa, los pacientes homocigotos para dos repeticiones serían más sensibles al 5-FU, mientras que los homocigotos para tres repeticiones serían más resistentes. Lenz y colaboradores [408] demostraron *in vivo*, que las concentraciones de Timidilato Sintetasa los pacientes homocigotos tres repeticiones (3/3) alcanzan cifras 3,6 veces superiores a las de los homocigotos para dos repeticiones (2/2). Esto indica un índice de respuesta del 9% para los 3/3 frente al 50% de los 2/2; las respuestas de los heterocigotos es del 15%.

Es importante destacar que aunque una alta expresión de Timidilato Sintetasa es indicativa de quimiorresistencia a 5-FU, una baja expresión no indica necesariamente que los pacientes vayan a responder.

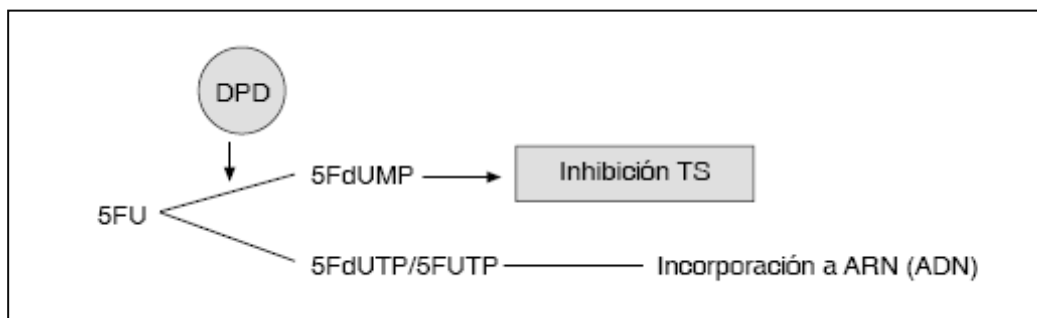
Los resultados que se han obtenido al asociar quimioterapia, expresión de Timidilato Sintetasa y evolución, han dado información paradójica. También se ha estudiado la importancia de la Timidilato Sintetasa sobre la evolución en pacientes con tumores en estadios B y C, randomizados para recibir cirugía sola o cirugía y quimioterapia. Los pacientes con mayor expresión de Timidilato Sintetasa se beneficiaron más con la administración de quimioterapia en comparación con los pacientes tratados solo con cirugía, no observando diferencias en pacientes con Timidilato Sintetasa baja. En pacientes con elevada expresión de Timidilato Sintetasa, 38% se encontraban libres de enfermedad y 54% sobrevivían a los 5 años cuando fueron tratados con quimioterapia, frente al 17% y 31%, respectivamente, en pacientes similares aunque tratados con cirugía solamente. Sin embargo también es posible que los pacientes con niveles bajos de Timidilato Sintetasa no hayan mostrado respuesta a la quimioterapia debido al comportamiento relativamente indolente de su enfermedad [409].

Otros genes también son investigados en su relación con la respuesta del cáncer colorrectal en tratamiento con 5-FU. Una reciente publicación demuestra que la sobreexpresión del gen p53 se correlaciona con una peor respuesta en pacientes con cáncer colorrectal tratados con bolus de 5-FU más Leucovorín [355]. El gen K-ras también ha sido investigado. Su influencia en la respuesta obtenida en el tratamiento

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

quimioterápico con 5-FU se ha analizado en dos estudios y en ninguno de los trabajos se ha demostrado asociación entre las mutaciones en este gen y la quimiosensibilidad [410].

MECANISMO DE ACCIÓN DE TIMIDILATO SINTETASA



2.14.4 SIGNIFICADO DE LA DIFERENCIACIÓN NEUROENDOCRINA

El significado de la diferenciación neuroendocrina en los distintos tumores viene determinado por su localización. Se ha publicado que la diferenciación neuroendocrina implica un mejor pronóstico en el caso de los carcinomas de páncreas [411], un mal pronóstico en los adenocarcinomas de próstata [412] y no presenta ninguna importancia pronóstica en el caso de los adenocarcinomas de mama [413]. La importancia de la diferenciación neuroendocrina en los carcinomas colorrectales es controvertida [414-416] y aunque la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha han sido concluyentes al afirmar que la mayoría de los adenocarcinomas de colon y recto que presentan diferenciación neuroendocrina tienen un peor pronóstico [415-417], también se han publicado trabajos donde se defiende lo contrario [414].

La presencia de las células neuroendocrinas en un adenocarcinoma colorrectal es una situación bien conocida. Utilizando la cromogranina como anticuerpo para la detección de las células neuroendocrinas se ha publicado que la presencia de las células neuroendocrinas en un adenocarcinoma oscila entre un 14% [418] y un 39,3% [419].

En la actualidad no hay consenso sobre el significado pronóstico de la presencia de las células neuroendocrinas en el carcinoma colorrectal, y según “*the college of American Pathologist Consensus Statement*” y “*the American Joint*

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference” [329], la presencia de diferenciación neuroendocrina focal en el carcinoma colorrectal no tiene significado pronóstico.

En el caso concreto de los carcinomas colorrectales que se diagnostican en estadios avanzados y que son sometidos según los actuales protocolos a terapia neoadyuvante con radioterapia junto con quimioterapia, cinco a seis semanas antes de la intervención quirúrgica, se ha observado que la variable de la diferenciación neuroendocrina juega un importante papel en el comportamiento de estos carcinomas. En los estudios más actuales sobre el tema se ha comprobado que el porcentaje de células con diferenciación neuroendocrina se incrementaba en los tumores que se sometían a un tratamiento neoadyuvante comparado con lo observado en la muestra de biopsia endoscópica previa al tratamiento. Este fenómeno también se ha observado en los adenocarcinomas prostáticos tras un tratamiento neoadyuvante [276, 420, 421]. La extensión de la celularidad neuroendocrina también se ha asociado al grado de respuesta al tratamiento neoadyuvante.

La hiperplasia de células neuroendocrinas aparece con frecuencia en el contexto de lesiones inflamatorias, como por ejemplo en pancreatitis crónicas y enfermedad inflamatoria intestinal. Se piensa que las células neuroendocrinas pueden ser más resistentes en una lesión inflamatoria. Existen dos hipótesis que pretenden explicar porqué las células neuroendocrinas incrementan su número cuando un carcinoma es sometido a tratamiento. La primera cita que un tumor con diferenciación neuroendocrina puede ser más resistente a la actividad citotóxica ejercida por los agentes utilizados en el tratamiento neoadyuvante [324, 421]. La segunda hipótesis trata sobre que el efecto citotóxico puede inducir a la diferenciación neuroendocrina sobre las células neoplásicas [276]. Recientes estudios han visto que los productos sintetizados por las células neuroendocrinas, como por ejemplo la serotonina, somatostatina y bombesina pueden tener influencia en el crecimiento tumoral estimulando su proliferación, agresividad local, potencial metastatizante y angiogénesis conjuntamente con una capacidad antiapoptoica en carcinomas prostáticos y colorrectales [412].

Los carcinomas colorrectales que han sido sometidos a un tratamiento neoadyuvante presentan unas características morfológicas, en las células neuroendocrinas observadas, diferentes respecto a los carcinomas que no han sido tratados. Los carcinomas colorrectales no sometidos a un tratamiento previo a cirugía contienen células neuroendocrinas de tamaño pequeño, cúbicas o piramidales localizadas entre las células epiteliales glandulares, con citoplasma claro-eosinófilico, presencia de gránulos, y más numerosas en las porciones profundas de las criptas. En los carcinomas rectales sometidos a terapia neoadyuvante las células neuroendocrinas presentan dos características

especialmente llamativas según la positividad a cromogranina. En carcinomas con positividad focal y escasa (1+) las células neuroendocrinas tienen características morfológicas similares a las de los carcinomas no tratados, sin embargo los tumores con positividad a cromogranina 2+ las células neuroendocrinas tienen una calidad tintorial eosinofílica o anfofílica típica. Las células contienen núcleos que tienen una cromatina densa, aunque también se puede observar una cromatina vesicular y se pueden observar nucleolos mientras que las mitosis son infrecuentes. Se piensa que el origen de las células neuroendocrinas en el carcinoma colorrectal es de células madre de origen endodérmico [422].

En un estudio realizado por Shia Jinru y colaboradores [276] se observó que tanto el tratamiento neoadyuvante basado en radioterapia solo, como el tratamiento neoadyuvante consistente en radioterapia junto con quimioterapia condicionaban una diferenciación neuroendocrina, aunque se apreció una positividad más extensa e intensa (2+) en la tinción a cromogranina a los pacientes que fueron tratados con radioterapia y quimioterapia que en los tratados solo con radioterapia, por lo que se señaló que la quimioterapia podría tener un efecto añadido a la radioterapia en la diferenciación neuroendocrina.

2.14.5 ACTIVIDAD PROLIFERATIVA

2.14.5.1 Ki 67 (MIB1)

Es importante en primer lugar aclarar y definir la terminología asociada al Ki 67: por un lado se encuentra al antígeno o estructura proteica llamada pKi 67 que corresponde a una proteína nuclear no histona expresada por células en fase proliferativa G1, G2, M y S y por otro lado se encuentra el anticuerpo Ki 67 (MIB1) que es monoclonal y detecta los epitopos del antígeno resistentes a formalina [423].

Hoy día se conoce mucho sobre la estructura, localización y regulación de pKi67 [424]. Es una proteína de aproximadamente 396 Kda, codificada por casi 30.000 pares de bases dentro del genoma humano [425]. La proteína sufre fosforilación y defosforilación durante el proceso de mitosis y tiene una localización en el núcleo celular muy compleja y específica. Se sabe que la pKi 67 se asocia con el componente denso fibrilar del nucléolo [426]. La regulación de pKi67 está finamente controlada, la vida media es de 60-90 minutos y su cantidad durante cada fase del ciclo celular está regulada estrictamente a través de precisos sistemas de síntesis y degradación [427]. En cuanto a su función, a día de hoy poco se conoce sobre esta proteína, aunque se sabe que es vital para la proliferación celular.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La pKi67 ha sido utilizada como una herramienta diagnóstica importante en el diagnóstico diferencial de distintas entidades, así por ejemplo, puede ser clave en el diagnóstico diferencial entre el melanoma y otras lesiones melanocíticas con características histológicas “border line” para malignidad. También puede ser útil para distinguir entre atrofia postmenopausica y neoplasia intraepitelial del cérvix (CIN). Otra utilidad diagnóstica es la posibilidad de diferenciar entre el carcinoma de células basales y el tricoepitelioma al igual que entre el carcinoma de próstata y la hiperplasia de células basales[426, 428].

Otra característica importante de la pKi67 es la posibilidad de ser un marcador pronóstico de determinadas lesiones proliferativas de carácter maligno, como por ejemplo en el cáncer de mama, donde la mayoría de estudios demuestran una fuerte asociación estadísticamente significativa con el pronóstico, tanto en análisis univariante como en el análisis multivariante [429-431], sin embargo existen otras lesiones malignas donde esta característica pronóstica no está claramente definida, como por ejemplo en los linfomas no Hodgkin y en los carcinomas de cérvix [432] aunque en otras publicaciones se describen resultados contrarios a esta hipótesis.

Ki 67 (MIB1) Y CÁNCER RECTAL

La supervivencia de los pacientes con cáncer rectal viene determinada de forma claramente definida por el grado de infiltración neoplásica y por la existencia de metástasis en el momento del diagnóstico de la enfermedad.

Los resultados obtenidos de la asociación pronóstica entre el cáncer rectal y el Ki67 (MIB1) son contradictorios. En un estudio realizado por Salminem y colaboradores[428] se obtuvieron unos resultados que describían que cuanto mayor era la expresión de pKi67 mejor era el pronóstico que presentaba el carcinoma localizado en recto. En este estudio se observaba que al contrario de lo que se describe en otras lesiones neoplásicas, el grado histológico por sí solo no caracteriza al tumor rectal desde el punto de vista pronóstico. Los carcinomas rectales que se encuentran en un mismo estadio pueden ser heterogéneos desde el punto de vista de la actividad proliferativa. En dicho estudio la expresión del antígeno pKi67 era independiente del grado histopatológico y como factor pronóstico daba más información que el grado histológico de diferenciación. Esta discrepancia que presenta el carcinoma rectal respecto a las lesiones neoplásicas de otras localizaciones en su expresión del pKi67, se puede justificar mediante dos teorías; en los carcinomas rectales se realizan algunas maniobras con laxantes o enemas previos a la intervención quirúrgica que tienen como objetivo vaciar el contenido de la luz intestinal. En estas maniobras se utilizan sustancias que

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

estimulan la actividad proliferativa de la mucosa intestinal [433]. La otra teoría sugiere que las lesiones ulcerosas pueden incrementar la actividad proliferativa del límite de la luz intestinal, dando como resultado una mayor expresión de pKi67 [434].

El valor como elemento pronóstico de la expresión de pKi67 en los carcinomas rectales puede variar en función de donde es tomada la muestra. Kimura y colaboradores [435] observaron que las muestras correspondientes a las zonas más profundas de la lesión neoplásica presentaban peor pronóstico en pacientes con niveles de Ki67 (MIB1) más altos. Palmqvist y colaboradores [434] expusieron que los carcinomas colorrectales en estadio B de Dukes con una baja actividad proliferativa localizada en el margen de infiltración, presentaban peor pronóstico comparado con aquellos casos donde los valores eran altos.

Los tumores con elevada actividad proliferativa son más sensibles a la radioterapia neoadyuvante. Willett y colaboradores [436] afirmaron que la radiación eliminaba de forma preferente a las células que más rápidamente se dividen en el cáncer rectal, mientras que aquellas poblaciones con menor actividad proliferativa son más radiorresistentes, por lo que, aunque la supervivencia se reduce en estadios más avanzados, dentro de cada estadio tumoral aquellos casos que presenten una mayor actividad proliferativa, también presentan un mejor pronóstico y una mayor respuesta a la quimioterapia y radioterapia prequirúrgica. De esta forma se puede realizar una clasificación entre los pacientes que van a responder o no a terapias neoadyuvantes y por lo tanto aplicar protocolos de tratamiento más eficaces y más eficientes.

Willett y colaboradores [436] también determinaron la actividad proliferativa tras la radioterapia neoadyuvante en el cáncer rectal y observaron que aquellos casos que presentaban tumores con una mayor actividad proliferativa tras la radioterapia prequirúrgica tenían unos mejores índices de supervivencia que aquellos casos que tenían unos índices más bajos de actividad proliferativa. Por contra, Kimura y colaboradores [435] describieron que presentaban peor pronóstico aquellos carcinomas rectales con mayor actividad proliferativa. El debate continua abierto.

2.14.5.2 TOPOISOMERASA II ALFA

La isoforma II alfa de la Topoisomerasa II (Top 2 α), identificada como p170 (170Kda), es una enzima homodimérica imprescindible en la ruptura y nueva unión de las hebras del DNA rotas, así como en la separación de los cromosomas al final de la mitosis. Se trata de una enzima ciclo dependiente, regulador del ciclo celular que en células normales se expresa en fase S/G2/M y no en G0/G1.

La expresión de Ki67 sigue siendo determinante en la valoración de la proliferación celular, proporcionando junto a la Topoisomerasa 2 alfa información sobre el número de células tumorales en ciclo celular. Frente al Ki67 la Top2a ofrece la ventaja añadida de que el estudio de sus alteraciones genéticas permite conocer la sensibilidad y respuesta a determinados agentes citotóxicos [437, 438].

2.15- MATRICES TISULARES

En la última década se han desarrollado nuevas técnicas de análisis genotípico/fenotípico que han facilitado el estudio de determinados genes, proteínas y su implicación en el desarrollo de una enfermedad neoplásica.

Entre estas técnicas que presentan una menor complejidad respecto a las tradicionales técnicas de biología molecular se encuentran las matrices de DNA y las matrices de tejido. La técnica de cDNA microarrays permite estudiar los cambios en la expresión de un gran número de genes en una sola muestra tumoral [439] y los tissue microarrays permiten la valoración de las alteraciones genéticas bien a nivel del DNA, RNA o en las proteínas por ellos producidas en múltiples casos de un mismo tumor [440, 441].

Battifora [441] en el año 1986, fue quien primero desarrolló y aplicó la técnica de las matrices tisulares. Inicialmente el objetivo fue que sirviera de control en el estudio inmunohistoquímico de diversos anticuerpos. La técnica utilizó inicialmente múltiples tejidos normales y tejidos neoplásicos fácilmente reconocibles en un inicial estudio microscópico. El diámetro de los diferentes cilindros que constituían el bloque receptor oscilaba entre 1-2 mm.

Las matrices tisulares permiten agrupar hasta 1000 casos de un mismo tumor en un bloque de parafina que puede ser sometido a tantas secciones como estudios de marcadores moleculares se pretendan realizar, así como para la detección de forma paralela de DNA (por hibridación in situ o FISH), RNA y proteínas diana (Inmunohistoquímica), permitiendo el estudio de gran número de marcadores tumorales [442, 443].

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Otra de las aplicaciones de las matrices tisulares es la posibilidad de ser una herramienta de control de calidad en la evaluación de la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos, métodos de fijación de los tejidos y optimizar protocolos de tinción, además de ayudar a optimizar y estandarizar la interpretación de los estudios inmunohistoquímicos [444].

En un futuro otra utilidad de las matrices tisulares es la provisión de muestras randomizadas representativas de una lesión, susceptibles de ser evaluadas por métodos automáticos (reconocimiento de imagen: densidad nuclear, densidad cromática, resultados de tinciones inmunohistoquímicas) y que abra el camino a la realización de un diagnóstico objetivo de las distintas lesiones que se pueden presentar en Anatomía Patológica, la cual representa a una especialidad médica donde hoy por hoy juega un papel fundamental la interpretación subjetiva [445].

Entre otras **ventajas** de la técnica se encuentran:

Posibilidad de economizar tiempo y costes en el estudio de amplias series de casos que bien pueden incluir distintos tipos de tumores o un mismo tipo de tumor de los que determinados marcadores moleculares son fundamentales en la interpretación diagnóstica, en el tratamiento y en el pronóstico de la lesión objeto de estudio.

Entre las **desventajas** que se pueden encontrar en los microarrays tissue se encuentran entre otras:

1. Al realizar la técnica, en muchas ocasiones el tejido de muestra obtenido en forma de cilindro puede no contener lesión neoplásica, puede suceder también que el cilindro se pierda durante el proceso o que durante la técnica quede a diferentes niveles en su colocación dentro del lecho previamente realizado en el bloque de parafina. Una solución a estos problemas es la realización de técnicas que requieran de un mayor aporte de material, como los “macrochop”, que al mismo tiempo también minimiza en parte el otro inconveniente de la técnica.
2. Otro inconveniente y más importante es la heterogeneidad que presentan las lesiones neoplásicas, donde se pueden distinguir distintas poblaciones celulares con distintos grado de diferenciación y fenotipos. También hay que destacar el reducido tamaño de la muestra objeto de estudio, ya que se usan cilindros de variable espesor o diámetro lo que representa una mínima parte de la muestra del tumor la cual de por sí ya representa una mínima parte de la totalidad de la lesión neoplásica [446]. Por este motivo se han realizado varios estudios de validación de la técnica [447-449]. Los resultados obtenidos en los estudios realizados por Gillet y colaboradores en casos de carcinoma mamario donde se efectuaron estudios inmunohistoquímicos con receptores de estrógenos y progesterona, demostraron una alta representatividad de los fragmentos

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

obtenidos para la realización de las matrices tisulares. Camp y colaboradores [446]. también hicieron un estudio similar sobre carcinomas de mama en el que los resultados eran positivos en cuanto a la representatividad del muestreo realizado en esta técnica. Por otro lado se han realizado otros estudios como por ejemplo el de Rubin y colaboradores. [448] que pretenden determinar hasta cuantos cilindros son necesarios realizar de un mismo tumor para que éstos sean representativos de la lesión objeto de estudio. Sus resultados fueron que menos de tres cilindros pueden no ser suficientes en cuanto a la representatividad del tumor, mientras que más de 4 cilindros no aportan una mayor información por lo que concluyen que para una óptima evaluación de los distintos biomarcadores son necesarias 3 o 4 cilindros por caso.

En un estudio realizado recientemente por Escobar y colaboradores. [449] se observó que las matrices tisulares son representativos del tumor objeto de estudio, tanto cualitativamente como cuantitativamente. En este estudio se utilizaron como muestras hasta tres cilindros de distintos tumores y luego, compararon los resultados con los obtenidos del bloque que contenía la totalidad de la muestra. Sin embargo, en este trabajo se observó que hasta en un 20-30% de casos no es tan válida la interpretación cuantitativa, sobre todo, en las áreas periféricas de los tumores, tanto en el bloque como en las matrices tisulares, aunque esto también dependía del tipo de tumor. Por lo tanto, concluyeron que aunque es importante tener en cuenta la heterogeneidad de los tumores, ésta no altera la identificación de parámetros pronósticos.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1- MATERIAL

El material utilizado en este estudio procede de 59 pacientes diagnosticados de adenocarcinoma rectal en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario de Valencia y en el laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital General de Requena durante el período de tiempo que transcurre entre 1999 y 2005. Se revisaron las historias clínicas, los informes histopatológicos y las preparaciones histológicas de todos los casos.

El control morfológico, las matrices tisulares (TMA) y las técnicas de inmunohistoquímica fueron realizados sobre muestras de tejido intestinal con infiltración por lesión neoplásica, fijadas en formol al 10% e incluidos en bloques de parafina.

3.2- MÉTODO EMPLEADO EN EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

HISTORIA CLÍNICA

Se realizó una minuciosa y exhaustiva revisión de todas las historias clínicas pertenecientes a los distintos casos.

En la revisión de las historias clínicas se prestó especial atención a parámetros clínicos que tienen importancia en la evolución de la enfermedad y que se citan en la siguiente tabla.

3. MATERIAL Y MÉTODO

- EDAD

- SEXO

- ANTECEDENTES PERSONALES

- PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD

- DIAGNOSTICO ENDOSCÓPICO (TAMAÑO Y LOCALIZACIÓN DEL TUMOR)

- DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE MUESTRA ENDOSCÓPICA

- DIAGNÓSTICO POR ECOGRAFIA ENDORRECTAL O RESONANCIA DEL ESTADIO TUMORAL (UTNM, RTNM)

- TRATAMIENTO NEOADYUVANTE ADMINISTRADO

- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

- DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO E HISTOPATOLÓGICO DE PIEZA QUIRÚRGICA

- TRATAMIENTO ADYUVANTE

- EVOLUCIÓN

ESTUDIO HISTOLÓGICO

Las muestras de los tumores originales fueron fijadas por inmersión en una solución de formol tamponado al 10% e incluidas en parafina. Se realizaron bloques y posteriormente se procedió a realizar secciones de 3μ de grosor para estudio histopatológico tras previa tinción con Hematoxilina-Eosina.

En el estudio histopatológico de la totalidad de los casos, primero se realizó una revisión del diagnóstico histopatológico de la totalidad de las muestras biópsicas tomadas mediante endoscopia y luego se realizó una revisión del estudio histopatológico de las distintas muestras tomadas de la pieza quirúrgica tras la cirugía. El estudio macroscópico de la pieza quirúrgica, al ser un estudio retrospectivo, se basa en la información extraída de los distintos informes histopatológicos.

En el estudio de la muestra tomada mediante endoscopia, el objetivo fue determinar la presencia de la lesión neoplásica y el grado de diferenciación según la O.M.S.

En el estudio de las muestras extraídas, tras el estudio macroscópico de la pieza quirúrgica y el tallado de las áreas más representativas según el protocolo establecido, se continua con la selección de tres secciones representativas de la lesión neoplásica y se procede al estudio de distintas características morfológicas que son habituales en carcinomas rectales de estadios avanzados que han sido sometidos a tratamiento neoadyuvante y que son de importancia en el diagnóstico, tratamiento y evolución de la lesión neoplásica, y que es tal la importancia que les otorgan algunos autores, que afirman que se deberían incluir en los informes histopatológicos finales.

ALTERACIONES ESTROMALES

- Infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos.
- Fibrosis junto con infiltrado inflamatorio
- Celularidad constituida por eosinófilos en área peritumoral.

3. MATERIAL Y MÉTODO

ALTERACIONES A NIVEL CELULAR

- Mitosis
- Presencia o ausencia de lagos de mucina.
- Características nucleares.
- Celularidad de tipo endocrino.
- Alteraciones del patrón arquitectural

ALTERACIONES DEL TEJIDO ADYACENTE A LA LESIÓN NEOPLÁSICA

- Existencia o ausencia de ulceración
- Persistencia o no de displasia de alto grado

El método utilizado en la interpretación de las variables histopatológicas es el siguiente:

ALTERACIONES ESTROMALES

- **INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOIDE:** Cuantificar el número de linfocitos en 10 campos de 40x y clasificar según el siguiente esquema:
 - <10 linfocitos = Ausencia de infiltrado linfoide (Grado 0)
 - 10-50 linfocitos = escaso infiltrado linfoide (Grado 1)
 - 50-100 linfocitos = Moderado infiltrado linfoide (Grado 2)
 - >100 linfocitos = Intenso infiltrado linfoide (Grado 3)

En la cuantificación de linfocitos se excluyen las zonas ulceradas y de necrosis, limitándose a la lesión neoplásica y a la zona peritumoral.

3. MATERIAL Y MÉTODO

- **FIBROSIS CON INFILTRADO INFLAMATORIO:** se clasifica en dos grupos.
 1. fibrosis del tejido neoplásico o peritumoral con infiltrado inflamatorio linfoide Grado 0-1
 2. fibrosis junto infiltrado inflamatorio linfoide Grado 2-3
- **EOSINOFILIA PERITUMORAL:** Cuantificación del número de eosinófilos en 10 campos de 40x.
 1. Ausencia de eosinófilos (Grado 1)
 2. Escaso número de eosinófilos: <10 (Grado 2)
 3. Moderada cantidad de eosinófilos: 10- 50 (Grado 3)
 4. Elevada cantidad de eosinófilos: >50 (Grado 4)

ALTERACIONES CELULARES

- **NÚMERO DE MITOSIS:** Recuento del numero de mitosis en 10 campos de 40x
- **LAGOS DE MUCINA CON/SIN PRESENCIA DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS:** presente /Ausente.
- **CELULAS ENDOCRINAS:** mediante estudio IHQ con Cromogranina se realiza un estudio sobre la biopsia prequirúrgica y sobre la pieza quirúrgica comparando los resultados.

Posibles resultados:

++ = presencia de células neuroendocrinas en un porcentaje superior al 20%.

+ = presencia de células neuroendocrinas en un porcentaje entre el 1 y el 20%.

- = 0% de células neuroendocrinas.

- **ALTERACIÓN DEL PATRON ARQUITECTURAL:** Alteración del patrón arquitectural que sufre el tumor muestreado mediante la biosia endoscópica respecto a la alteración del patrón arquitectural del tumor muestreado sobre la pieza quirúrgica y ya sometida a tratamiento neoadyuvante. En definitiva las modificacines que sufre la lesión neoplásica consecuencia del tratamiento neoadyuvante. Ejemplo: Moderadamente-pobrementemente, bien-moderadamente.

ALTERACIONES EN EL TEJIDO ADYACENTE A LA LESIÓN NEOPLÁSICA:

ULCERA: PRESENCIA/AUSENCIA

DISPLASIA ALTO GRADO: PRESENTE/AUSENTE

3.3- MATERIAL Y MÉTODO EMPLEADO EN EL ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO MEDIANTE LAS MATRICES TISULARES

Se utilizó el dispositivo Beecher instruments MTA-1 (manual tissue array) que está basado en un sistema manual para la extracción y posterior inserción de los cilindros. La técnica se basa en extraer un cilindro de cada bloque de parafina (bloque donante) para después insertarlo de forma precisa y exacta en el bloque de parafina receptor. Los cilindros son de 1mm. de diámetro y se extrajeron del bloque de parafina receptor de aquellas áreas previamente seleccionadas en un estudio histológico previo de los cortes teñidos con hematoxilina-eosina. De cada caso se extrajeron un mínimo de tres cilindros y un máximo de 5 de aquellas áreas más representativas y viables del tumor. La técnica descrita se utilizó en todos los casos de las muestras biópsicas extraídas mediante endoscopia para realizar el diagnóstico inicial de carcinoma rectal. Tras tratamiento neoadyuvante de todos los casos diagnosticados y seleccionados tras un estudio de ecografía endoscópica, se observó una respuesta variable al mismo, realizándose la técnica tan solo en los casos donde la celularidad neoplásica era identificada con facilidad (DWORAK 1-2), ya que resultaba imprescindible delimitar de forma exacta un área del bloque con lesión neoplásica donde la cantidad de celularidad neoplásica fuera representativa de la lesión. En los casos que tras tratamiento neoadyuvante tenían un grado de regresión DWORAK 3-4 se procedió un estudio inmunohistoquímico de la totalidad de la muestra (previamente seleccionada) incluida en parafina.

La homogeneización de las muestras una vez introducidas en el bloque receptor se realizó mediante calor (estufa de 37°C durante 24 horas). Se anotó en plantillas previamente diseñadas en función a un orden, la posición e identificación de cada cilindro para poder localizarlo e identificarlo posteriormente con facilidad.

Finalmente se realizaron cortes de 4 μ , una posterior tinción con hematoxilina-eosina y un estudio inmunohistoquímico con cada uno de los anticuerpos que son objeto de este estudio. La tinción con hematoxilina-eosina tiene como objetivo determinar en primer lugar que la selección del área tumoral que es objeto de estudio ha sido delimitada con exactitud y en segundo lugar, observar que el corte de parafina

3. MATERIAL Y MÉTODO

del bloque receptor contiene una sección de todos los cilindros que representan cada caso.

ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Tras estudio histológico completo, se seleccionaron aquellas áreas más representativas y se procedió a la realización de las diferentes matrices sobre las que se usan secciones de 4 μ para el estudio inmunohistoquímico, empleando la técnica de la avidina-biotina-inmunoperoxidasa (ABC) descrita por Hsu y colaboradores (1981), con algunas modificaciones.

- MÉTODO:
 1. - Desparafinar los corte en la estufa (37°C durante 24 horas).
 2. - Realizar tres cambios sucesivos en xilol (15 min.).
 3. – Incubar en alcoholes de concentración decreciente (100%, 95%, 70%).
 4. – Lavar en agua corriente
 5. Pretratamiento en autoclave en tampón citrato pH 6,3 (DAKO) 3 minutos a 1,5 atmósferas.
 6. Lavar en agua corriente
 7. –Inhibir la peroxidasa endógena mediante incubación en agua oxigenada al 3% en metanol durante 30 minutos a temperatura ambiente
 8. – lavar con tampón PBS 0,2M, pH7, 4 durante 3 minutos.
 9. – Incubación con el primer anticuerpo diluido en líquido diluyente (DAKO).

ANTICUERPO	DILUCIÓN	ORIGEN
CD31	1/50	DAKO
D2-40	1/40	SYGNE
Bcl-2	1/50	NOVOCASTRA
BAX	1/50	DAKO
Ki67	1/50	DAKO
TOPISOMERASA II α	1/50	NOVOCASTRA
TIMIDILATO SINT.	1/200	ZYMED
CROMOG.	1/50	DAKO

Todos los anticuerpos a excepción del D2-40 y Timidilato Sintetasa tienen un pretratamiento de recuperación antigénica con tampón citrato a pH6. La Timidilato Sintetasa tiene un tratamiento con tampón EDTA a pH8.

3. MATERIAL Y MÉTODO

10. – Lavar tres veces con PBS.
11. – Incubar por método LSAB-2 (DAKO)
12. Lavar tres veces con PBS.
13. Revelado de la peroxidasa con DAB (Diaminobencidina)
14. Lavar con agua
15. contrastar con hematoxilina
16. lavar con agua y deshidratar para posteriormente montar con entellan.

El objetivo en la utilización de los distintos anticuerpos anteriormente mencionados es la valoración de algunas características intrínsecas de los distintos tumores que pueden tener una importancia diagnóstica, en el tratamiento y en el pronóstico.

ANTICUERPO	OBJETIVO
CD31	Angiogénesis
D2-40	Angiogénesis
Bcl-2	Apoptosis
BAX	Apoptosis
Ki67	Proliferación
TOPISOMERASA II α	Proliferación
TIMIDILATO SINT.	Síntesis ADN
CROMOGRANINA	Dif. endocrina

Debido a los recursos inicialmente disponibles se ha obtenido por la selección de los anticuerpos anteriormente mencionados en detrimento de otros como el p53, VEGF o el CD31, aunque queda abierto un camino para la realización de un próximo trabajo con una mayor cantidad de marcadores. La lectura inmunohistoquímica se realiza sobre las distintas matrices que incluyen todos los casos de adenocarcinoma rectal Dworak 0, 1 y 2, o por el contrario sobre cortes realizados de los bloques de parafina que incluyen la presencia de restos de lesión neoplásica de los casos de adenocarcinoma rectal Dworak 3, posteriormente son interpretados desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo (calidad o intensidad de la tinción) de la siguiente forma:

1. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

CROMOGRANINA

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE LA POSITIVIDAD:

0: 0% DE POSITIVIDAD

1: < 20% DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS POSITIVAS

2: > 20% DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS POSITIVAS

KI67

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

0: 0% DE POSITIVIDAD

1: < 30% DE POSITIVIDAD

2: 30-70% DE POSITIVIDAD

3: > 70% DE POSITIVIDAD

TOPOISOMERASA 2 ALFA

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

0: 0% DE POSITIVIDAD

1: <20% DE POSITIVIDAD

2: >20% DE POSITIVIDAD

CD 31

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

0: AUSENCIA DE ANGIOGÉNESIS

1: ANGIOGENESIS LEVE

2: ANGIOGÉNESIS MODERADA

3: ANGIOGÉNESIS SEVERA

D2-40

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

0: ANGIOGÉNESIS AUSENTE (0% DE CELULARIDAD EN ESTROMA DE HABITO ENDOTELIAL CON TINCIÓN POSITIVA)

1: ANGIOGÉNESIS LEVE: (< 20% DE CELULARIDAD EN ESTROMA DE HABITO ENDOTELIAL CON TINCIÓN POSITIVA)

2: ANGIOGÉNESIS MODERADA (20-70% DE CELULARIDAD EN ESTROMA DE HABITO ENDOTELIAL CON TINCIÓN POSITIVA)

3: ANGIOGÉNESIS MODERADA (> 70% DE CELULARIDAD EN ESTROMA DE HABITO ENDOTELIAL CON TINCIÓN POSITIVA)

BAX

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

0: AUSENCIA DE TINCIÓN

1: INTENSIDAD LEVE

2: INTENSIDAD MODERADA

3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

- 0: 0% DE POSITIVIDAD
- 1: <30% DE POSITIVIDAD
- 2: 30-70% DE POSITIVIDAD
- 3: >70% DE POSITIVIDAD

BCL-2

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

- 0: AUSENCIA DE TINCIÓN
- 1: INTENSIDAD LEVE
- 2: INTENSIDAD MODERADA
- 3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

- 0: 0% DE POSITIVIDAD
- 1: <30% DE POSITIVIDAD
- 2: 30-70% DE POSITIVIDAD
- 3: >70% DE POSITIVIDAD

TIMIDILATO SINTETASA

INTENSIDAD O CALIDAD DE TINCIÓN:

- 0: AUSENCIA DE TINCIÓN
- 1: INTENSIDAD LEVE
- 2: INTENSIDAD MODERADA
- 3: INTENSIDAD FUERTE

CUANTIFICACIÓN DE POSITIVIDAD:

0: 0% DE POSITIVIDAD

1: <30% DE POSITIVIDAD

2: 30-70% DE POSITIVIDAD

3: >70% DE POSITIVIDAD

Un segundo observador (Médico Especialista en Anatomía Patológica) realiza una segunda observación y posterior interpretación del 50% de los estudios inmunohistoquímicos de los ocho anticuerpos con el objetivo de validar y dar cierto rigor a los distintos resultados obtenidos de la lectura de los mismos, estableciendo un nivel de correlación entre la interpretación llevada a cabo en forma de doble ciego por los dos observadores.

Finalmente se lleva a cabo una agrupación de los distintos resultados obtenidos con el objetivo de minimizar la subjetividad en la interpretación de los resultados y obtener una traducción en los resultados lo más objetiva posible y válida para el fin de nuestro estudio.

La agrupación de los resultados inmunohistoquímicos (primero el valor correspondiente a la positividad de intensidad de tinción y el segundo valor corresponde a la positividad de extensión) se realiza de la siguiente forma:

0-0= Ausencia de expresión (se codifica con valor 0)

1-1, 1-2, 2-1, 3-1, = expresión baja (se codifica con valor 1)

2-2, 2-3, 1-3= expresión alta (se codifica con valor 2).

3.4- METODOLOGÍA EN EL ESTUDIO ESTADÍSTICO

Se cuenta con una población de 59 pacientes con carcinoma rectal en estadios avanzados que son sometidos a un tratamiento previo a la intervención quirúrgica, llamado tratamiento neoadyuvante y que consiste en la aplicación de radioterapia y quimioterapia antes de la intervención quirúrgica.

Para estos pacientes se han valorado una serie de variables que podemos agrupar en clínicas (edad, sexo, antecedentes, localización del tumor y UTNM), histopatológicas (PTNM, grado de diferenciación, estudio histopatológico de regresión tumoral, invasión linfovascular, infiltrado inflamatorio linfoide, fibrosis, número de mitosis, lagos de mucina, alteración de la morfología nuclear, células endocrinas, alteración del patrón arquitectural y úlcera); e Inmunohistoquímicas (CROMOGRANINA, BAX, BCL-2, KI67, TOPOISOMERASA 2 ALFA, TIMIDILATO SINTETASA, CD31 y D2-40) antes y después del tratamiento y medidas por dos evaluadores.

Los objetivos del presente estudio son:

- Asociar características clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas con la evolución de la enfermedad
- Comprobar si existe una asociación entre ellas
- Realizar el estudio de nivel de concordancia entre los 2 observadores:
- Asociar las características inmunohistoquímicas en biopsias endoscópicas (antes del tratamiento neoadyuvante) con la evolución de la enfermedad.
- Determinar si tras el tratamiento neoadyuvante la pieza quirúrgica presenta alguna alteración de la expresión de los anticuerpos y si esto tiene una traducción sobre el pronóstico.

El **Análisis Descriptivo** (Tablas) inicial contiene los estadísticos básicos de las variables continuas y ordinales: media, desviación estándar, mínimo, máximo y mediana; así como frecuencias y porcentajes para las categóricas. Las tablas fundamentales se cruzan principalmente con el estudio histopatológico de regresión tumoral y la Evolución.

El **Análisis Bivariante** engloba todos los contrastes estadísticos necesarios para evaluar relación de las diferentes variables según el grado histopatológico de regresión tumoral y Evolución. Dichos contrastes se realizan mediante técnicas estadísticas no paramétricas de acuerdo al tamaño muestral de que se dispone.

3. MATERIAL Y MÉTODO

- **Prueba de Kruskal-Wallis para varias muestras independientes:** Se utiliza para contrastar si la distribución de un parámetro, cuando menos ordinal, es o no la misma en más de dos muestras independientes. Por ejemplo, para analizar si las variables inmunohistoquímicas están relacionadas con el estudio histopatológico de regresión tumoral.
- **Prueba de Mann-Whitney para dos muestras independientes:** Se utiliza para contrastar si la distribución de un parámetro, cuando menos ordinal, es o no la misma en dos muestras independientes. Por ejemplo, para analizar si las variables inmunohistoquímicas están relacionadas con la Evolución.

El *nivel de significatividad* empleado en todos los análisis bivariantes ha sido el 5% ($\alpha = 0.05$)¹.

¹Cualquier p-valor menor a 0.05 es indicativo de una relación estadísticamente significativa. Por contra, un p-valor mayor o igual a 0.05 indica ausencia de relación.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

4.1-RESULTADOS

Los resultados extraídos de los 59 casos de carcinoma rectal en estadios avanzados de evolución pertenecientes o tratados de forma similar en dos centros hospitalarios de la red pública perteneciente a la Comunidad Valenciana (Hospital Clínico Universitario de Valencia y Hospital General de Requena) se dividen en tres apartados claramente diferenciados.

1. Datos obtenidos de la historia clínica.
2. Datos extraídos del estudio histopatológico.
3. Resultados del estudio inmunohistoquímico

4.1.1- DATOS CLÍNICOS

Tras una detallada y exhaustiva revisión de la historia clínica de 63 casos clínicos que reunían inicialmente las características de la población objeto de estudio, la muestra final se reduce a 59 casos donde se pueden obtener una homogeneización en los tratamientos recibidos en cuanto al tratamiento neoadyuvante se refiere (dosis aplicada, tiempo de tratamiento, tipo de tratamiento y periodo de tiempo transcurrido entre el tratamiento neoadyuvante y la intervención quirúrgica). De los 59 casos examinados se realiza una obtención de aquellos datos clínicos que pueden tener una relevancia en la evolución o pronóstico de la enfermedad. En la tabla que se realiza a continuación vienen reflejadas las características clínicas más relevantes en la evolución clínica de los pacientes sometidos a un mismo tratamiento neoadyuvante.

Abreviaturas:

Sexo: H= hombre, M=mujer

Antecedentes oncológicos: 0= NO, 1= Si, 2= SI pero en otras localizaciones

Localización del tumor: 1/3I=tercio inferior, 1/3M=tercio medio, 1/3S: tercio superior.

Grado de diferenciación tumoral en endoscopia: Bien, moderadamente y mal o pobremente diferenciado. Evolución: V=vivo, M= muerto o fallecido.

CASO	EDAD	SEXO	ANTEC.	LOC.	UTN	PTNM	DWORAK.	DIF.	EVOL.
1.	70	M	2	1/3M	UT3N2	TN1M0	1	MOD.	V
2.	80	H	0	1/3M	UT3N1	T3N1M0	2	MOD	M
3.	51	H	2	1/3M	UT3N0	T3N0M0	2	MOD.	V
4.	73	H	0	1/3M	UT3N2	T3N0M0	3	BIEN	V
5.	74	H	0	1/3M	UT3N1	T3N0M0	2	MOD	V
6.	50	H	2	1/3M	UT3N1	T2N0M0	3	MOD	V
7.	72	H	1	1/3M	UT3N1	T3N0M0	3	MOD	V
8.	76	H	0	1/3M	UT3N2	T2N0M0	3	MOD	V
9.	47	M	0	1/3I	UT2N1	T2N0M0	1	MOD	V
10.	78	M	0	1/3I	UT4N0	T3N0M0	2	MOD	V
11.	51	H	2	1/3I	UT3N1	T2N1M0	3	MOD	V
12.	52	H	0	1/3M	UT3N1	T3N1M0	2	MOD	V
13.	23	H	2	1/3I	UT4N0	T4N0M1	2	BIEN	M
14.	59	H	0	1/3I	UT3N1		4	MOD	V
15.	65	H	1	1/3I	UT3N1		4	MAL	V
16.	80	H	0	1/3M	UT3N1	T3N2M1	1	MOD	M
17.	56	M	0	1/3I	UT3N1	T3N2M1	1	MOD	M
18.	65	H	0	1/3I	UT3N1	T3N0M0	1	MOD	V
19.	59	H	0	1/3I	UT3N1		4	MOD	V

CASO	EDAD	SEXO	ANTEC.	LOC.	UTNM	PTNM	DWORAK.	DIF.	EVOL.
20.	42	H	2	1/3M	UT3N1	T2N0M0	2	MOD	V
21.	81	H	0	1/3I	UT3N1	T2N0M0	1	MOD	V
22.	75	H	0	1/3I	UT4N1	T4N0M1	1	MOD	M
23.	62	H	0	1/3M	UT3N1	T2N0M0	2	MOD	V
24.	71	H	0	1/3I	UT4N1		4	MOD	V
25.	72	M	2	1/3M	UT3N1	T3N2M1	1	MAL	M
26.	50	H	0	1/3I	UT3N1	T2N0M1	3	MOD	M
27.	80	M	0	1/3I	UT2N0	T3N0M1	1	MOD	M
28.	72	M	0	1/3M	UT3N1	T3N1M0	1	MOD	V
29.	66	H	1	1/3M	UT3N1	T3N2M1	1	MOD	M
30.	65	H	0	1/3M	UT4N1	T3N0M0	1	MOD	V
31.	62	H	0	1/3M	UT2N1	T2N0M0	3	MOD	V
32.	39	M	2	1/3M	UT4N1		4	MOD	M
33.	40	H	0	1/3I	UT2N1	T2N0M1	2	MOD	V
34.	61	H	0	1/3I	UT4N1	T2N2M0	3	MOD	V
35.	56	H	1	1/3S	UT4N2		4	MAL	V
36.	65	H	0	1/3I	UT2N0	T2N0M0	1	MOD	V
37.	42	M	0	1/3S	UT3N1		4	MOD	V
38.	77	H	0	1/3I	UT2N1	T1N0M0	1	MOD	V
39.	42	H	0	1/3M	UT3N1	T3N1M0	2	MOD	V

CASO	EDAD	SEXO	ANTEC.	LOC.	UTN	PTNM	DWORAK.	DIF.	EVOL.
40.	66	M	0	1/3M	UT3N1	T3N0M0	3	MOD	V
41.	64	H	0	1/3I	UT3N1	T3N2M1	2	MOD	M
42.	75	H	0	1/3M	UT3N0	T3N0M0	2	MOD	V
43.	65	H	0	1/3I	UT3N1		4	MOD	V
44.	71	H	0	1/3I	UT3N1	T2N0M0	1	MOD	V
45.	71	M	0	1/3I	UT2N1	T1N0M0	1	MOD	V
46.	64	H	0	1/3I	UT4N1	T3N2M0	1	MOD	M
47.	76	H	0	1/3M	UT3N1	T3N1M0	1	MOD	M
48.	65	M	1	1/3I	UT3N1	T3N0M0	2	MOD	V
49.	76	H	0	1/3I	UT3N1	T4N0M0	1	MOD	V
50.	84	H	1	1/3S	UT3N1	T3N1M0	1	MAL	M
51.	84	H	0	1/3M	UT3N0	T2N0M0	2	MOD	V
52.	54	H	0	1/3I	UT3N0	T2N0M0	2	BIEN	V
53.	64	M	0	1/3M	UT3N0		4	MOD	V
54.	63	M	0	1/3I	UT2N1	T2N2M0	2	MOD	V
55.	52	H	0	1/3M	UT3N1		4	MOD	V
56.	63	M	0	1/3I	UT3N1	T3N1M0		MOD	V
57.	85	H	0	1/3I	UT3N0		4	MOD	V
58.	57	H	2	1/3M	UT3N0	T2N0M0	2	MOD	V
59.	47	H	0	1/3I	UT3N0	T2N0M0	2	MOD	V

4.1.2- CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS

Se realiza un estudio morfológico e histopatológico de una serie de características que han sido propuestas en estudios anteriores como representativas de una significación pronóstica en los carcinomas rectales diagnosticados en estadios avanzados y que son sometidos a tratamiento neoadyuvante con radioterapia y quimioterapia según protocolos que se repiten en los distintos casos.

Las características histopatológicas objeto de estudio se agrupan en tres apartados:

1. Alteraciones a nivel estromal
2. Alteraciones a nivel celular
3. Alteraciones del tejido adyacente a la lesión neoplásica

El significado o traducción de los distintos valores expresados en la tabla viene descrito en el apartado de material y métodos.

*casos de carcinoma rectal que tras tratamiento neoadyuvante han presentado un nivel de regresión total o grado de regresión de DWORAK 4 por lo que no es posible valorar las distintas características histopatológicas expresadas en las siguientes tablas.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

ALTERACIONES A NIVEL ESTROMAL

CASO	LINFOCITOS PERITUMORALES	LINFOCITOS Y FIBROSIS PERITUMORAL	EOSINOFILIA PERITUMORAL
1.	2	2	2
2.	1	1	3
3.	1	1	3
4.	1	1	3
5.	3	2	4
6.	3	2	4
7.	1	1	2
8.	3	2	4
9.	3	2	4
10.	1	1	2
11.	1	1	2
12.	3	2	4
13.	1	1	2
14.	*	*	*
15.	*	*	*
16.	3	2	2
17.	3	2	3

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	LINFOCITOS PERITUMORALES	LINFOCITOS Y FIBROSIS PERITUMORAL	EOSINOFILIA PERITUMORAL
18.	1	1	3
19.	*	*	*
20.	3	2	3
21.	3	2	4
22.	1	1	2
23.	2	2	3
24.	*	*	*
25.	2	2	3
26.	0	1	1
27.	3	2	3
28.	3	2	4
29.	2	2	3
30.	1	1	2
31.	1	1	2
32.	*	*	*
33.	3	2	4
34.	2	2	2
35.	*	*	*
36.	2	2	4
37.	*	*	*
38.	3	2	3
39.	2	1	3
40.	3	2	3
41.	2	2	3

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	LINFOCITOS PERITUMORALES	LINFOCITOS Y FIBROSIS PERITUMORAL	EOSINOFILIA PERITUMORAL
42.	3	2	4
43.	*	*	*
44.	3	2	4
45.	3	2	3
46.	3	2	4
47.	3	2	3
48.	2	2	4
49.	3	2	3
50.	1	1	2
51.	3	2	3
52.	2	1	4
53.	*	*	*
54.	1	1	2
55.	*	*	*
56.	*	*	*
57.	*	*	*
58.	3	2	3
59.	3	2	4

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

ALTERACIONES A NIVEL CELULAR

CASO	Nº MITOSIS	LAGOS DE MUCINA	NECROSIS	ALT. PATRÓN ARQUITECTURAL
1.	13	1	0	0
2.	7	0	1	1
3.	11	0	0	0
4.	2	0	0	1
5.	4	0	1	1
6.	2	0	1	0
7.	0	0	1	0
8.	0	1	0	0
9.	28	0	1	0
10.	4	0	1	0
11.	9	1	0	0
12.	8	0	1	0
13.	0	1	0	1
14.	*	0	*	*
15.	*	1	*	*
16.	21	1	0	0
17.	10	1	0	
18.	4	1	1	0
19.	*	1	*	*
20.	9	1	0	0
21.	14	1	0	0
22.	16	0	0	0
23.	4	0	0	0

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	Nº MITOSIS	LAGOS DE MUCINA	NECROSIS	ALT. PATRÓN ARQUITECTURAL
24.	*	1	*	*
25.	7	1	1	1
26.	2	0	0	0
27.	53	0	0	0
28.	10	0	0	0
29.	6	0	0	0
30.	20	1	0	0
31.	0	0	0	0
32.	*	1	*	*
33.	16	1	1	1
34.	10	0	1	0
35.	*	0	*	*
36.	3	0	1	0
37.	*	1	*	*
38.	7	0	0	0
39.	2	1	1	0
40.	3	1	0	0
41.	14	0	0	0
42.	40	0	1	0
43.	*	0	*	*
44.	30	0	0	0
45.	8	0	0	0
46.	17	1	1	0
47.	20	1	0	0
48.	10	1	1	0
49.	30	1	1	0
50.	9	0	1	0

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	Nº MITOSIS	LAGOS DE MUCINA	NECROSIS	ALT. PATRÓN ARQUITECTURAL
51.	30	0	0	0
52.	15	1	0	0
53.	*	1	*	*
54.	20	1	0	0
55.	*	0	*	*
56.				
57.	*	1	*	*
58.	11	1	0	0
59.	4	0	1	0

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

ALTERACIONES EN EL TEJIDO ADYACENTE

CASO	ÚLCERA
1.	1
2.	0
3.	1
4.	1
5.	1
6.	1
7.	0
8.	0
9.	0
10.	1
11.	1
12.	1
13.	0
14.	1
15.	1
16.	1
17.	0
18.	0
19.	1
20.	1
21.	1
22.	1
23.	1

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	ÚLCERA
24.	1
25.	1
26.	1
27.	1
28.	1
29.	1
30.	1
31.	1
32.	1
33.	1
34.	0
35.	1
36.	0
37.	0
38.	0
39.	1
40.	1
41.	1
42.	1
43.	1
44.	1
45.	0
46.	1
47.	1
48.	1
49.	1
50.	1
51.	1
52.	1

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	ÚLCERA
53.	1
54.	1
55.	1
56.	0
57.	1
58.	1
59.	1

4.1.3- ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Se realiza un estudio inmunohistoquímico sobre los 59 casos diagnosticados mediante endoscopia y que posteriormente son sometidos a ecografía endoscópica para determinar el estadio prequirúrgico y que tras el mismo son sometidos a tratamiento neoadyuvante con radioterapia y quimioterapia. Posteriormente estos casos son sometidos a cirugía resectiva con intención curativa.

Los distintos anticuerpos utilizados se agrupan en las siguientes tablas según las características objeto de estudio, con la intención de establecer una relación entre los resultados obtenidos y la posterior evolución de la enfermedad neoplásica.

El significado de los distintos valores obtenidos se explica en el apartado de material y métodos (pág.120).

ABREVIATURAS:

END: Estudio realizado sobre muestra endoscópica

QU: Estudio realizado sobre pieza quirúrgica

TI2 α : Topoisomerasa 2 alfa

CROMOG.: Cromogranina

Entre paréntesis viene expresado el valor que da el segundo lector en los distintos estudios inmunohistoquímicos.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

ÍNDICE PROLIFERATIVO

CASO	Ki67 (END)	Ki67 (QU)	TI2 α (END)	TI2 α (QU)
1.	1 (2)	1	1(1)	1
2.	2 (2)	2	2 (2)	2
3.	2 (2)	1	1 (1)	1
4.	2 (2)	1	1 (2)	1
5.	2 (2)	1	1 (1)	1
6.	2 (2)	1	2 (2)	1
7.	2 (2)	1	2 (2)	1
8.	2 (2)	1	2 (2)	1
9.		2		2
10.	2 (2)	2	2 (2)	1
11.	2 (2)	2	2 (2)	2
12.	1 (1)	2	1 (2)	1
13.	1 (1)	1	1 (1)	1
14.	2 (2)		1 (1)	
15.	2 (2)		2	
16.	2 (2)	2	2 (2)	1
17.	2 (2)	2	2 (2)	1
18.	2 (2)	1	2 (2)	1
19.	2		1	
20.	1 (1)	2	2 (2)	1
21.	2 (2)	2	2 (2)	1
22.	2 (2)	2	2 (2)	1
23.	2 (2)	1	2 (2)	1
24.	2 (2)		1	
25.	2 (2)	2	2 (2)	1

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	Ki67 (END)	Ki67 (QU)	TI2 α (END)	TI2 α (QU)
26.		1		1
27.	2 (2)	1	2 (2)	1
28.	2 (2)	1	2	1
29.	2 (2)	1	2 (2)	1
30.	1(1)	1	1 (1)	1
31.	2 (2)	1	1 (1)	1
32.	2		1	
33.	2 (2)	1	2 (2)	1
34.	2 (2)	2	2 (2)	2
35.	2 (2)		2 (2)	
36.	2 (2)	1	2 (2)	1
37.	2 (2)		1	
38.	1	1	1	1
39.	2	2	1	1
40.	2	1	1	1
41.	2	2 (2)	2	1
42.	2	1(1)	2	1 (1)
43.	2		0	
44.	2	2 (2)	1	1 (1)
45.	1	2 (2)	1	1 (1)
46.		1 (1)		1 (1)
47.	2	2 (2)	2	2 (2)
48.	2	2 (1)	2	1 (1)
49.	2	2 (2)	1	2 (2)
50.		2		2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	Ki67 (END)	Ki67 (QU)	Tl2 α (END)	Tl2 α (QU)
51.	1	2 (2)	1	1 (1)
52.	2	1 (1)	2	2 (2)
53.	2		2	
54.	2	2 (2)	1	1(1)
55.	2		2	
56.	2		2	
57.	2		2	
58.	2	1	2	1 (1)
59.	2	1	2	1 (1)

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

APOPTOSIS

CASO	BCL-2 (END)	BCL-2 (QU)	BAX (END)	BAX (QU)
1.	2 (2)	2	2 (2)	2
2.	2 (2)	2	2 (2)	2
3.	1 (1)	1	2 (2)	2
4.	1 (1)	2	2 (2)	2
5.	1 (1)	2	2 (2)	2
6.	1 (1)	2	2 (2)	1
7.	1	1	2	2
8.	1 (1)	1	2 (2)	2
9.		2		2
10.	2 (1)	1	2 (2)	2
11.	2 (1)	1	2 (2)	1
12.		2	2 (2)	2
13.	1	1	2 (2)	2
14.	2 (2)		2 (2)	
15.	1		2 (2)	
16.	1	1	2 (2)	2
17.	1	1	2 (2)	2
18.	1 (1)	1	2 (2)	2
19.	1		2	
20.	2 (1)	1	2 (2)	2
21.	2 (2)	1	2 (2)	2 (2)
22.	1	1	2 (2)	2
23.	1	1	2 (2)	2
24.	2		2	
25.	1	1	2 (2)	2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	BCL-2 (END)	BCL-2 (QU)	BAX (END)	BAX (QU)
26.		1		2
27.	1 (1)	2	2 (2)	2
28.	2	2	2	2
29.	1 (1)	1	2 (2)	2
30.	1	2	2 (2)	2
31.	1	2	2 (2)	2
32.	1		2	
33.	1	1	1 (1)	2 (2)
34.	1	1	2 (2)	1 (1)
35.	1 (1)		2 (2)	
36.	1	2 (2)	2 (2)	2 (2)
37.	1		2	
38.	1	2	2	2
39.	1	1	1	2
40.	1	2	2	2
41.	1	1	2	1 (1)
42.	1	2 (2)	2	2 (2)
43.	1		1	
44.	1	1 (1)	2	2 (2)
45.	1	1 (1)	2	2 (2)
46.		2		2 (2)
47.	1	1 (1)	2	2 (2)
48.	1	1	1	2 (2)
49.	1	1	1	2 (2)
50.		1		2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	BCL-2 (END)	BCL-2 (QU)	BAX (END)	BAX (QU)
51.	1	1	1	2 (2)
52.	1	1 (1)	2	2 (1)
53.	1		2	
54.	1	1	2	2
55.	1		2	
56.	1		2	
57.	1		2	
58.	1	1	2	2 (2)
59.	2	1	2	2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

ANGIOGENESIS

CASO	CD31 (END)	CD31 (QU)	D2-40 (END)	D2-40 (QU)
1.	2 (2)	2	2 (2)	0
2.	2 (2)	2	2 (2)	2
3.	2 (2)	1	2 (2)	1
4.	2 (2)	1	2 (2)	1
5.	2 (2)	2	2 (2)	1
6.	2 (2)	1	2 (2)	0
7.	2 (2)	1	2 (2)	0
8.	2 (2)	1	2 (2)	1
9.		2		3
10.	2 (2)	2	2 (2)	2
11.	2 (2)	1	2 (2)	0
12.	2 (2)	2	2 (2)	0
13.	2 (2)	1	2 (2)	1
14.	2 (2)		1 (1)	
15.	1 (1)		2 (2)	
16.	2 (2)	1	2 (2)	2
17.	2 (2)	1	2 (2)	1
18.	2 (2)	1	2 (2)	2
19.	1		1	
20.	2 (2)	2	2 (2)	2
21.	1 (1)	1 (2)	2 (2)	1 (1)
22.	2 (2)	1	2 (2)	2
23.	1 (2)	1	2 (2)	1
24.	2		2	
25.	2 (2)	1	2 (2)	1

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	CD31 (END)	CD31 (QU)	D2-40 (END)	D2-40 (QU)
26.		1		0
27.	1 (1)	1	2 (2)	0
28.	2	1	2	0
29.	2 (2)	0	2 (2)	0
30.	2 (2)	1	2 (2)	0
31.	2 (2)	2	1 (1)	0
32.	2		2	
33.	0 (1)	2 (2)	2 (2)	2 (2)
34.	2 (2)	2 (2)	2 (2)	2 (2)
35.	1 (2)		1	
36.	2	2 (2)	2 (2)	2 (2)
37.	0		1	
38.	0	2	2	2
39.	0	0	2	1
40.	1	1	2	1
41.	1	1 (1)	2	1 (1)
42.	0	2 (2)	2	2 (2)
43.	1		1	
44.	2	2 (2)	2	2 (2)
45.	0	2 (2)	0	2 (2)
46.		1 (1)		1(1)
47.	2 (2)	1 (2)	2	2 (2)
48.	0	2 (2)	2	2 (2)
49.	1	1	2	2 (2)
50.		1		1

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	CD31 (END)	CD31 (QU)	D2-40 (END)	D2-40 (QU)
51.	1	2 (2)	2	2 (2)
52.	2	1 (1)	2	2 (2)
53.	2		2	
54.	2	1 (1)	2	2 (2)
55.	2		1	
56.	2		2	
57.	0		1	
58.	2	2 (2)	2	2 (2)
59.	1	2 (2)	2	2 (2)

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

DIFERENCIACIÓN NEUROENDOCRINA

CASO	CROMOG. (END)	CROMOG. (QU)
1.	1 (1)	1
2.	1 (2)	0
3.	0 (0)	1
4.	0 (0)	2
5.	1 (1)	1
6.	0 (0)	2
7.	0 (0)	2
8.	1 (1)	2
9.		0
10.	1 (1)	1
11.	1 (1)	2
12.	0 (0)	1
13.	1 (1)	0
14.	0 (0)	
15.	0 (0)	
16.	0 (0)	0
17.	0 (0)	0
18.	0 (0)	1
19.	0	
20.	0 (0)	2
21.	0 (0)	0 (0)
22.	0 (0)	0
23.	0 (0)	1
24.	1 (1)	
25.	1	

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	CROMOG. (END)	CROMOG. (QU)
26.		2
27.	0 (0)	1
28.	0	1
29.	0 (0)	1
30.	0 (0)	1
31.	0 (0)	2
32.	0	
33.	0 (0)	1 (1)
34.	0 (0)	0 (0)
35.	0 (0)	
36.	0 (1)	1 (1)
37.	1	
38.	1	1
39.	1	2
40.	0	2
41.	1	1 (1)
42.	0	1 (1)
43.	2	
44.	0	2 (2)
45.	0	1 (1)
46.		0 (1)
47.	0	1 (1)
48.	0	1 (1)
49.	0	0 (0)
50.		2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	CROMOG. (END)	CROMOG. (QU)
51.	1	0
52.	0	2 (2)
53.	0	
54.	1	2 (2)
55.	2	
56.	0	
57.	1	
58.	0	0 (0)
59.	1	1 (1)

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

TIMIDILATO SINTETASA

CASO	END	QU
1.	2 (2)	2
2.	2 (2)	2
3.	2 (2)	2
4.	2 (2)	2
5.	2 (2)	2
6.	2 (2)	2
7.	2 (2)	2
8.	2 (2)	2
9.		2
10.	2 (2)	2
11.	2 (2)	2
12.	2 (2)	2
13.	2 (2)	2
14.	2 (2)	
15.	2 (2)	
16.	2 (2)	2
17.	2 (2)	2
18.	2 (2)	2
19.	2	
20.	2 (2)	2
21.	2 (2)	2
22.	2 (2)	2
23.	2 (2)	2
24.	2	
25.	2 (2)	2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	END	QU
26.		2
27.	2 (2)	2
28.	2	2
29.	2	2
30.	2 (2)	2
31.	2	2
32.	2 (2)	
33.	2 (2)	2 (2)
34.	2 (2)	2 (2)
35.	2 (2)	
36.	2 (2)	2 (2)
37.	2	
38.	2	2
39.	2	2
40.	2	2
41.	2	2
42.	2	2
43.	2	
44.	2	2 (2)
45.	2	2 (2)
46.		2 (2)
47.	2	2 (2)
48.	2	2 (2)
49.	2	2 (2)
50.		2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CASO	END	QU
51.	2	2 (2)
52.	2	2 (2)
53.	2	
54.	2	2 (2)
55.	2	
56.	2	
57.	2	
58.	2	2 (2)
59.	2	2 (2)

4.2- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.2.1 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS

4.2.1.1 DESCRIPTIVA

	N	%
TOTAL	59	100,0%
EVOLUCIÓN Viva	45	76,3%
Muerta	14	23,7%

EDAD	N	59
	Media	63,5
	Desv. típica	13,2
	Mínimo	23
	Máximo	85

	N	%
TOTAL	59	100,0%
SEXO Mujer	15	25,4%
Hombre	44	74,6%

	N	%
TOTAL	59	100,0%
ANTECEDENTES No	44	74,6%
FAMILIARES O Sí	6	10,2%
PERSONALES Sí en otras localizaciones	9	15,3%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	N	%
TOTAL	59	100,0%
LOCALIZACIÓN Tercio inferior	30	50,8%
Tercio medio	26	44,1%
Tercio superior	3	5,1%

	N	%
TOTAL	59	100,0%
UT 2	7	11,9%
3	43	72,9%
4	9	15,3%
TOTAL	59	100,0%
UN 0	12	20,3%
1	43	72,9%
2	4	6,8%

4.2.1.2 RELACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS CON LA EVOLUCIÓN

A continuación se muestra una descriptiva de cada una de las variables clínicas según la Evolución:

	TOTAL	EVOLUCIÓN	
		Viva	Muerta
EDAD N	59	45	14
Media	63,5	63,1	64,9
Desv. típica	13,2	11,8	17,7
Mínimo	23	40	23
Máximo	85	85	84

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
SEXO Mujer	15	100,0%	11	73,3%	4	26,7%
Hombre	44	100,0%	34	77,3%	10	22,7%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
ANTECEDENTES No	44	100,0%	35	79,5%	9	20,5%
FAMILIARES O Sí	6	100,0%	4	66,7%	2	33,3%
PERSONALES Sí en otras localizaciones	9	100,0%	6	66,7%	3	33,3%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
LOCALIZACIÓN Tercio inferior	30	100,0%	23	76,7%	7	23,3%
Tercio medio	26	100,0%	20	76,9%	6	23,1%
Tercio superior	3	100,0%	2	66,7%	1	33,3%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
UT 2	7	100,0%	6	85,7%	1	14,3%
3	43	100,0%	34	79,1%	9	20,9%
4	9	100,0%	5	55,6%	4	44,4%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
UN 0	12	100,0%	10	83,3%	2	16,7%
1	43	100,0%	31	72,1%	12	27,9%
2	4	100,0%	4	100,0%	0	,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Para determinar si las variables clínicas están significativamente relacionadas con la evolución de los pacientes se ha procedido a aplicar una serie de pruebas estadísticas, según la naturaleza de la variable a analizar. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Variable clínica	Estadísticos de contraste	Valor de p
Sexo	MW; U=317; z=-0.307	0,759
Antecedentes	KW; Chi=1,008; g.l.=2	0,604
Localización	KW; Chi=0,159; g.l.=2	0,924
UT	KW; Chi=2,620; g.l.=2	0,270
UN	KW; Chi=1,956; g.l.=2	0,376
Edad	MW; U=259,5; z=-0.990	0,322

Se concluye que no hay evidencia para afirmar que alguna de las variables clínicas se asocie con la evolución del paciente (valores de p superiores a 0,05)

4.2.1.3 RELACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS CON GRADO HISTOPATOLÓGICO DE REGRESIÓN (DWORAK)

A continuación se muestra una descriptiva de cada una de las variables clínicas según grado de regresión de Dworak:

		TOTAL	DWORAK			
			1	2	3	4
EDAD	N	58	20	18	9	11
	Media	63,5	70,7	58,5	62,3	59,7
	Desv. típica	13,4	8,9	16,3	10,3	12,9
	Mínimo	23	47	23	50	39
	Máximo	85	84	84	76	85

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	20	34,5%	18	31,0%	9	15,5%	11	19,0%
SEXO										
Mujer	14	100,0%	7	50,0%	3	21,4%	1	7,1%	3	21,4%
Hombre	44	100,0%	13	29,5%	15	34,1%	8	18,2%	8	18,2%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	20	34,5%	18	31,0%	9	15,5%	11	19,0%
ANTECEDENTES										
No	43	100,0%	16	37,2%	13	30,2%	6	14,0%	8	18,6%
FAMILIARES O										
PERSONALES										
Si	6	100,0%	2	33,3%	1	16,7%	1	16,7%	2	33,3%
Si en otras localizaciones	9	100,0%	2	22,2%	4	44,4%	2	22,2%	1	11,1%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	20	34,5%	18	31,0%	9	15,5%	11	19,0%
LOCALIZACIÓN										
Tercio inferior	29	100,0%	12	41,4%	8	27,6%	3	10,3%	6	20,7%
Tercio medio	26	100,0%	7	26,9%	10	38,5%	6	23,1%	3	11,5%
Tercio superior	3	100,0%	1	33,3%	0	,0%	0	,0%	2	66,7%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	20	34,5%	18	31,0%	9	15,5%	11	19,0%
UT										
2	7	100,0%	5	71,4%	2	28,6%	0	,0%	0	,0%
3	42	100,0%	12	28,6%	14	33,3%	8	19,0%	8	19,0%
4	9	100,0%	3	33,3%	2	22,2%	1	11,1%	3	33,3%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	20	34,5%	18	31,0%	9	15,5%	11	19,0%
UN										
0	12	100,0%	2	16,7%	8	66,7%	0	,0%	2	16,7%
1	42	100,0%	17	40,5%	10	23,8%	7	16,7%	8	19,0%
2	4	100,0%	1	25,0%	0	,0%	2	50,0%	1	25,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Al igual que con la evolución, para determinar si las variables clínicas están significativamente relacionadas con grado de regresión de Dworak se ha procedido a aplicar una serie de pruebas estadísticas, según la naturaleza de la variable a analizar. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Variable clínica	Estadísticos de contraste	Valor de p
Sexo	MW; U=259; z=-0.929	0,353
Antecedentes	KW; Chi=0,497; g.l.=2	0,780
Localización	KW; Chi=1,332; g.l.=2	0,514
UT	KW; Chi=5,650; g.l.=2	0,059
UN	KW; Chi=1,122; g.l.=2	0,571
Edad	KW; Chi=9,785; g.l.=3	0,020

Sólo para la variable Edad hay evidencia estadística para afirmar que se asocia a grado de regresión de Dworak (valores de p inferior a 0,05). Básicamente se observa que el valor 1 de grado de regresión de Dworak se asocia con los pacientes de más edad (71 años de media, ver tabla), mientras que el resto de valores, de 2 a 4 corresponde a pacientes de edades medias similares que oscilan entre los 59 y 62 años).

La UT, sin llegar a ser significativa, evidencia al menos un cierto grado de relación con grado de regresión de Dworak. Parece que el valor más bajo medido para UT, 2, se asocia con valores bajos de grado de regresión de Dworak (1 y 2).

4.2.1.4 RELACIÓN ENTRE UT Y UN

Los valores de UN son siempre inferiores a los de UT. Para 51 de los 59 pacientes la discrepancia es de dos unidades o mayor.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL	UN		
		0	1	2
		N	N	N
TOTAL	59	12	43	4
UT 2	7	2	5	0
3	43	8	32	3
4	9	2	6	1

4.2.1.4.1 CONCORDANCIA ENTRE UT Y PT; UN Y PN

La concordancia entre las variables clínicas UT y UN y las histopatológicas PT y PN se muestra en las siguientes tablas.

	TOTAL	PT			
		1	2	3	4
		N	N	N	N
TOTAL	48	2	18	25	3
UT 2	7	2	4	1	0
3	35	0	13	21	1
4	6	0	1	3	2

	TOTAL	PN		
		0	1	2
		N	N	N
TOTAL	48	31	9	8
UN 0	10	10	0	0
1	35	19	8	8
2	3	2	1	0

Para el primer caso se observa que en el 56,3% de los casos UT y PT coinciden, pero el índice de Kappa es de 0,282; para el segundo caso el porcentaje de coincidencias entre UN y PN es del 37,5%, con un índice de Kappa de 0,130.

Por tanto, no existe ninguna concordancia entre cada una de las dos parejas de variables analizadas. En general los valores de PT y PN son inferiores a los de UT y UN respectivamente.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

4.2.2 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS

4.2.2.1 DESCRIPTIVA

		N	%
TOTAL		48	100,0%
PT	1	2	4,2%
	2	18	37,5%
	3	25	52,1%
	4	3	6,3%
TOTAL		48	100,0%
PN	0	31	64,6%
	1	9	18,8%
	2	8	16,7%
TOTAL		48	100,0%
PM	Desconocido	38	79,2%
	Positivo	10	20,8%

	TOTAL	PN			
			0	1	2
		N	N	N	N
TOTAL	48	31	9	8	
PT	1	2	2	0	0
	2	18	15	1	2
	3	25	11	8	6
	4	3	3	0	0

	TOTAL	PM	
		Desconocido	Positivo
		N	N
TOTAL	48	38	10
PT	1	2	0
	2	18	2
	3	25	6
	4	3	2

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL	PM	
		Desconocido	Positivo
TOTAL	48	38	10
PN 0	31	26	5
1	9	9	0
2	8	3	5

		N	%
TOTAL		59	100,0%
GRADO DE DIFERENCIACIÓN EN ENDOSCOPIA	Bien diferenciado	3	5,1%
	Moderadamente diferenciado	52	88,1%
	Mal diferenciado	4	6,8%

		N	%
TOTAL		58	100,0%
DWORAK 1		20	34,5%
2		18	31,0%
3		9	15,5%
4		11	19,0%

		N	%
TOTAL		58	100,0%
INVASIÓN LINFOVASCULAR	No	38	65,5%
	Sí	20	34,5%

		N	%
TOTAL		47	100,0%
INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOIDE	Ausencia (Grado 0)	1	2,1%
	escaso (Grado 1)	13	27,7%
	Moderado (Grado 2)	10	21,3%
	Elevado (Grado 3)	22	46,8%
	4	1	2,1%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

		N	%
TOTAL		47	100,0%
FIBROSIS CON	Grado 0-1	16	34,0%
INF. INFLAM.	Grado 2-3	31	66,0%

		N	%
TOTAL		47	100,0%
EOSINÓFILOS	Grado 1	1	2,1%
PERITUMORALES	Grado 2	12	25,5%
	Grado 3	19	40,4%
	Grado 4	15	31,9%

NÚMERO	N	47
DE MITOSIS	Media	12,0
	Desv. típica	11,1
	Mínimo	0
	Máximo	53

		N	%
TOTAL		58	100,0%
LAGOS DE	No	30	51,7%
MUCINA	Sí	28	48,3%

		N	%
TOTAL		54	100,0%
NECROSIS	No	34	63,0%
	Sí	20	37,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

		N	%
TOTAL		47	100,0%
ALTERACIÓN DEL PATRÓN ARQUITECTURAL	No	41	87,2%
	Sí	6	12,8%

		N	%
TOTAL		58	100,0%
ÚLCERA ASOCIADA	No	12	20,7%
	Sí	46	79,3%

4.2.2.2 RELACIÓN DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS CON LA EVOLUCIÓN

La descriptiva de las variables histopatológicas con la Evolución es:

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	48	100,0%	35	72,9%	13	27,1%
PT 1	2	100,0%	2	100,0%	0	,0%
2	18	100,0%	17	94,4%	1	5,6%
3	25	100,0%	15	60,0%	10	40,0%
4	3	100,0%	1	33,3%	2	66,7%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	48	100,0%	35	72,9%	13	27,1%
PN 0	31	100,0%	27	87,1%	4	12,9%
1	9	100,0%	6	66,7%	3	33,3%
2	8	100,0%	2	25,0%	6	75,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	48	100,0%	35	72,9%	13	27,1%
PM Desconocido	38	100,0%	34	89,5%	4	10,5%
PM Positivo	10	100,0%	1	10,0%	9	90,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	59	100,0%	45	76,3%	14	23,7%
GRADO DE DIFERENCIACIÓN EN ENDOSCOPIA Bien diferenciado	3	100,0%	2	66,7%	1	33,3%
Moderadamente diferenciado	52	100,0%	41	78,8%	11	21,2%
Mal diferenciado	4	100,0%	2	50,0%	2	50,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	44	75,9%	14	24,1%
DWORAK 1	20	100,0%	11	55,0%	9	45,0%
2	18	100,0%	15	83,3%	3	16,7%
3	9	100,0%	8	88,9%	1	11,1%
4	11	100,0%	10	90,9%	1	9,1%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	44	75,9%	14	24,1%
INVASIÓN LINFOVASCULAR No	38	100,0%	34	89,5%	4	10,5%
Sí	20	100,0%	10	50,0%	10	50,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
INFILTRADO Ausencia (Grado 0)	1	100,0%	0	,0%	1	100,0%
INFLAMATORIO escaso (Grado 1)	13	100,0%	9	69,2%	4	30,8%
LINFOIDE Moderado (Grado 2)	10	100,0%	7	70,0%	3	30,0%
Elevado (Grado 3)	22	100,0%	17	77,3%	5	22,7%
4	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
FIBROSIS CON Grado 0-1	16	100,0%	11	68,8%	5	31,3%
INF. INFLAM. Grado 2-3	31	100,0%	23	74,2%	8	25,8%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
EOSINÓFILOS Grado 1	1	100,0%	0	,0%	1	100,0%
PERITUMORALES Grado 2	12	100,0%	8	66,7%	4	33,3%
Grado 3	19	100,0%	12	63,2%	7	36,8%
Grado 4	15	100,0%	14	93,3%	1	6,7%

	TOTAL	EVOLUCIÓN	
		Viva	Muerta
NÚMERO N	47	34	13
DE MITOSIS Media	12,0	11,2	14,0
Desv. típica	11,1	10,2	13,4
Mínimo	0	0	0
Máximo	53	40	53

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	44	75,9%	14	24,1%
LAGOS DE MUCINA						
No	30	100,0%	23	76,7%	7	23,3%
Sí	28	100,0%	21	75,0%	7	25,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	40	74,1%	14	25,9%
NECROSIS						
No	34	100,0%	24	70,6%	10	29,4%
Sí	20	100,0%	16	80,0%	4	20,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	35	74,5%	12	25,5%
ALTERACIÓN DEL PATRÓN ARQUITECTURAL						
No	41	100,0%	32	78,0%	9	22,0%
Sí	6	100,0%	3	50,0%	3	50,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	44	75,9%	14	24,1%
ÚLCERA ASOCIADA						
No	12	100,0%	9	75,0%	3	25,0%
Sí	46	100,0%	35	76,1%	11	23,9%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

La siguiente tabla muestra de forma resumida el resultado de probar la existencia de relación estadísticamente significativa entre las variables histopatológicas y la evolución,

Variable histopatológica	Estadísticos de contraste	Valor de p
PT	KW; Chi=9,262; g.l.=3	0,026
PN	KW; Chi=12,372; g.l.=2	0,002
PM	KW; Chi=24,792; g.l.=1	0,000
Grado de dif. en endoscopia	KW; Chi=1,837; g.l.=2	0,399
Dworak	KW; Chi=7,367; g.l.=3	0,061
Invasión vascular	KW; Chi=10,958; g.l.=1	0,001
Infiltrado inflamatorio linfoide	KW; Chi=3,284; g.l.=4	0,511
Fibrosis con inf. ninflamatorio	MW; U=234,5; z=-0,391	0,696
Eosinófilos Peritumorales	KW; Chi=6,766; g.l.=3	0,080
Lagos de Mucina	KW; Chi=0,022; g.l.=1	0,883
Necrosis	KW; Chi=0,570; g.l.=1	0,450
Alteración del patrón archit.	KW; Chi=2,120; g.l.=1	0,145
Úlcera asociada	KW; Chi=0,006; g.l.=1	0,938
Número de mitosis	MW; U=190,5; z=-0,727	0,467

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Las tres variables PT, PN y PM están significativamente relacionadas con la evolución, al igual que la invasión vascular.

- Cuanto mayor es el valor de PT o PN mayor es la probabilidad de que el paciente muera. Por ejemplo, mientras que ningún paciente con PT de 1 ha muerto, si lo han hecho el 66,7% de los pacientes con PT de 4; igualmente, sólo el 12,9% de los pacientes con PN de 0 han muerto, porcentaje que sube hasta el 75% entre los pacientes con PN de 2.
- Si sólo el 10,5% de los pacientes con PM desconocido muere, el 90% de los pacientes lo hacen para PM positivo
- La presencia de invasión vascular eleva el porcentaje de muertes del 10,5% al 50%.

El resto de variables no muestra relación significativa con la Evolución. Es importante destacar que el grado de regresión de Dworak se cuenta entre estas variables porque nos permite asumir que la relación que se establezca entre la una variable y la evolución es independiente de la que se da entre el grado de regresión de Dworak y la misma variable. Es decir, no se trata de una relación espuria.

4.2.2.3 RELACIÓN DE LAS VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS CON GRADO DE REGRESIÓN TUMORAL (DWORAK)

La descriptiva de las variables histopatológicas con el grado histopatológico de regresión tumoral (Dworak) es:

	TOTAL		PT							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	2	100,0%	18	100,0%	24	100,0%	3	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	2	100,0%	4	22,2%	12	50,0%	2	66,7%
2	18	38,3%	0	,0%	8	44,4%	9	37,5%	1	33,3%
3	9	19,1%	0	,0%	6	33,3%	3	12,5%	0	,0%

	TOTAL		PN					
	N	%	0		1		2	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	31	100,0%	8	100,0%	8	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	11	35,5%	4	50,0%	5	62,5%
2	18	38,3%	13	41,9%	3	37,5%	2	25,0%
3	9	19,1%	7	22,6%	1	12,5%	1	12,5%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		PM			
	N	%	Desconocido		Positivo	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	37	100,0%	10	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	14	37,8%	6	60,0%
2	18	38,3%	15	40,5%	3	30,0%
3	9	19,1%	8	21,6%	1	10,0%

	TOTAL		GRADO DE DIFERENCIACIÓN EN ENDOSCOPIA					
	N	%	Bien diferenciado		Moderadamente diferenciado		Mal diferenciado	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	3	100,0%	51	100,0%	4	100,0%
DWORAK 1	20	34,5%	0	,0%	18	35,3%	2	50,0%
2	18	31,0%	2	66,7%	16	31,4%	0	,0%
3	9	15,5%	1	33,3%	8	15,7%	0	,0%
4	11	19,0%	0	,0%	9	17,6%	2	50,0%

	TOTAL		INVASIÓN LINFOVASCULAR			
	N	%	No		Sí	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	38	100,0%	20	100,0%
DWORAK 1	20	34,5%	11	28,9%	9	45,0%
2	18	31,0%	11	28,9%	7	35,0%
3	9	15,5%	5	13,2%	4	20,0%
4	11	19,0%	11	28,9%	0	,0%

	TOTAL		INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOIDE									
	N	%	Ausencia (Grado 0)		escaso (Grado 1)		Moderado (Grado 2)		Elevado (Grado 3)		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	1	100,0%	13	100,0%	10	100,0%	22	100,0%	1	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	0	,0%	4	30,8%	4	40,0%	12	54,5%	0	,0%
2	18	38,3%	0	,0%	5	38,5%	5	50,0%	7	31,8%	1	100,0%
3	9	19,1%	1	100,0%	4	30,8%	1	10,0%	3	13,6%	0	,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		FIBROSIS CON INF. INFLAM.			
	N	%	Grado 0-1		Grado 2-3	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	16	100,0%	31	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	4	25,0%	16	51,6%
2	18	38,3%	7	43,8%	11	35,5%
3	9	19,1%	5	31,3%	4	12,9%

	TOTAL		EOSINÓFILOS PERITUMORALES							
	N	%	Grado 1		Grado 2		Grado 3		Grado 4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	1	100,0%	12	100,0%	19	100,0%	15	100,0%
DWORAK 1	20	42,6%	0	,0%	5	41,7%	9	47,4%	6	40,0%
2	18	38,3%	0	,0%	3	25,0%	8	42,1%	7	46,7%
3	9	19,1%	1	100,0%	4	33,3%	2	10,5%	2	13,3%

	TOTAL	DWORAK			
		1	2	3	
NÚMERO DE MITOSIS	N	47	20	18	9
	Media	12,0	16,3	11,6	3,1
	Desv. típica	11,1	12,0	10,2	3,8
	Mínimo	0	3	0	0
	Máximo	53	53	40	10

	TOTAL		LAGOS DE MUCINA			
	N	%	No		Sí	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	30	100,0%	28	100,0%
DWORAK 1	20	34,5%	10	33,3%	10	35,7%
2	18	31,0%	10	33,3%	8	28,6%
3	9	15,5%	6	20,0%	3	10,7%
4	11	19,0%	4	13,3%	7	25,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		NECROSIS			
	N	%	No		Sí	
			N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	34	100,0%	20	100,0%
DWORAK 1	20	37,0%	13	38,2%	7	35,0%
2	18	33,3%	9	26,5%	9	45,0%
3	9	16,7%	6	17,6%	3	15,0%
4	7	13,0%	6	17,6%	1	5,0%

	TOTAL		ALTERACIÓN DEL PATRÓN ARQUITECTURAL			
	N	%	No		Sí	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	41	100,0%	6	100,0%
DWORAK 1	19	40,4%	18	43,9%	1	16,7%
2	18	38,3%	14	34,1%	4	66,7%
3	9	19,1%	8	19,5%	1	16,7%
4	1	2,1%	1	2,4%	0	,0%

	TOTAL		ÚLCERA ASOCIADA			
	N	%	No		Sí	
			N	%	N	%
TOTAL	58	100,0%	12	100,0%	46	100,0%
DWORAK 1	20	34,5%	6	50,0%	14	30,4%
2	18	31,0%	2	16,7%	16	34,8%
3	9	15,5%	3	25,0%	6	13,0%
4	11	19,0%	1	8,3%	10	21,7%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

La siguiente tabla muestra de forma resumida el resultado de probar la existencia de relación estadísticamente significativa entre las variables histopatológicas grado de regresión histopatológico según Dworak.

Variable histopatológica	Estadísticos de contraste	Valor de p
PT	KW; Chi=7,717; g.l.=3	0,052
PN	KW; Chi=1,977; g.l.=2	0,372
PM	KW; Chi=1,626; g.l.=1	0,202
Grado de dif. en endoscopia	KW; Chi=0,347; g.l.=2	0,841
Invasión vascular	KW; Chi=3,987; g.l.=1	0,046
Infiltrado inflamatorio linfoide	KW; Chi=4,863; g.l.=4	0,302
Fibrosis con inf. inflamatorio	MW; U=168,5; z=-1,926	0,054
Eosinófilos Peritumorales	KW; Chi=3,071; g.l.=3	0,381
Lagos de Mucina	KW; Chi=0,059; g.l.=1	0,808
Necrosis	KW; Chi=0,340; g.l.=1	0,560
Alteración del patrón arquít.	KW; Chi=0,565; g.l.=1	0,452
Úlcera asociada	KW; Chi=1,003; g.l.=1	0,317
Número de mitosis	KW; Chi=14,084; g.l.=2	0,001

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Las únicas dos variables que están significativamente relacionadas con el grado histopatológico de regresión son la invasión vascular y el número de mitosis

- Cuanto mayor es el valor de grado de regresión tumoral menor es la probabilidad de que el paciente presente invasión vascular. Así, entre los pacientes con un grado de regresión tumoral de 1 el 45% tenía invasión vascular, mientras que entre los pacientes con un grado de regresión tumoral de 4 ninguno presentaba invasión vascular.
- El número de mitosis está inversamente relacionado con el valor del grado de regresión tumoral. Si entre los pacientes con grado de regresión tumoral 1 se observa un número medio de mitosis de 16, cuando el grado de regresión tumoral es de 3 el número medio de mitosis desciende hasta 3.

El resto de variables no muestra relación significativa con el grado de regresión tumoral, aunque PT y Fibrosis con infiltrado inflamatorio muestran un valor de p inferior a 0.1 evidenciado cierta relación con el grado histopatológico de regresión tumoral.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

4.2.3 ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS

INMUNOHISTOQUÍMICAS

4.2.3.1 CONCORDANCIA ENTRE EVALUADORES

Las siguientes tablas muestran a nivel descriptivo la concordancia alcanzada entre los dos evaluadores para las diferentes variables inmunohistoquímicas:

En el título de cada tabla viene enunciado el anticuerpo estudiado y a continuación si la muestra corresponde a la endoscopia(END) o a la pieza quirúrgica (QUI).

CROMOG END

	TOTAL	Ausencia de expresión	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N	N
TOTAL	30	21	8	1
Ausencia de expresión	22	21	1	0
Expresión baja	8	0	7	1

Índice de Kappa = 0,918

CROMOG QUI

	TOTAL	Ausencia de expresión	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N	N
TOTAL	16	4	9	3
Ausencia de expresión	5	4	1	0
Expresión baja	8	0	8	0
Expresión alta	3	0	0	3

Índice de Kappa = 0,897

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

BAX END

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	29	1	28
Expresión baja	1	1	0
Expresión alta	28	0	28

Índice de Kappa = 1,000

BAX QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	15	3	12
Expresión baja	2	2	0
Expresión alta	13	1	12

Índice de Kappa = 0,762

BCL 2END

	<u>TOTAL</u>	<u>Expresión baja</u>	<u>Expresión alta</u>
	<u>N</u>	<u>N</u>	<u>N</u>
<u>TOTAL</u>	<u>16</u>	<u>12</u>	<u>4</u>
<u>Expresión baja</u>	<u>9</u>	<u>9</u>	<u>0</u>
<u>Expresión alta</u>	<u>7</u>	<u>3</u>	<u>4</u>

Índice de Kappa = 0,600

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

BCL2 QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	6	4	2
Expresión baja	4	4	0
Expresión alta	2	0	2

Índice de Kappa = 1,000

Ki672 END

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	31	4	27
Expresión baja	5	4	1
Expresión alta	26	0	26

Índice de Kappa = 0,870

Ki672 QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	15	7	8
Expresión baja	6	6	0
Expresión alta	9	1	8

Índice de Kappa = 0,865

TI2ALFA END

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	29	7	22
Expresión baja	9	7	2
Expresión alta	20	0	20

Índice de Kappa = 0,828

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

T2ALFA QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	12	9	3
Expresión baja	9	9	0
Expresión alta	3	0	3

Índice de Kappa = 1,000

TMD SINT END

	TOTAL	Expresión alta
	N	N
TOTAL	29	29
Expresión alta	29	29

Índice de Kappa no evaluable

TMD SINT QUI

	TOTAL	Expresión alta
	N	N
TOTAL	15	15
Expresión alta	15	15

Índice de Kappa no evaluable

CD31 END

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	30	4	26
Ausencia de expresión	1	1	0
Expresión baja	5	3	2
Expresión alta	24	0	24

Índice de Kappa = 0,762

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

CD31 QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	16	4	12
Expresión baja	6	4	2
Expresión alta	10	0	10

Índice de Kappa = 0,714

D240 END

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	29	2	27
Expresión baja	2	2	0
Expresión alta	27	0	27

Índice de Kappa = 1,000

D240 QUI

	TOTAL	Expresión baja	Expresión alta
	N	N	N
TOTAL	17	3	14
Expresión baja	3	3	0
Expresión alta	14	0	14

Índice de Kappa = 1,000

En general hay un elevado grado de concordancia que al igual que anteriormente se ha evaluado a través del índice de Kappa. Los resultados para las diferentes variables aparecen al pie de cada tabla. Se observa que en muchas ocasiones el índice de Kappa alcanza el valor de 1 (máximo posible). Sólo para el marcador BCL-2 la concordancia es moderada.

A causa de la alta concordancia, todos los análisis que restan se realizarán considerando exclusivamente las mediciones realizadas por el primer evaluador.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

4.2.3.2 VARIACIÓN DEL MARCADOR ENTRE LA VALORACIÓN EN MUESTRA ENDOSCÓPICA Y MUESTRA DE PIEZA QUIRÚRGICA.

	N	%
TOTAL	43	100,0%
VARIACIÓN QU > END	25	58,1%
CROMOG_INT QU=END	13	30,2%
QU<END	5	11,6%
VARIACIÓN QU > END	29	67,4%
CROMOG_EXT QU=END	10	23,3%
QU<END	4	9,3%

	N	%
TOTAL	43	100,0%
VARIACIÓN QU > END	16	37,2%
BAX_INT QU=END	19	44,2%
QU<END	8	18,6%
VARIACIÓN QU > END	6	14,0%
BAX_EXT QU=END	32	74,4%
QU<END	5	11,6%

	N	%
TOTAL	43	100,0%
VARIACIÓN QU > END	11	25,6%
BCL_INT QU=END	27	62,8%
QU<END	5	11,6%
VARIACIÓN QU > END	11	25,6%
BCL_EXT QU=END	26	60,5%
QU<END	6	14,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

		N	%
TOTAL		43	100,0%
VARIACIÓN	QU > END	5	11,6%
KI67_INT	QU=END	17	39,5%
	QU<END	21	48,8%
VARIACIÓN	QU > END	7	16,3%
KI67_EXT	QU=END	10	23,3%
	QU<END	26	60,5%

		N	%
TOTAL		43	100,0%
VARIACIÓN	QU > END	4	9,3%
TI2ALFA_INT	QU=END	18	41,9%
	QU<END	21	48,8%
VARIACIÓN	QU > END	1	2,3%
TI2ALFA_EXT	QU=END	20	46,5%
	QU<END	22	51,2%

		N	%
TOTAL		43	100,0%
VARIACIÓN	QU > END	6	14,0%
TIMS_INT	QU=END	20	46,5%
	QU<END	17	39,5%
VARIACIÓN	QU=END	41	95,3%
TIMS_EXT	QU<END	2	4,7%

		N	%
TOTAL		43	100,0%
VARIACIÓN	QU > END	12	27,9%
CD31_INT	QU=END	22	51,2%
	QU<END	9	20,9%
VARIACIÓN	QU > END	11	25,6%
CD31_EXT	QU=END	14	32,6%
	QU<END	18	41,9%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	N	%
TOTAL	43	100,0%
VARIACIÓN QU > END	6	14,0%
D240_INT QU=END	10	23,3%
QU<END	27	62,8%
VARIACIÓN QU > END	3	7,0%
D240_EXT QU=END	14	32,6%
QU<END	26	60,5%

4.2.3.3 RELACIÓN DE LOS MARCADORES

INMUNOHISTOQUÍMICOS CON LA EVOLUCIÓN.

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
Cromog_End1 Ausencia de expresión	36	100,0%	29	80,6%	7	19,4%
Expresión baja	17	100,0%	13	76,5%	4	23,5%
Expresión alta	2	100,0%	2	100,0%	0	,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	46	100,0%	34	73,9%	12	26,1%
Cromog1_QU Ausencia de expresión	12	100,0%	6	50,0%	6	50,0%
Expresión baja	20	100,0%	16	80,0%	4	20,0%
Expresión alta	14	100,0%	12	85,7%	2	14,3%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
BAX1_END Expresión baja	6	100,0%	6	100,0%	0	,0%
Expresión alta	49	100,0%	38	77,6%	11	22,4%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
BAX1_QU						
Expresión baja	4	100,0%	3	75,0%	1	25,0%
Expresión alta	43	100,0%	31	72,1%	12	27,9%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	43	79,6%	11	20,4%
BCL_21_END						
Expresión baja	44	100,0%	34	77,3%	10	22,7%
Expresión alta	10	100,0%	9	90,0%	1	10,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
BCL_21_QU						
Expresión baja	31	100,0%	21	67,7%	10	32,3%
Expresión alta	16	100,0%	13	81,3%	3	18,8%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
Ki671_End						
Expresión baja	8	100,0%	7	87,5%	1	12,5%
Expresión alta	47	100,0%	37	78,7%	10	21,3%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
Ki671_QU Expresión baja	25	100,0%	20	80,0%	5	20,0%
Expresión alta	22	100,0%	14	63,6%	8	36,4%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
Ti2ALFA1_END Ausencia de expresión	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%
Expresión baja	21	100,0%	19	90,5%	2	9,5%
Expresión alta	33	100,0%	24	72,7%	9	27,3%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
Ti2ALFA1_QU Expresión baja	39	100,0%	29	74,4%	10	25,6%
Expresión alta	8	100,0%	5	62,5%	3	37,5%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
TMD_SINT1_END Expresión alta	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
TMD_SINT1_QU Expresión alta	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
CD311_END						
Expresión baja	20	100,0%	18	90,0%	2	10,0%
Expresión alta	35	100,0%	26	74,3%	9	25,7%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
CD311_QU						
Ausencia de expresión	2	100,0%	1	50,0%	1	50,0%
Expresión baja	26	100,0%	15	57,7%	11	42,3%
Expresión alta	19	100,0%	18	94,7%	1	5,3%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	55	100,0%	44	80,0%	11	20,0%
D2401_END						
Ausencia de expresión	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%
Expresión baja	9	100,0%	9	100,0%	0	,0%
Expresión alta	45	100,0%	34	75,6%	11	24,4%

	TOTAL		EVOLUCIÓN			
	N	%	Viva		Muerta	
			N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	34	72,3%	13	27,7%
D2401_QU						
Ausencia de expresión	11	100,0%	8	72,7%	3	27,3%
Expresión baja	14	100,0%	8	57,1%	6	42,9%
Expresión alta	21	100,0%	17	81,0%	4	19,0%
3	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

La siguiente tabla muestra de forma resumida el resultado de probar la existencia de relación estadísticamente significativa entre las variables inmunohistoquímicas y la evolución:

Variable inmunohistoquímica	Estadísticos de contraste	Valor de p
Cromog End	KW; Chi=0,628; g.l.=2	0,731
Cromog Qui	KW; Chi=4,847; g.l.=2	0,089
Bax End	KW; Chi=1,653; g.l.=2	0,199
Bax Qui	KW; Chi=0,015; g.l.=2	0,902
BCL End	KW; Chi=0,799; g.l.=2	0,372
BCL Qui	KW; Chi=0,942; g.l.=2	0,332
Ki67 End	KW; Chi=0,323; g.l.=2	0,570
Ki67 Qui	KW; Chi=1,533; g.l.=2	0,216
Ti2alfa End	KW; Chi=2,731; g.l.=2	0,255
Ti2alfa Qui	KW; Chi=0,457; g.l.=2	0,499
TMD Sint End	NA (cte.)	
TMD Sint Qui	NA (cte.)	
CD31 End	KW; Chi=1,929; g.l.=2	0,165
CD31 Qui	KW; Chi=7,879; g.l.=2	0,019
D240 End	KW; Chi=3,000; g.l.=2	0,223
D240 Qui	KW; Chi=2,718; g.l.=2	0,437

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

La única variable que está significativamente relacionada con la Evolución es el marcador CD31 quirúrgico (QUI)

- Cuanto mayor es la expresión del marcador CD31(QUI) mayor es la probabilidad de permanecer vivo.

Aunque el resto de marcadores no está significativamente relacionado con la evolución al 5% de significación, Cromogranina (QUI) presenta un valor de p de 0,089 que indica la existencia de relación al 1%. Al igual que para CD31 (QUI), a mayor nivel de expresión de Cromogranina (QUI) mayor es la probabilidad de mantenerse vivo.

4.2.3.4 RELACIÓN DE LOS MARCADORES

INMUNOHISTOQUÍMICOS CON GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK.

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
Cromog_End1 Ausencia de expresión	35	100,0%	14	40,0%	9	25,7%	6	17,1%	6	17,1%
Expresión baja	17	100,0%	3	17,6%	9	52,9%	2	11,8%	3	17,6%
Expresión alta	2	100,0%	0	,0%	0	,0%	0	,0%	2	100,0%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	46	100,0%	19	41,3%	18	39,1%	9	19,6%
Cromog1_QU Ausencia de expresión	12	100,0%	7	58,3%	4	33,3%	1	8,3%
Expresión baja	20	100,0%	10	50,0%	10	50,0%	0	,0%
Expresión alta	14	100,0%	2	14,3%	4	28,6%	8	57,1%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
BAX1_END Expresión baja	6	100,0%	1	16,7%	4	66,7%	0	,0%	1	16,7%
Expresión alta	48	100,0%	16	33,3%	14	29,2%	8	16,7%	10	20,8%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
BAX1_QU Expresión baja	4	100,0%	0	,0%	1	25,0%	3	75,0%
Expresión alta	43	100,0%	20	46,5%	17	39,5%	6	14,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	53	100,0%	17	32,1%	17	32,1%	8	15,1%	11	20,8%
BCL_21_END										
Expresión baja	43	100,0%	14	32,6%	13	30,2%	7	16,3%	9	20,9%
Expresión alta	10	100,0%	3	30,0%	4	40,0%	1	10,0%	2	20,0%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
BCL_21_QU								
Expresión baja	31	100,0%	12	38,7%	14	45,2%	5	16,1%
Expresión alta	16	100,0%	8	50,0%	4	25,0%	4	25,0%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
Ki671_End										
Expresión baja	8	100,0%	4	50,0%	4	50,0%	0	,0%	0	,0%
Expresión alta	46	100,0%	13	28,3%	14	30,4%	8	17,4%	11	23,9%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
Ki671_QU								
Expresión baja	25	100,0%	9	36,0%	9	36,0%	7	28,0%
Expresión alta	22	100,0%	11	50,0%	9	40,9%	2	9,1%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
Ti2ALFA1_END										
Ausencia de expresión	1	100,0%	0	,0%	0	,0%	0	,0%	1	100,0%
Expresión baja	21	100,0%	6	28,6%	7	33,3%	3	14,3%	5	23,8%
Expresión alta	32	100,0%	11	34,4%	11	34,4%	5	15,6%	5	15,6%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
Ti2ALFA1_QU								
Expresión baja	39	100,0%	16	41,0%	16	41,0%	7	17,9%
Expresión alta	8	100,0%	4	50,0%	2	25,0%	2	25,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
TMD_SINT1_END Expresión alta	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
TMDSINT1_QU Expresión alta	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
CD311_END Expresión baja	20	100,0%	5	25,0%	8	40,0%	1	5,0%	6	30,0%
Expresión alta	34	100,0%	12	35,3%	10	29,4%	7	20,6%	5	14,7%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
CD311_QU Ausencia de expresión	2	100,0%	1	50,0%	1	50,0%	0	,0%
Expresión baja	26	100,0%	13	50,0%	6	23,1%	7	26,9%
Expresión alta	19	100,0%	6	31,6%	11	57,9%	2	10,5%

	TOTAL		DWORAK							
	N	%	1		2		3		4	
			N	%	N	%	N	%	N	%
TOTAL	54	100,0%	17	31,5%	18	33,3%	8	14,8%	11	20,4%
D2401_END Ausencia de expresión	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%	0	,0%	0	,0%
Expresión baja	9	100,0%	0	,0%	1	11,1%	1	11,1%	7	77,8%
Expresión alta	44	100,0%	16	36,4%	17	38,6%	7	15,9%	4	9,1%

	TOTAL		DWORAK					
	N	%	1		2		3	
			N	%	N	%	N	%
TOTAL	47	100,0%	20	42,6%	18	38,3%	9	19,1%
D2401_QU Ausencia de expresión	11	100,0%	5	45,5%	1	9,1%	5	45,5%
Expresión baja	14	100,0%	5	35,7%	6	42,9%	3	21,4%
Expresión alta	21	100,0%	9	42,9%	11	52,4%	1	4,8%
3	1	100,0%	1	100,0%	0	,0%	0	,0%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

La siguiente tabla muestra de forma resumida el resultado de probar la existencia de relación estadísticamente significativa entre las variables inmunohistoquímicas y el grado histopatológico de regresión tumoral.

Variable inmunohistoquímica	Estadísticos de contraste	Valor de p
Cromog End	KW; Chi=4,770; g.l.=1	0,092
Cromog Qui	KW; Chi=13,144; g.l.=1	0,001
Bax End	KW; Chi=0,001; g.l.=1	0,977
Bax Qui	KW; Chi=6,601; g.l.=1	0,010
BCL End	KW; Chi=0,011; g.l.=1	0,915
BCL Qui	KW; Chi=0,059; g.l.=1	0,809
Ki67 End	KW; Chi=3,919; g.l.=1	0,048
Ki67 Qui	KW; Chi=1,966; g.l.=1	0,161
Ti2alfa End	KW; Chi=2,468; g.l.=1	0,291
Ti2alfa Qui	KW; Chi=0,023; g.l.=1	0,879
TMD Sint End	NA (cte.)	
TMD Sint Qui	NA (cte.)	
CD31 End	KW; Chi=0,572; g.l.=1	0,165
CD31 Qui	KW; Chi=0,319; g.l.=1	0,853
D240 End	KW; Chi=16,265; g.l.=1	0,000
D240 Qui	KW; Chi=2,482; g.l.=1	0,478

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Las variables que están significativamente relacionadas con el grado histopatológico de regresión tumoral son Cromogranina (QUI), Bax (QUI), Ki67 (End) y D240 (End)

- Cuanto mayor es la expresión del marcador Cromogranina (QUI) mayor es el valor del grado de regresión tumoral según Dworak.
- Cuanto mayor es la expresión del marcador Bax (QUI) menor es el valor del grado de regresión tumoral.
- Cuanto mayor es la expresión del marcador Ki67 (End) mayor es el valor del grado de regresión tumoral.
- La relación entre D240 (End) y grado de regresión tumoral no parece clara.

4.2.4 ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Para completar el estudio estadístico se ha procedido a estimar una serie de modelos multivariantes que tienen como objetivo realizar un pronóstico acertado sobre la evolución de los pacientes. En el estudio multivariante se considera el efecto conjunto de una serie de variables sobre la Evolución en lugar del efecto individual tal y como se ha realizado en los puntos previos del análisis.

En concreto se han estimado tres diferentes modelos:

- Modelo 1: para la explicación de la Evolución se han considerado las variables histopatológicas así como las variables de control clínicas.
- Modelo 2: para la explicación de la Evolución se han considerado las variables inmunohistoquímicas así como las variables de control clínicas.
- Modelo 3: para la explicación de la Evolución se han considerado tanto las variables histopatológicas como las inmunohistoquímicas, así como las variables de control clínicas.

La siguiente tabla resume los resultados para los tres modelos. Aquellas variables que no han resultado significativas en ninguno de ellos no aparecen.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
Variables clínicas			
EDAD	0.112		0.551
Variables histopatológicas			
PM (desconocido)	-25.335		-50.974
Invasión linfovascular (No)	-20.367		-30.413
Variables inmunohistoquímicas			
Cromog QUI			
Ausencia		2.815	7.524
Baja		1.162	-1.928
CD31 QUI			
Ausencia		4.116	
Baja		3.049	
-2log verosimilitud	15.88	36.81	7.51
R ² Cox-Snell	0.57	0.29	0.63
R ² Nagelkerke	0.82	0.43	0.92
% aciertos (c=0.5)	93.6%	82.6%	95.7%

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Para cada modelo la tabla resumen muestra los coeficientes de las variables del modelo y una serie de estadísticos de bondad de ajuste. Las principales conclusiones que se puede extraer son:

- La única variable de control que aparece en dos de los modelos es la EDAD con un coeficiente positivo evidenciando que a mayor edad mayor probabilidad de muerte, con independencia de los valores del resto de variables.
- Las variables PM e invasión vascular aparecen en el modelo 1 y 3. son por tanto las mejores variables histopatológicas con capacidad explicativa de la evolución. El signo de los coeficientes para estas variables es el coherente con los resultados del análisis bivalente. Además el modelo 1 muestra unos criterios de bondad de ajuste muy elevados: R^2 alto y porcentaje de aciertos superior al 90%.
- En el modelo 2 aparecen dos marcadores como significativos: Cromog. QUI y CD31 QUI. El segundo ya aparecía como significativo en el modelo bivalente y el primero mostraba cierta relación aunque sin llegar a ser significativa. Sin embargo la calidad de este modelo es bastante baja (R^2 bajos) aunque sigue presentando un porcentaje de aciertos alto.
- El modelo 3 que combina ambos tipos de variables, histopatológicas e inmunohistoquímicas, es el mejor en cuanto a capacidad predictiva. Cabe destacar que en este modelo sólo aparece como significativa la variables inmunohistoquímicas cromogranina QUI. En todo caso el paso del modelo 1 al modelo 3, donde se incluyen las variables inmunohistoquímicas, supone una mejora significativa (valor de $p = 0.015$). Es decir, el marcador cromogranina mejora la predicción de la evolución significativamente incluso en presencia de las variables histopatológicas.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

4.2.5 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

4.2.5.1 CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE KAPLAN-MEIER.

El objetivo de este análisis es determinar qué factores (de tipo clínico, histopatológico o inmunohistoquímico) influyen sobre el tiempo de supervivencia del paciente. Este análisis contempla la existencia de casos censurados, es decir, pacientes que en un determinado momento del seguimiento se pierden del estudio, fallecen por otras causas o, simplemente, al final del mismo continúan vivos.

En primer lugar, se muestra la tabla de supervivencia de Kaplan-Meier para la muestra de trabajo. En ella aparecen ordenados los pacientes según tiempo de supervivencia (para los fallecidos) o tiempo de permanencia en el estudio (para los vivos):

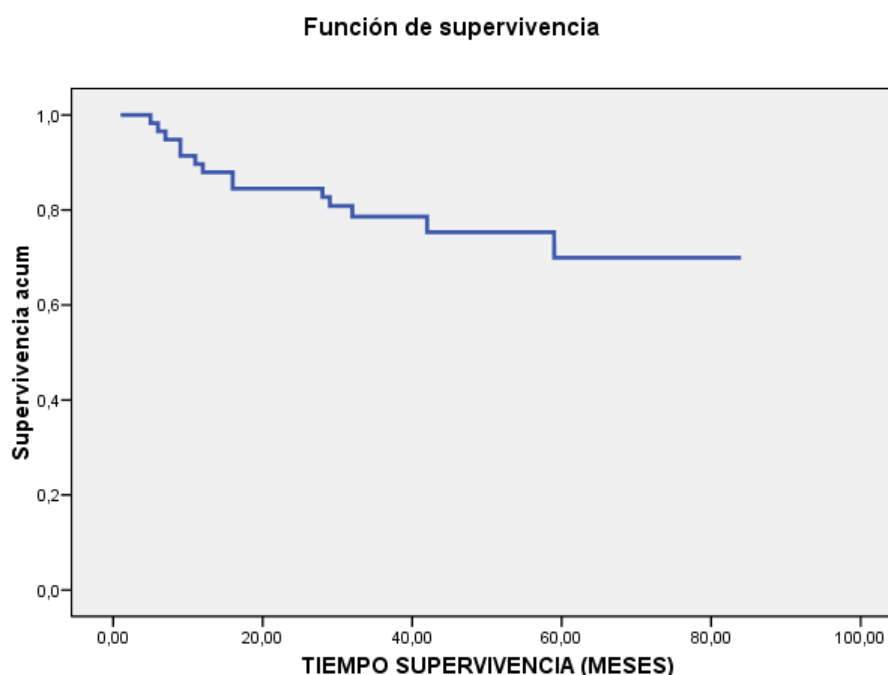
Tabla de supervivencia

	Tiempo	Estado	Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
1	5,000	Muerta	,983	,017	1	57
2	6,000	Muerta	,966	,024	2	56
3	7,000	Muerta	,948	,029	3	55
4	9,000	Muerta	.	.	4	54
5	9,000	Muerta	,914	,037	5	53
6	11,000	Muerta	,897	,040	6	52
7	12,000	Muerta	,879	,043	7	51
8	16,000	Muerta	.	.	8	50
9	16,000	Muerta	,845	,048	9	49
10	27,000	Viva	.	.	9	48
11	28,000	Muerta	,827	,050	10	47
12	28,000	Viva	.	.	10	46
13	28,000	Viva	.	.	10	45
14	28,000	Viva	.	.	10	44
15	29,000	Muerta	,808	,052	11	43
16	29,000	Viva	.	.	11	42
17	29,000	Viva	.	.	11	41
18	29,000	Viva	.	.	11	40
19	30,000	Viva	.	.	11	39
20	30,000	Viva	.	.	11	38
21	31,000	Viva	.	.	11	37
22	31,000	Viva	.	.	11	36
23	32,000	Muerta	,786	,055	12	35
24	32,000	Viva	.	.	12	34
25	34,000	Viva	.	.	12	33
26	34,000	Viva	.	.	12	32
27	34,000	Viva	.	.	12	31
28	35,000	Viva	.	.	12	30
29	35,000	Viva	.	.	12	29
30	35,000	Viva	.	.	12	28
31	36,000	Viva	.	.	12	27
32	39,000	Viva	.	.	12	26
33	39,000	Viva	.	.	12	25
34	40,000	Viva	.	.	12	24
35	42,000	Muerta	,753	,062	13	23
36	43,000	Viva	.	.	13	22
37	44,000	Viva	.	.	13	21
38	45,000	Viva	.	.	13	20
39	48,000	Viva	.	.	13	19
40	49,000	Viva	.	.	13	18
41	50,000	Viva	.	.	13	17
42	53,000	Viva	.	.	13	16
43	57,000	Viva	.	.	13	15
44	58,000	Viva	.	.	13	14
45	59,000	Muerta	,699	,077	14	13
46	59,000	Viva	.	.	14	12
47	61,000	Viva	.	.	14	11
48	62,000	Viva	.	.	14	10
49	64,000	Viva	.	.	14	9
50	65,000	Viva	.	.	14	8
51	67,000	Viva	.	.	14	7
52	67,000	Viva	.	.	14	6
53	69,000	Viva	.	.	14	5
54	81,000	Viva	.	.	14	4
55	82,000	Viva	.	.	14	3
56	83,000	Viva	.	.	14	2
57	83,000	Viva	.	.	14	1
58	84,000	Viva	.	.	14	0

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Así, por ejemplo, se observa que el primer paciente fallece a los 5 meses, estimándose la probabilidad de supervivencia (en este instante) como 0,983. Tras una secuencia intensa de muertes (hasta los 16 meses), el primer paciente vivo se pierde del estudio a los 27 meses.

Las distintas estimaciones puntuales de supervivencia permiten obtener la curva de supervivencia de Kaplan-Meier para la muestra:



Además, la supervivencia media de la muestra se estima en 66,6 meses, con un intervalo de confianza [58,7 74,5].

Media del tiempo de supervivencia

Media ^a			
Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
66,627	4,035	58,718	74,535

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Mediante el test del Logaritmo del Rango (Mantel-Cox) se contrasta si un determinado factor (variable clínica, histopatológica o inmunohistoquímica) genera curvas de supervivencia significativamente distintas para los pacientes.

No todas las variables histológicas e inmunohistoquímicas del estudio van a ser contrastadas (las clínicas sí). Se aprovecha la información obtenida en los análisis bivariantes para seleccionar aquellos factores que puedan ser de interés y convenientemente recodificados (para evitar reducidos tamaños muestrales), a saber:

- Edad
- Sexo
- Antecedentes generales de cáncer (sí/no)
- Localización (tercio inferior /medio-superior)
- UT (2/3/4)
- UN (0, >=1)
- PT (<=2, >=3)
- PN (0, >=1)
- PM (Desconocido/Positivo)
- Invasión Linfovascular (Sí/No)
- CD31QU. (Baja/Alta)
- Cromogranina

Los resultados del test han sido:

Variable	Estadísticos de contraste	Valor de p
Edad	Chi=1,437; g.l.=2	0,487
Sexo	Chi=0,01 ; g.l.=1	0,920
Antecedentes generales de cáncer	Chi=1,386; g.l.=1	0,239
Localización	Chi=0,032; g.l.=1	0,857
UT	Chi=2,105; g.l.=2	0,349
UN	Chi=0,239 g.l.=1	0,625
PT	Chi=7,952; g.l.=1	0,005

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

PN	Chi=12,122; g.l.=1	<0,001
PM	Chi=26,571; g.l.=1	<0,001
Invasión Linfovacular	Chi=14,338; g.l.=1	<0,001
CD31 QU.	Chi=7,014; g.l.=1	0,008
CROMOG QU.	Chi=5,767; g.l.=2	0,05

Esto es, PT, PN, PM, CD31 (QU) , la invasión linfovacular, y la cromogranina son aspectos que inducen curvas de supervivencia significativamente diferentes. A continuación se explica con mayor detalle estas relaciones:

4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

☑ PT

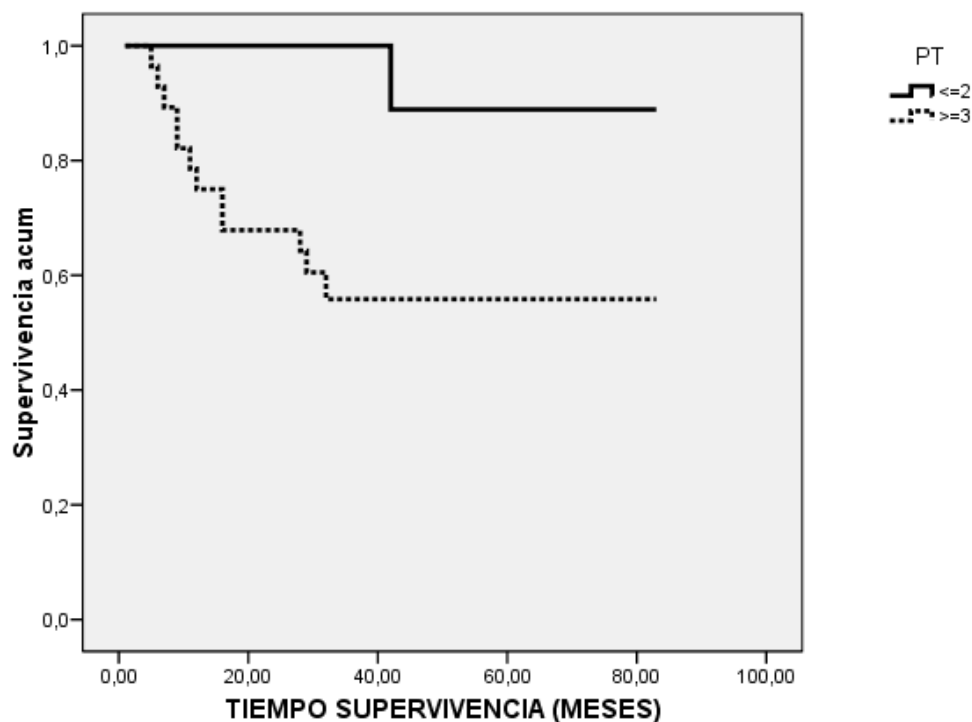
La supervivencia se prolonga significativamente cuando los valores del PT no superan el nivel 2. En concreto, para los pacientes con $PT \leq 2$ la supervivencia estimada es de 78,4 meses frente a 53,1 meses cuando $PT \geq 3$.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

PT	Media ^a			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
≤ 2	78,444	4,295	70,026	86,863
≥ 3	53,191	6,553	40,348	66,035
Global	63,453	4,629	54,380	72,527

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

Funciones de supervivencia



4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

☑ *PN*

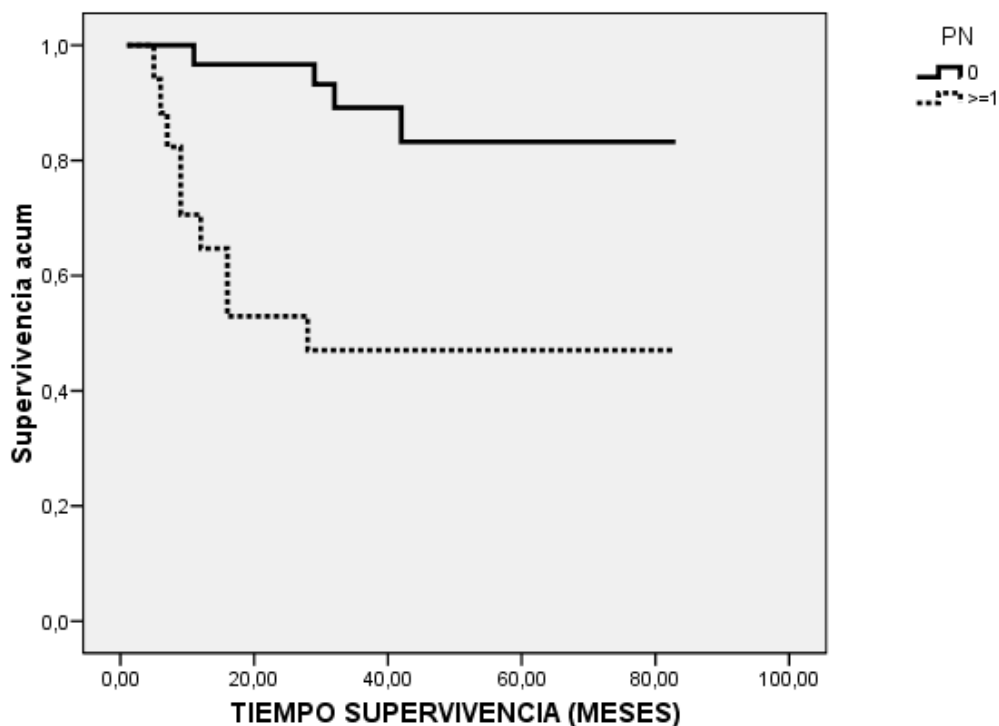
En pacientes con $PN=0$ la supervivencia estimada se cifra en 74,2 meses, valor que se reduce a 45,2 meses si el PN toma un valor >0 .

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

PN	Media ^a			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
0	74,232	4,072	66,251	82,212
≥ 1	45,412	8,678	28,402	62,422
Global	63,453	4,629	54,380	72,527

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado

Funciones de supervivencia



4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

☑ PM

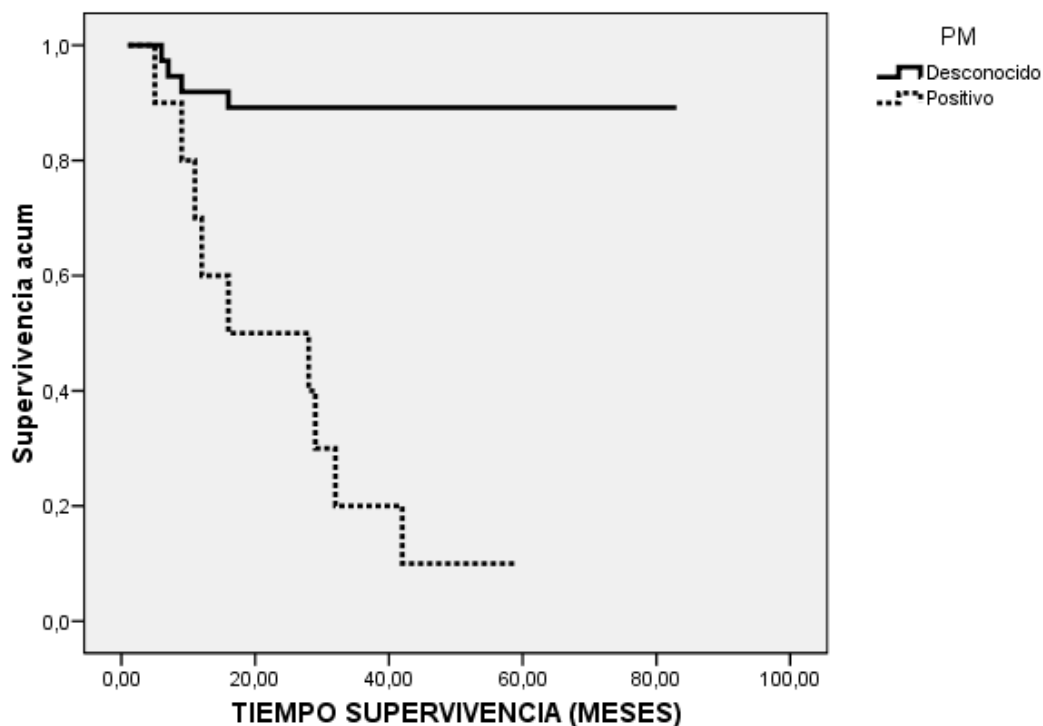
Se detectaron, también, diferencias estadísticamente significativas de las curvas de supervivencia de pacientes según el PM sea desconocido o positivo. Con mayor precisión, la supervivencia estimada se reduce un 66% si el PM es positivo respecto a desconocido.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

PM	Media ^a			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Desconocido	75,054	3,758	67,688	82,420
Positivo	24,300	5,115	14,275	34,325
Global	63,453	4,629	54,380	72,527

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado

Funciones de supervivencia



4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

Invasión linfovascular

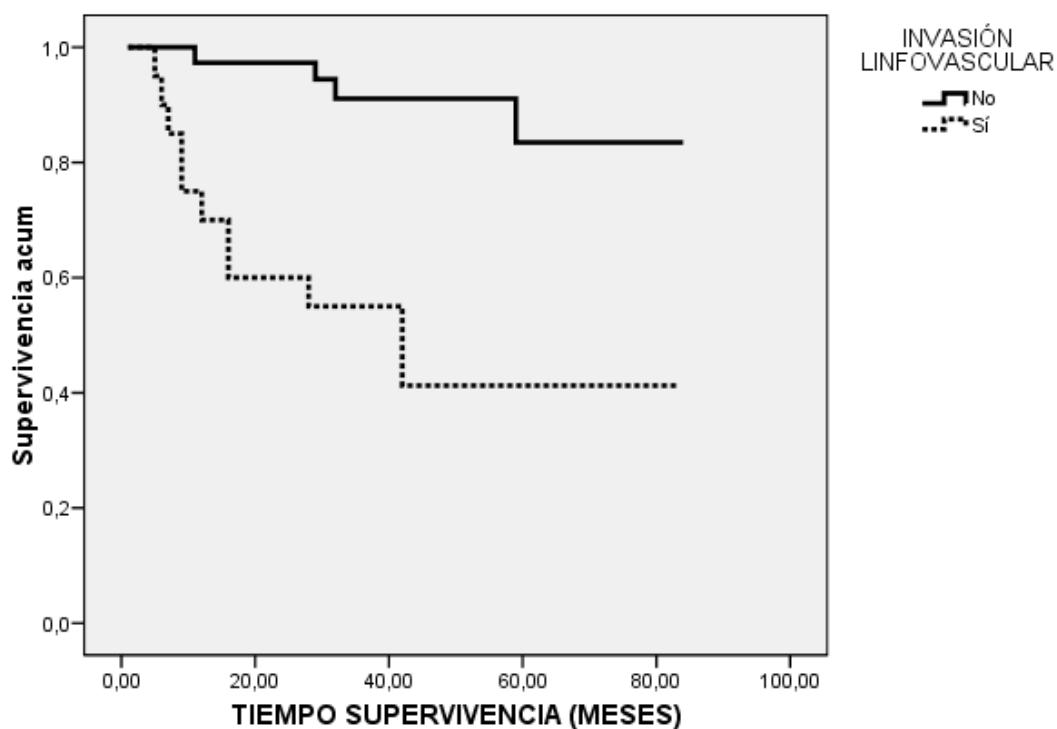
La invasión linfovascular se revela como un factor pronóstico negativo, reduciendo los tiempos de supervivencia de forma significativa.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

INVASIÓN LINFOVASCULAR	Media ^a			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
No	76,802	3,371	70,196	83,409
Sí	45,413	8,399	28,950	61,875
Global	66,404	4,076	58,415	74,393

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado

Funciones de supervivencia



4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

☑ *CD31(QUI)*

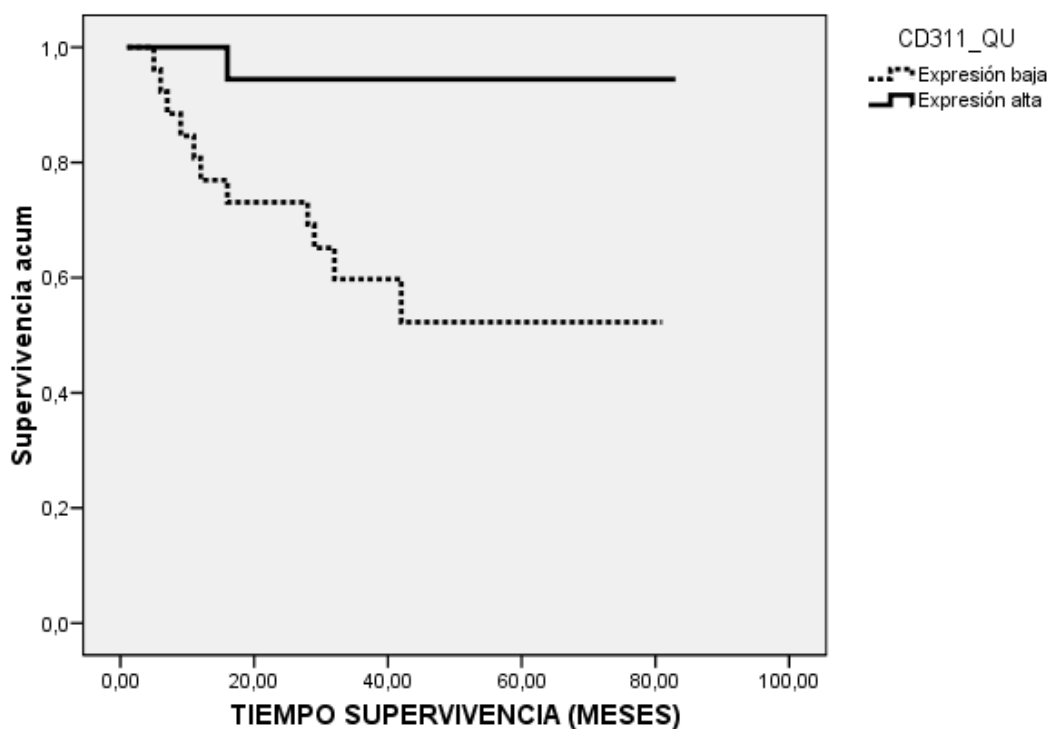
Una expresión baja de este parámetro se asocia con curvas de supervivencia significativamente más cortas. La diferencia en meses de supervivencia de una expresión alta a una baja es de 27.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

CD311_QU	Media ^a			
	Estimación n	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Expresión baja	52,002	6,626	39,015	64,989
Expresión alta	79,278	3,617	72,188	86,368
Global	63,823	4,741	54,531	73,116

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado

Funciones de supervivencia



4. RESULTADOS Y ESTUDIO ESTADÍSTICO

☑ CROMOGRANINA (QUI)

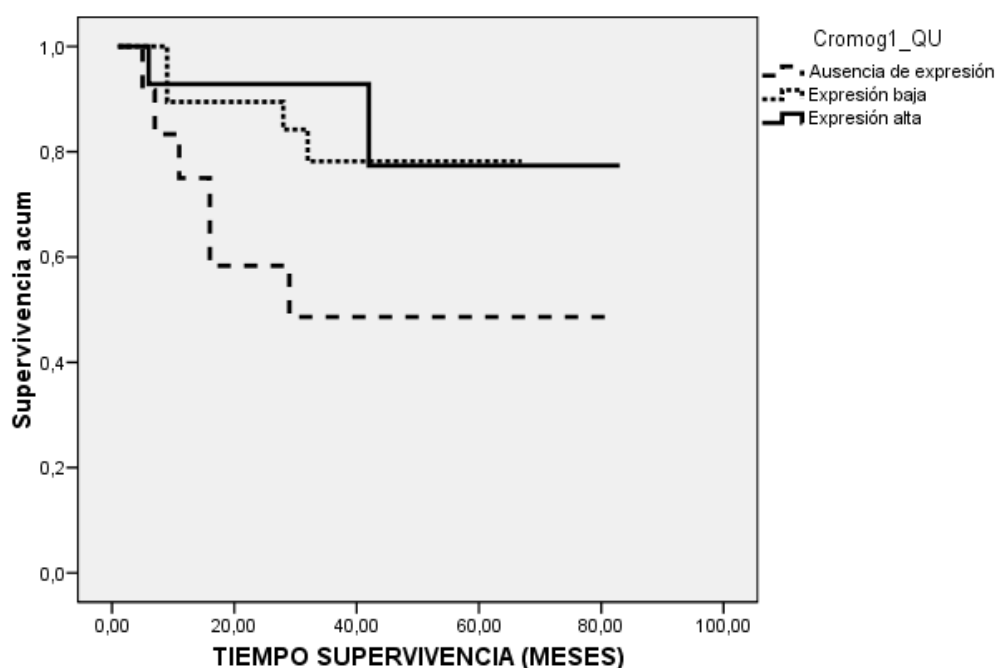
Aunque la cromogranina no genera diferencias estadísticamente significativas en las curvas de supervivencia, el p-valor (0,056) hace pensar en una tendencia.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia

Cromog1_ QU	Media ^a			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Ausencia de expresión	46,778	9,910	27,355	66,201
Expresión baja	56,737	4,658	47,607	65,867
Expresión alta	71,155	7,542	56,373	85,936
Global	64,252	4,655	55,129	73,375

a. La estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si se ha censurado.

Funciones de supervivencia



Se observa cómo los pacientes con ausencia de expresión son los que tienen una supervivencia más reducida que la de los otros dos grupos, que pueden considerarse bastante homogéneos.

5. DISCUSIÓN

5.1- DISCUSIÓN

5.1.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

EPIDEMIOLOGÍA

De los 59 casos extraídos de una muestra constituida por dos poblaciones pertenecientes a dos hospitales de la Comunidad Valenciana (Hospital Clínico Universitario y Hospital General de Requena), que presentan características clínicas y epidemiológicas equiparables, se observa una mayor frecuencia en la afectación del carcinoma rectal en estadios avanzados (T3, T4, N1-2) en el sexo masculino (74,6% frente al 25,4%), con edad media de aparición de 63 años y con una mortalidad en esta población del 23,7%, lo que pone de manifiesto el éxito en la aplicación de la terapia neoadyuvante sobre una población con carcinomas rectales que a priori presentaban un mal pronóstico. Estos datos son equiparables a los datos epidemiológicos obtenidos en estudios del año 2002, donde también se observa una mayor prevalencia de cáncer rectal en la población masculina y en unas edades superiores a los 50 años [5, 7]. Desde el punto de vista de los antecedentes personales o familiares de tipo oncológico, se observa que la mayor parte de la población estudiada no presenta ningún tipo de antecedente (75%), mientras que el 25% presentaba algún antecedente oncológico, siendo un 10,2% de los casos con antecedentes de carcinoma rectal. Este dato es equiparable a los resultados de las distintas series que consideran en parte a la herencia como un factor de riesgo de cierta importancia en el diseño de los distintos programas de screening [33, 34].

En cuanto a la localización de los carcinomas rectales, prácticamente la totalidad de los casos se localizan entre el tercio medio e inferior, mientras que el porcentaje de casos localizados en el tercio superior es bajo (5,1%).

5.1.2 VARIABLES CLÍNICAS Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE (GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK)

El estudio estadístico tiene el objetivo de encontrar relaciones entre determinadas características clínicas que presentan los pacientes y el nivel de respuesta al tratamiento neoadyuvante. Los resultados concluyen que únicamente la edad del paciente presenta una asociación estadísticamente significativa ($p=0,020$) con un mayor grado de regresión tumoral de Dworak. Los valores de regresión tumoral de Dworak más altos traducen una mayor respuesta al tratamiento neoadyuvante y aparecen en edades más tempranas (entre 59-62 años), mientras que en edades superiores a 72 años se observa un grado de respuesta inferior. Este resultado no coincide con la descripción que se hace de los distintos factores pronósticos del carcinoma rectal en estadios avanzado, donde se incluye a la edad como un factor que no predice la respuesta al tratamiento [301]. Por el contrario características como la localización del tumor (tercio rectal afecto), el sexo del paciente, la presencia de antecedentes personales o familiares y el UTN obtenido mediante ecografía rectal transanal previa a la intervención quirúrgica no presentan asociación estadísticamente significativa con el grado de regresión de Dworak.

Por lo que respecta al estadiaje prequirúrgico mediante ecografía rectal transanal se ha observado una asociación entre aquellos tumores que en principio son menos agresivos y de menor tamaño y los tumores que peor responden al tratamiento neoadyuvante, traducido en un grado de regresión de Dworak 1 o 2 ($p=0,059$).

5.1.3 RELACIONES CON EL ESTADIAJE ENTRE LOS ESTUDIOS POR IMAGEN ECOGRÁFICO E HISTOPATOLÓGICO

Tras el estudio estadístico, donde se comparan los resultados obtenidos del examen de la lesión neoplásica mediante técnicas de imagen, antes (ecografía) y después (histopatología) de la intervención quirúrgica y del tratamiento neoadyuvante, se aprecia una ausencia de concordancia entre cada una de las dos pares de variables analizadas, lo que significa que existe una respuesta de la lesión neoplásica frente al tratamiento neoadyuvante, ya que se observa una reducción del estadio de la lesión neoplásica en la pieza quirúrgica que ya ha sido sometida a tratamiento neoadyuvante respecto al estadiaje realizado mediante técnicas de radiodiagnóstico (ecografía rectal endoanal o Resonancia Magnética) efectuado

después del diagnóstico endoscópico y antes del tratamiento neoadyuvante. Esto coincide con los numerosos trabajos que demuestran como los carcinomas rectales que se diagnostican en estadios avanzados, si son sometidos a tratamiento neoadyuvante sufrirán una serie de cambios tanto macroscópicos como histopatológicos que explicaran porque el estadiaje prequirúrgico (UTNM) no presenta asociación o coincidencia con el estadiaje postquirúrgico o histopatológico (pTNM)[317-319].

5.1.4 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS Y EVOLUCIÓN

Se realiza un estudio estadístico donde se pretende encontrar una asociación estadísticamente significativa entre distintas características histopatológicas observadas en las muestras endoscópicas (grado de diferenciación de la lesión neoplásica) y variables obtenidas tras el estudio histopatológico (estadiaje histopatológico pTNM, grado de regresión de Dworak, número de mitosis, embolización o invasión vascular y características a nivel celular, estromal y del tejido adyacente a la lesión neoplásica) frente a la evolución de la enfermedad.

Los resultados obtenidos demuestran una asociación estadísticamente significativa entre el estadiaje histopatológico pTNM y la evolución de la lesión neoplásica, característica ya demostrada y afianzada hoy día como un elemento imprescindible en el pronóstico de la enfermedad [302] y en consecuencia en la aplicación de técnicas curativas o paliativas de mayor o menor agresividad.

Otra característica histopatológica, que posee una asociación estadísticamente significativa ($p=0,001$) y que traduce una mala evolución de la enfermedad es la embolización o invasión de estructuras vasculares linfáticas o venosas, lo que indica la importancia en la búsqueda para detectar émbolos neoplásicos en la pieza quirúrgica al igual que es necesario una correcta estadificación quirúrgica. Dicha afirmación, coincide con las conclusiones obtenidas por Gagliardi G. y colaboradores donde se establecen una serie de variables con significado pronóstico en el cáncer rectal [311].

Por el contrario no se ha observado una significación estadística entre el grado de diferenciación de la lesión neoplásica en la muestra endoscópica, las variables detectadas tras el estudio histopatológico de la pieza de resección (grado de regresión de Dworak, número de mitosis, embolización o invasión vascular y características a nivel celular, estromal y del tejido adyacente a la lesión neoplásica) y la supervivencia de la enfermedad.

5.1.5 VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE (GRADO DE REGRESIÓN DE DWORAK)

Tras asociar la distintas características histopatológicas ya descritas en el apartado anterior y el grado de regresión tumoral tras el tratamiento neoadyuvante (radioterapia y quimioterapia) expresado mediante el grado de regresión de Dworak, hemos visto que en los casos donde el grado de regresión tumoral es mayor la probabilidad de presentar embolización o invasión vascular era menor, mientras que en los casos donde el grado de regresión era menor, la probabilidad de presentar invasión vascular se incrementaba. Estos resultados entran dentro de una cierta lógica ya que donde la masa tumoral es mayor, corresponde con una mayor agresividad del comportamiento y la capacidad de embolización de estructuras vasculares.

El número de mitosis de la lesión neoplásica tras el tratamiento neoadyuvante también presenta una asociación estadísticamente significativa ($p=0.001$) con el grado de regresión tumoral, observándose un menor número de mitosis en aquellos casos donde la lesión neoplásica ha presentado una mayor regresión, lo que significa que la actividad proliferativa tras el tratamiento neoadyuvante también tiene significación pronóstica. Ello nos permite concluir que el tratamiento parece resultar eficaz con vistas a reducir el tamaño y la actividad proliferativa del tumor respecto a la que presentaba en las muestras endoscópicas.[434].

Otra afirmación que se puede extraer del estudio de las distintas variables histopatológicas y el grado de regresión de Dworak es que existe una tendencia a la asociación, aunque no estadísticamente significativa, entre el grado de fibrosis e infiltrado inflamatorio y el nivel de regresión presentado por la lesión neoplásica. Los distintos trabajos que se han realizado en este sentido demuestran que las lesiones neoplásicas rectales que han sido sometidas a un tratamiento neoadyuvante con radioterapia y quimioterapia, responden con un grado de regresión mayor aunque también presentan una serie de modificaciones histopatológicas cuya significación pronóstica aún no ha sido totalmente dilucidada [310, 316-318]. En el estudio realizado por Shia y cols. se demuestra que determinadas variables histopatológicas observadas sobre la pieza quirúrgica se correlacionan con el pronóstico (Tabla 2.6 pág. 84) [324]. Aunque no alcancen una asociación estadísticamente significativa, posiblemente debido al tamaño muestral, la relación que existe entre la fibrosis, el infiltrado inflamatorio y la evolución de la enfermedad coincide con los resultados obtenidos en el trabajo anteriormente mencionado.

5.1.6 NIVEL DE CONCORDANCIA ENTRE DOS OBSERVADORES EN LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Los resultados en la interpretación inmunohistoquímica de los distintos marcadores que son objeto de este estudio han sido evaluados por dos observadores de forma independiente (doble ciego). Los resultados son trasladados a las tablas configuradas en el apartado de resultados y después se realiza un estudio estadístico para obtener un grado de concordancia entre observadores, expresado desde el punto de vista estadístico como coeficiente Kappa.

El coeficiente Kappa es una medida del grado de concordancia no aleatoria entre varios observadores o entre distintas mediciones de la misma variable. Varía de -1 a +1.

Los distintos resultados posibles son:

- Si $K = -1$. Discrepan más mediciones de lo esperado por azar.
- Si $K = 0$. La concordancia es a causa del azar.
- Si $K = +1$. La concordancia es completa.

Por lo tanto en este estudio se pretende que la subjetividad que aparece intrínsecamente asociada a la interpretación de los resultados obtenidos de la lectura de las técnicas inmunohistoquímicas, mediante la técnica de las matrices tisulares, no interfiera en el significado de los distintos resultados obtenidos, ya que si obtuviésemos un coeficiente Kappa alejado de +1 dichos resultados tendrían un grado de subjetividad tan importante que no nos permitirían obtener conclusiones válidas. La proximidad al nivel de concordancia +1 dota a los resultados y al diseño del estudio estadístico realizado de rigor y fiabilidad.

Los resultados obtenidos y expresados en el apartado del estudio estadístico, significan que existe un alto nivel de concordancia entre los dos observadores, por lo general con un coeficiente de Kappa superior a 0,7 y en algunos casos alcanzando incluso la concordancia máxima o 1. Tan solo la interpretación del anticuerpo Bcl-2 en la muestra endoscópica presenta un grado de concordancia moderada con un coeficiente Kappa de 0,6. Este hecho podría ser debido en que en la mayoría de los casos existe una inmunotinción débil frente al anticuerpo Bcl-2 y una menor variabilidad referida a la intensidad de tinción entre los distintos casos por lo que

también se vería afectado la extensión de la inmunotinción y un posible diferente criterio de interpretación entre los dos observadores.

5.1.7 RESULTADO INMUNOHISTOQUÍMICO ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

Los pacientes con carcinoma rectal diagnosticados en estadios avanzados son sometidos a tratamiento neoadyuvante debido a los beneficios que éste les produce en lo que se refiere a la morbilidad y a la supervivencia posterior. El tratamiento neoadyuvante al igual que produce una serie de modificaciones histopatológicas típicas, también produce una serie de modificaciones moleculares que tendrán un papel fundamental en el cambio del comportamiento de la lesión neoplásica.

La diferenciación neuroendocrina que sufre la lesión neoplásica tras tratamiento neoadyuvante se manifiesta por la modificación en la expresión del anticuerpo cromogranina entre la muestra endoscópica y en la muestra de la pieza quirúrgica. Los resultados obtenidos reflejan que la expresión de la cromogranina es mayor, tanto en intensidad como en extensión, sobre la muestra tomada de la pieza quirúrgica en un mayor número de casos, lo que refleja una modificación de la lesión tumoral tras ser tratada de forma neoadyuvante. El estudio estadístico presenta una expresión de la cromogranina sobre la muestra de la pieza quirúrgica más intensa en el 58,1% de los casos y más extensa en el 67,4% mientras que la intensidad y la extensión de la inmunotinción es de 11,6% y 9,3% sobre las muestras endoscópicas. A partir de estos resultados se puede afirmar que en nuestra serie de casos, el tratamiento neoadyuvante favorece una diferenciación neuroendocrina, lo que coincide con los resultados obtenidos por Shia y colaboradores [276] quienes concluyen que el efecto citotóxico del tratamiento neoadyuvante induciría la diferenciación neuroendocrina.

La apoptosis ha sido también estudiada mediante dos marcadores. En el caso del BAX (proapoptosis) se observa que la intensidad y la extensión de la expresión no sufren cambios significativos antes y después del tratamiento neoadyuvante, circunstancia que se repite con el otro marcador de apoptosis o Bcl-2 (marcador de inhibición de apoptosis). Estos resultados no coinciden con el trabajo de Tannapfel. y cols.[346] que afirman que el tratamiento neoadyuvante favorece la apoptosis de la lesión neoplásica.

La actividad proliferativa se estudia mediante la Topoisomerasa 2 α y mediante Ki67. El estudio estadístico muestra que para el Ki67 existe una mayor

expresión de la intensidad y extensión de la inmunotinción sobre la muestra endoscópica (48,8% y 60,5%) que sobre la muestra de pieza quirúrgica (11,6% y 16,3%). En el caso de la Topoisomerasa 2alfa se obtienen resultados similares: (48,8% y 51,2%) en endoscopia y (9,3% y 2,3%) en muestra quirúrgica. En consecuencia, se aprecia una neta disminución de la actividad proliferativa tras tratamiento neoadyuvante. Estos resultados coinciden con los de Scott y cols [345] así como los de Tannapfel y cols [346], quienes también aprecian una reducción de la actividad proliferativa tras el tratamiento neoadyuvante.

La angiogénesis viene reflejada mediante el estudio de la expresión de los marcadores D2-40 y del CD31. Encontramos que la expresión es mayor en la muestra endoscópica (62,8% en intensidad y 60,5% en extensión) frente a la obtenida en la pieza quirúrgica (14% en intensidad y 7% en extensión) con el anticuerpo D2-40, mientras que las modificaciones no son significativas con el anticuerpo CD31. La mayor linfangiogénesis que poseen las muestras endoscópicas (antes del tratamiento neoadyuvante) confirman el efecto positivo del tratamiento que produce una disminución de la misma y por tanto con referencia al pronóstico, resultados coincidentes con los de Saad y cols. [380].

La Timidilato Sintetasa tampoco sufre una modificación significativa en la expresión antes y después del tratamiento neoadyuvante en la mayoría de casos.

5.1.8 ASOCIACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LOS DISTINTOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

El principal objetivo en la interpretación de los presentes resultados es clasificar a los pacientes según una serie de características inmunohistoquímicas halladas en la muestra endoscópica, distribuyéndolos en categorías pronósticas y en categorías que se van a beneficiar del tratamiento neoadyuvante frente al otro grupo en que los resultados van asociados con una desfavorable evolución de la enfermedad a pesar del tratamiento neoadyuvante. Ello podría servir para reducir la morbilidad que en esta población produce la radioterapia y quimioterapia neoadyuvante buscando otras alternativas terapéuticas.

También los resultados inmunohistoquímicos obtenidos sobre las piezas quirúrgicas previamente sometidas a tratamiento neoadyuvante, el objetivo es determinar aquellos casos que necesitarán de terapias adyuvantes complementarias para mejorar el pronóstico de la enfermedad ya que el tratamiento neoadyuvante no ha logrado mejorar el pronóstico.

Mediante el estudio estadístico donde se asocian las distintas variables inmunohistoquímicas sobre muestras endoscópicas y piezas quirúrgicas con la supervivencia (probabilidad de estar vivo o muerto) se observa que tan solo el CD31 expresado sobre la pieza quirúrgica presenta una asociación estadísticamente significativa ($p= 0,019$) relacionada con el pronóstico. Cuanto mayor es la expresión del CD31 en la pieza quirúrgica tras tratamiento neoadyuvante mejor es la probabilidad de supervivencia. La positividad frente a CD31 indica un fenómeno de angiogénesis cuyo papel en la presencia de metástasis ganglionares o de metástasis a distancia ha sido discutido. En algún trabajos no se ha observado un resultado estadísticamente significativo en esta asociación [382], aunque se han realizado otros estudios con anticuerpos de angiogénesis más específicos (D2-40) donde si se observa una asociación estadísticamente significativa[380]. En la situación clínica de los carcinomas rectales en estadios avanzados que han sido sometidos a tratamiento neoadyuvante se señala en un estudio de Zlobec y cols. [390] que en las biopsias endoscópicas la presencia de una menor angiogénesis predice una mejor respuesta al tratamiento neoadyuvante, valor que sin embargo en el presente trabajo no ha mostrado asociación estadísticamente significativa. Por el contrario, sí que se ha observado una asociación estadísticamente significativa entre la densidad de angiogénesis detectada mediante el anticuerpo CD31 y el pronóstico de la enfermedad. Este resultado lo interpretamos en el sentido de que la angiogénesis sería una consecuencia del mecanismo reactivo del sistema inmune del organismo frente a la lesión neoplásica, generando una reacción inflamatoria en que el infiltrado inflamatorio linfocitario y monocitario sería un mediador de la angiogénesis tumoral [396, 397].

Con un nivel de significación del 1%, se ha apreciado como el incremento de la expresión de la cromogranina hallada en la pieza quirúrgica respecto a la expresión vista en la muestra endoscópica lo cual indica el grado de diferenciación neuroendocrina que sufre el tumor tras recibir tratamiento neoadyuvante, ofrece una mayor positividad en aquellos casos que tienen una mejor supervivencia. La importancia de la diferenciación neuroendocrina en las distintas lesiones neoplásicas es variable y en muchos casos depende de la localización [411-413]. En la situación

concreta del carcinoma rectal que no es sometido a ningún tratamiento, los resultados de los distintos trabajos son contradictorios [323, 408, 409]. Sin embargo existe alguna publicación [324,] donde se señala que en la situación más específica de carcinoma rectal diagnosticado en estadios avanzados y sometido a tratamiento neoadyuvante, la diferenciación neuroendocrina (observada mediante un incremento en la expresión de la cromogranina tanto en intensidad como extensión en la pieza quirúrgica respecto a la muestra endoscópica) se asocia estadísticamente a la regresión tumoral más intensa y por tanto condiciona un mejor pronóstico. También los resultados obtenidos en el presente estudio con nivel de significación de un 1% orientan en este sentido.

Como ya se ha señalado el grado de regresión tumoral expresado mediante la clasificación de Dworak indica una mejor respuesta de la lesión neoplásica al tratamiento neoadyuvante. Los resultados inmunohistoquímicos extraídos de la muestra endoscópica y su comparación con el grado de regresión tumoral (Dworak) nos pueden servir para poder determinar aquellos casos que van a responder mejor al tratamiento neoadyuvante en base a unas características inmunohistoquímicas determinadas. Los resultados obtenidos tras el estudio estadístico demuestran una asociación estadísticamente significativa ($p=0,048$) entre la expresión del anticuerpo Ki67 y el grado de Dworak, lo que significa una mejor respuesta del tumor frente al tratamiento neoadyuvante. Este resultado es explicado por Willett y cols. [436] señalando que aquellas lesiones neoplásicas rectales con mayor actividad proliferativa son más sensibles al tratamiento radioterápico o quimioterápico, por lo que van a responder con un grado de regresión de Dworak más alto, y por ello presentan un pronóstico mejor. Esto nos permite clasificar los pacientes en distintas categorías que van a responder al tratamiento neoadyuvante frente a otras que no responden y que por tanto podrían evitar la morbilidad asociada al tratamiento neoadyuvante.

Con referencia a la expresión de los distintos anticuerpos estudiados sobre la pieza quirúrgica ya tratada mediante neoadyuvancia, vemos que existe una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de cromogranina ($p=0,001$) y de Bax ($p= 0,010$) con el grado de regresión tumoral de Dworak. Se observa que cuanto mayor es la expresión del Bax, menor es el grado de regresión de Dworak o lo que es lo mismo menor es la respuesta del tumor a la terapia neoadyuvante. El papel de Bax en la respuesta al tratamiento neoadyuvante ha sido evaluado en múltiples estudios; la pérdida de la expresión se ha visto en situaciones de mala respuesta al tratamiento neoadyuvante en el carcinoma rectal [322, 354], mientras que la sobreexpresión se ha

encontrado asociado a una mejor respuesta, causada por la inducción de la apoptosis [355, 356]. Nuestros resultados, sin embargo orientan en sentido contrario, aunque también Rau y colaboradores [340] han descrito resultados contrarios en un estudio donde se evaluaba el factor pronóstico de p53, p21, Bax, Ki67 y hMSH2 en carcinomas rectales antes y después de tratamiento quimiorradioterápico previo a cirugía. Sus resultados confirman también que los niveles de Bax y resto de marcadores estudiados no poseen influencia sobre la respuesta al tratamiento.

Entendemos que es importante insistir en lo que respecta a la cromogranina, que cuanto más alta es su expresión, mayor es el grado de respuesta a la neoadyuvancia y grado de regresión de Dworak. También esta situación, como ya hemos señalado previamente, está directamente asociada con una mejor supervivencia.

5.1.9 MATRICES TISULARES

La técnica de las matrices tisulares ha permitido de una forma decisiva el economizar recursos y tiempo, ya que se realiza cada estudio inmunohistoquímico sobre cuatro cortes de parafina (dos correspondientes a las 39 muestras de endoscopia y dos correspondientes a las 39 muestras neoplásicas extraídas de la pieza quirúrgica). En ella hemos tenido que excluir 20 casos, ya que presentaban un grado de regresión de DWORAK 3 y 4, donde la selección de un área con lesión neoplásica era especialmente difícil en el caso de las lesiones con grado de regresión de DWORAK 3 o imposible cuando existía un grado de regresión de DWORAK 4. Si no se hubiera realizado esta técnica, el gasto se habría multiplicado aproximadamente por 20 veces (no se realizan 78 estudios inmunohistoquímicos de cada marcador en cada caso de forma individualizada sino tan solo se realizan 4 estudios inmunohistoquímicas de cada marcador).

6. CONCLUSIONES

6- CONCLUSIONES

Estudiamos 59 casos de carcinomas rectales en estadio avanzado (Estadios III y IV), tratados con neoadyuvancia (Radioterapia y Quimioterapia) antes de la cirugía. Se realiza una asociación entre determinadas características clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas y su importancia pronóstica.

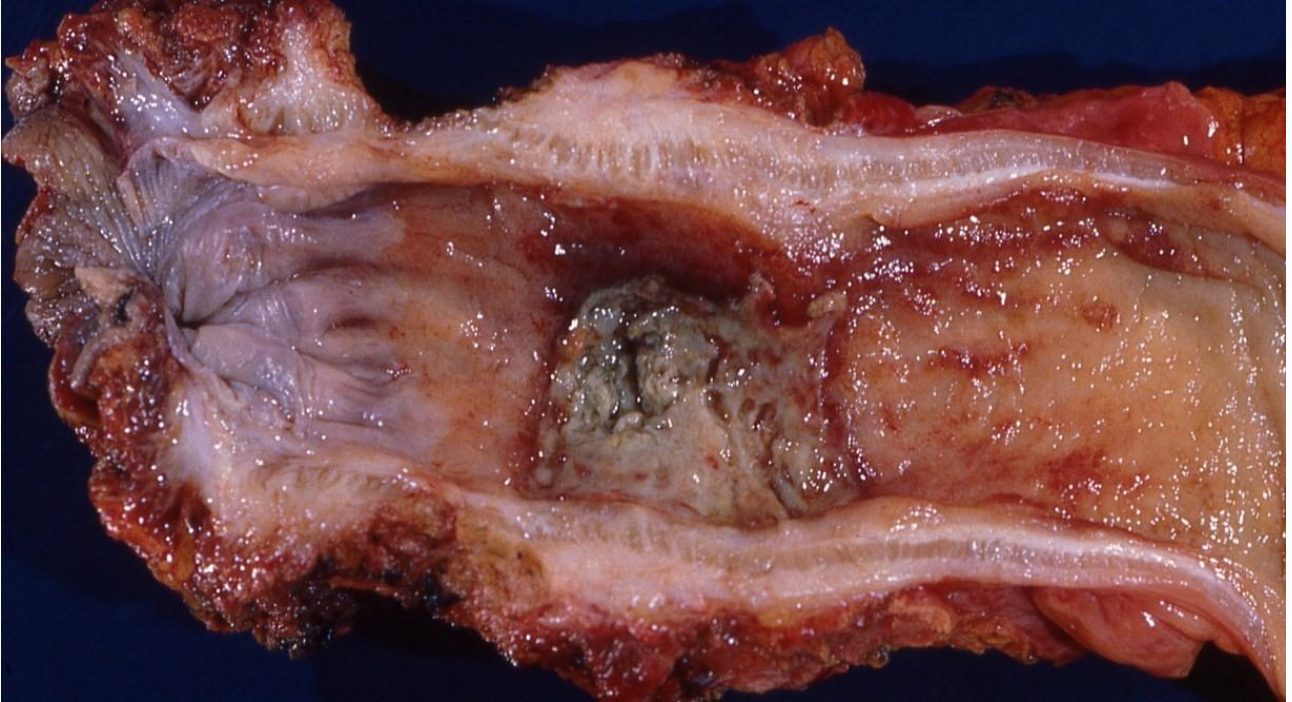
1. El cáncer rectal presenta mayor frecuencia en la población masculina de más de 50 años sin antecedentes personales o familiares respecto a los que sí lo tienen (90% frente al 10%). La mortalidad ha sido motivo de estudio en 59 casos y representó el 23,7% de los enfermos (14 pacientes fallecidos).
2. El análisis estadístico bivariante de las características clínico-epidemiológicas (edad, sexo, localización del tumor, existencia de antecedentes familiares o personales y estadiaje ecográfico prequirúrgico o uTN), indica que sólo la edad posee asociación significativa con el grado de regresión tumoral (DWORAK), de forma que a mayor edad existe un grado de regresión de DWORAK menor.
3. No existe coincidencia entre el estadiaje realizado ecográficamente antes de la cirugía y el realizado histopatológicamente tras la intervención quirúrgica, lo que pone de manifiesto que se produce una respuesta del carcinoma rectal tras el tratamiento neoadyuvante, ya que los resultados del estadiaje histopatológico traducen un menor TN con menor tamaño tumoral y menor agresividad local.
4. La técnica de las matrices tisulares ha permitido economizar recursos y tiempo, ya que si se hubiera realizado el estudio inmunohistoquímico de la forma tradicional (un marcador para un corte de parafina de cada caso) el gasto en marcadores inmunohistoquímicos se hubiera multiplicado por 20 veces cada marcador.
5. Las características histopatológicas que han demostrado tener una relación con la evolución de la enfermedad son el estadio pTNM obtenido tras el estudio de la pieza quirúrgica y la existencia de embolización tumoral en las estructuras vasculares. Estos resultados resaltan la necesidad de la búsqueda de émbolos neoplásicos en la pieza de resección quirúrgica.

6. El grado de regresión tumoral (DWORAK) y su asociación con la evolución de la enfermedad, presenta una $p=0,06$ (límite a la significación estadística), observándose tendencia a que los grados de regresión de Dworak de mayor valor (3-4) tienen un mejor pronóstico que los grados de regresión menores (0, 1, 2).
7. Existe una asociación estadísticamente significativa entre las variables histopatológicas que reflejan la invasión vascular por células tumorales, el número de mitosis, respecto al grado de regresión de DWORAK. Se encuentra un mayor número de mitosis en los casos con grado de regresión de DWORAK bajos, lo que pone de manifiesto que la actividad proliferativa del tumor es alta en aquellos casos donde persiste más masa tumoral. El resto de variables histopatológicas no presentan asociación estadísticamente significativa en relación con el grado de regresión de DWORAK.
8. Tras el tratamiento neoadyuvante se producen una serie de modificaciones que reflejan una agresividad posterior distinta a la inicial, traducida con una menor actividad proliferativa y menor angiogénesis vascular linfática.
9. El análisis de los distintos marcadores inmunohistoquímicos sobre las muestras endoscópicas antes de recibir neoadyuvancia, demuestra que existe una asociación significativa entre la expresión de KI67 y un mayor grado de regresión tumoral tras el tratamiento neoadyuvante
10. Existe una relación estadísticamente significativa entre la expresión de CD31 (angiogénesis) en la pieza quirúrgica y la evolución de la enfermedad. A mayor expresión de CD31 se observa una mejor evolución de la enfermedad. También a mayor expresión de cromogranina en la pieza quirúrgica tratada ocurre mayor regresión tumoral y mejor probabilidad de supervivencia. Por contra existe una mayor expresión de BAX asociado a un menor grado de regresión tumoral.
11. En el análisis estadístico multivariante se confirman los resultados del estudio bivariante. Así, con relación a las variables clínicas, confirmamos que si el carcinoma rectal aparece en edades tardías presentará peor supervivencia con independencia del resto de variables. Con referencia a las características histopatológicas se confirma el valor pronóstico del estadiaje histopatológico pTNM y a la presencia de embolización neoplásica intravascular. Con respecto a los resultados inmunohistoquímicos, la sobreexpresión de cromogranina es lo

que más información aporta para indicar una evolución favorable de la enfermedad, incluso con una significación superior al resto de variables estudiadas.

7. ICONOGRAFÍA

IMAGEN MACROSCÓPICA DEL CARCINOMA RECTAL

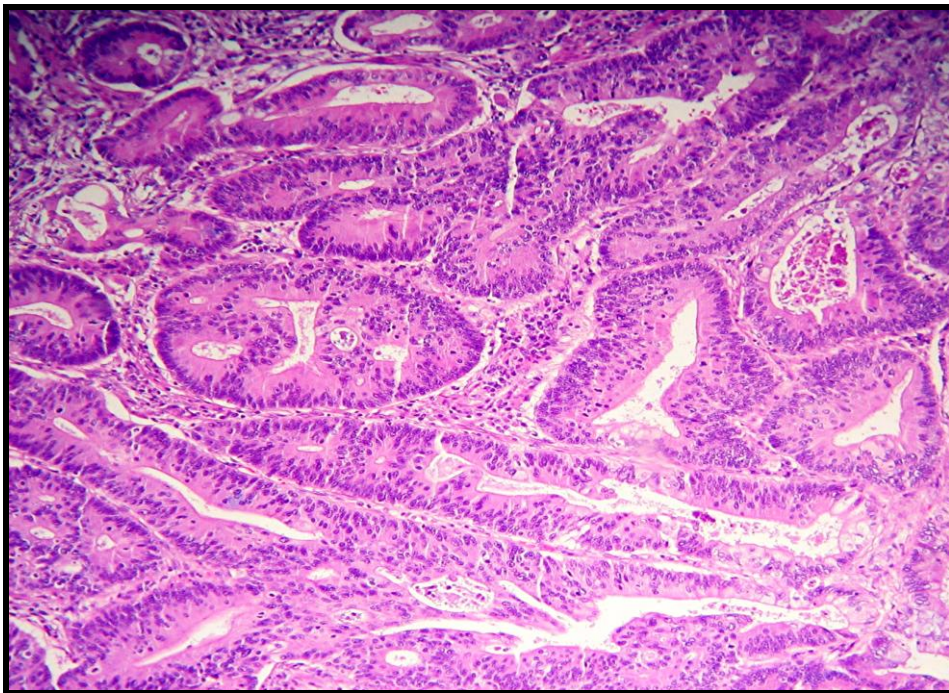
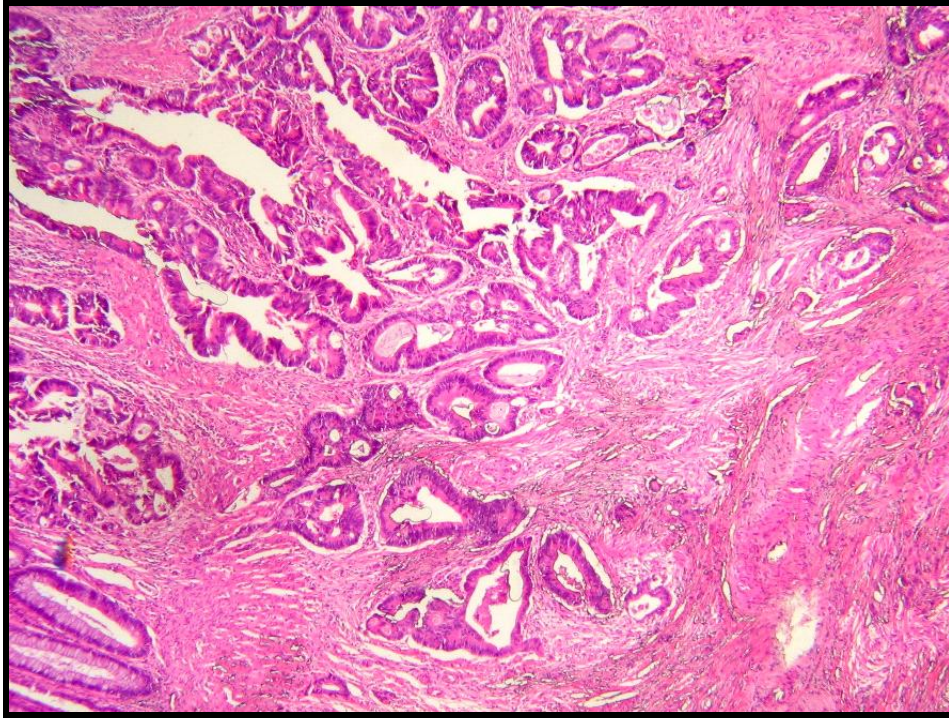


SECCIÓN LONGITUDINAL



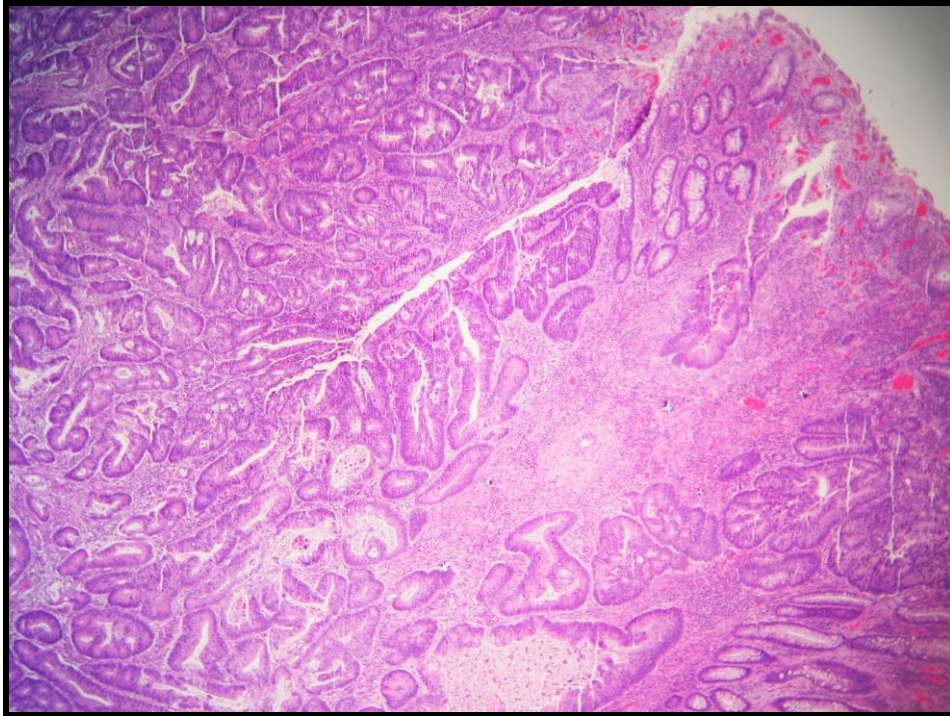
SECCIÓN TRANSVERSAL

**IMAGEN HISTOPATOLÓGICA DEL CARCINOMA
RECTAL CON TINCIÓN HEMATOXILINA EOSINA (H.E)**

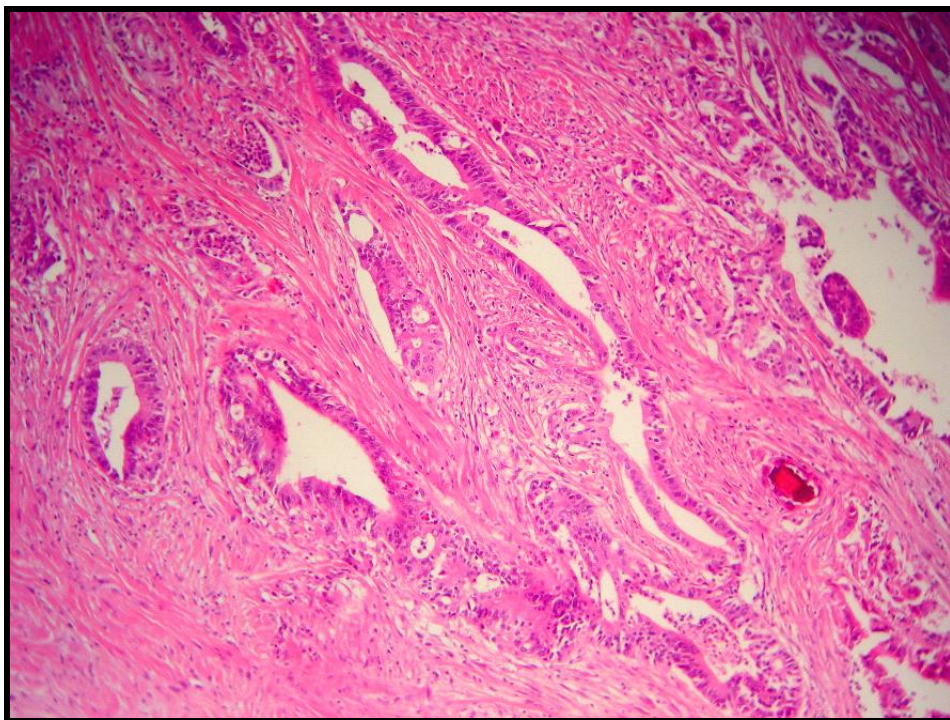
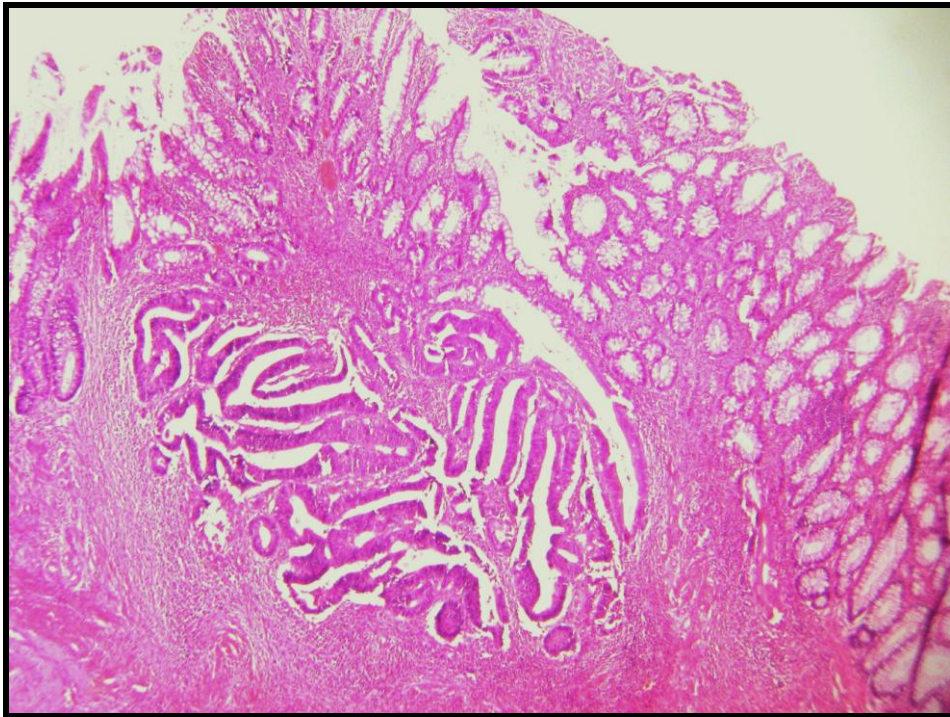


GRADO DE REGRESIÓN TUMORAL DE DWORAK TRAS TRATAMIENTO NEOADYUVANTE. (H.E)

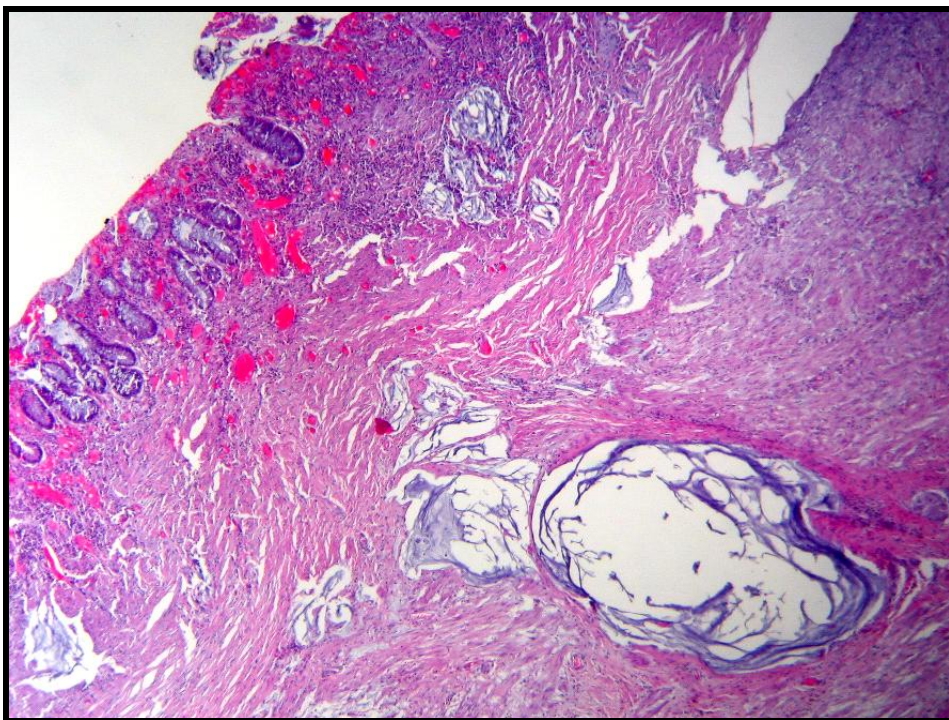
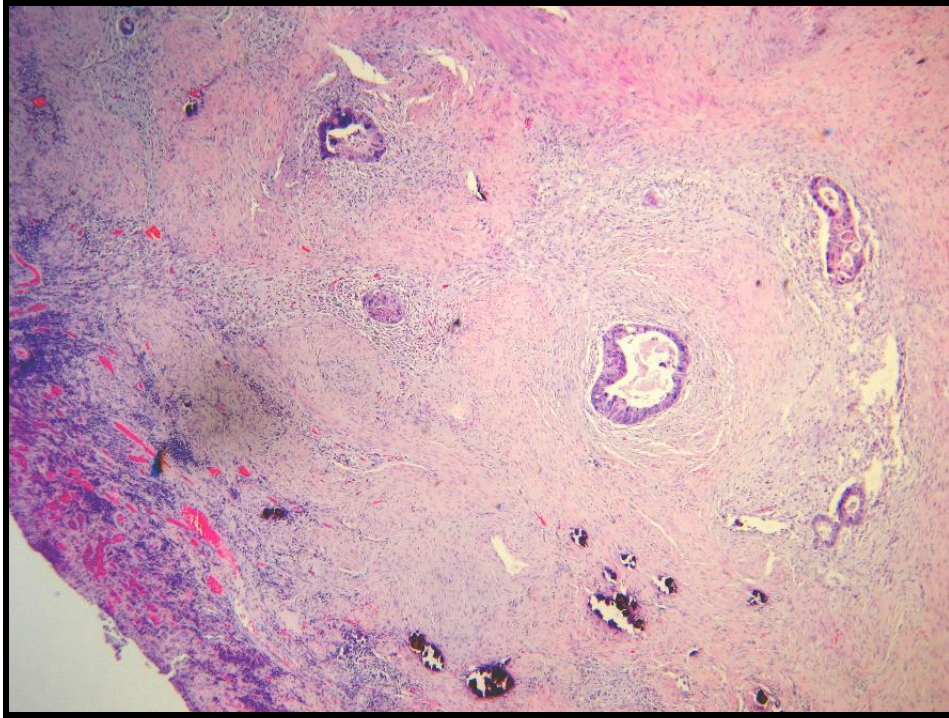
GRADO 1:



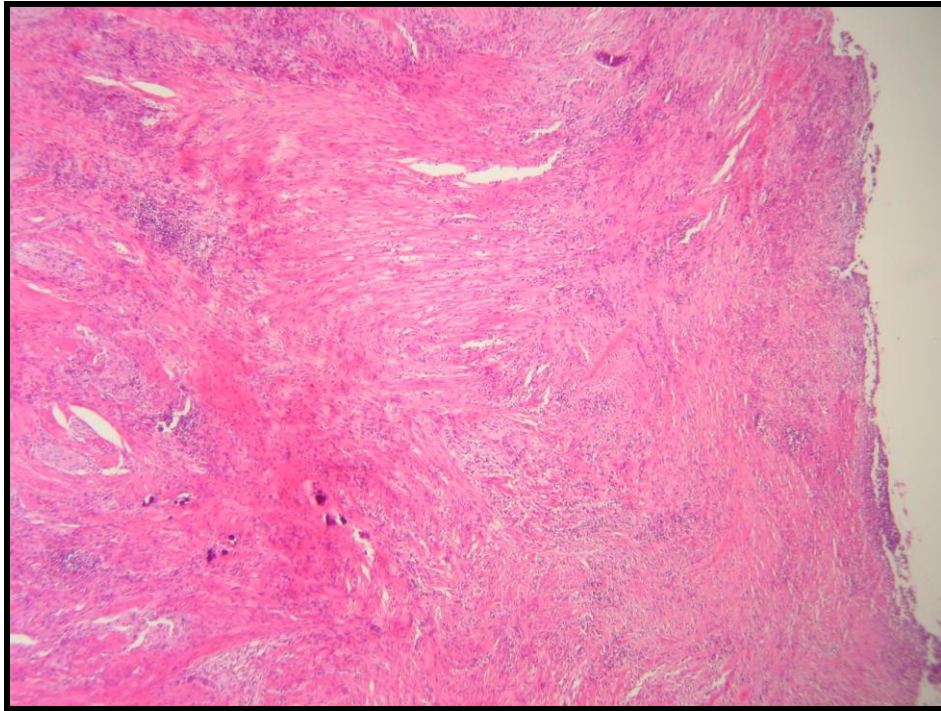
GRADO2:



GRADO3:

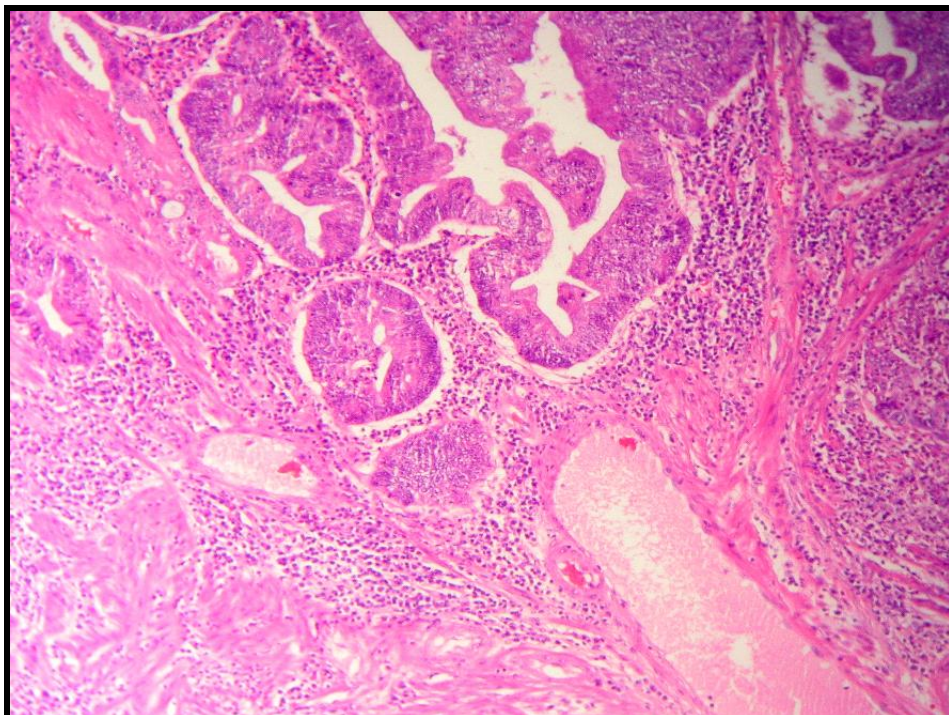
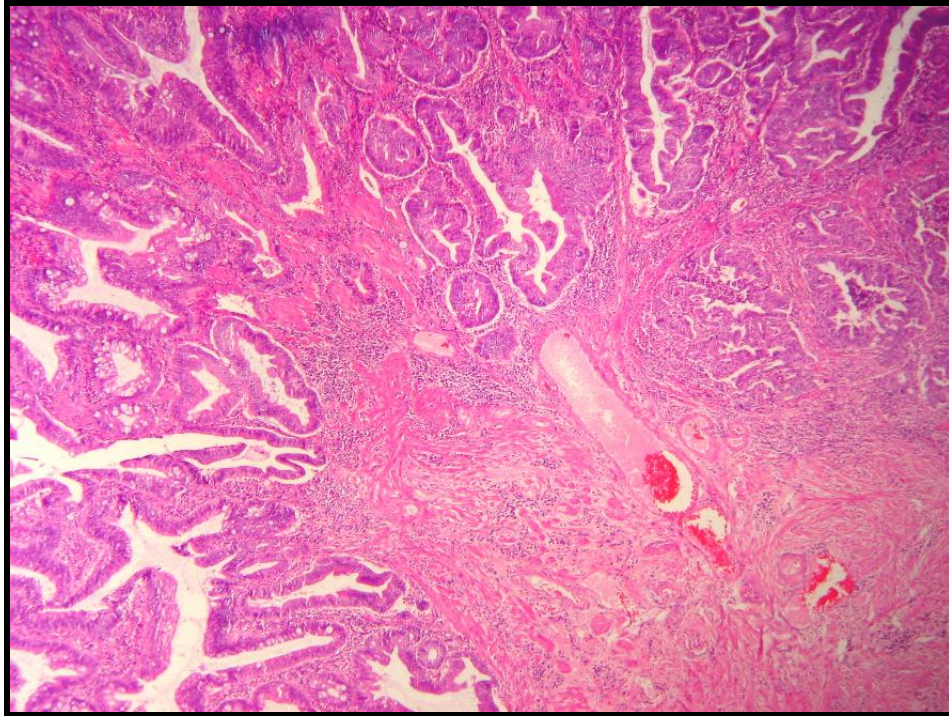


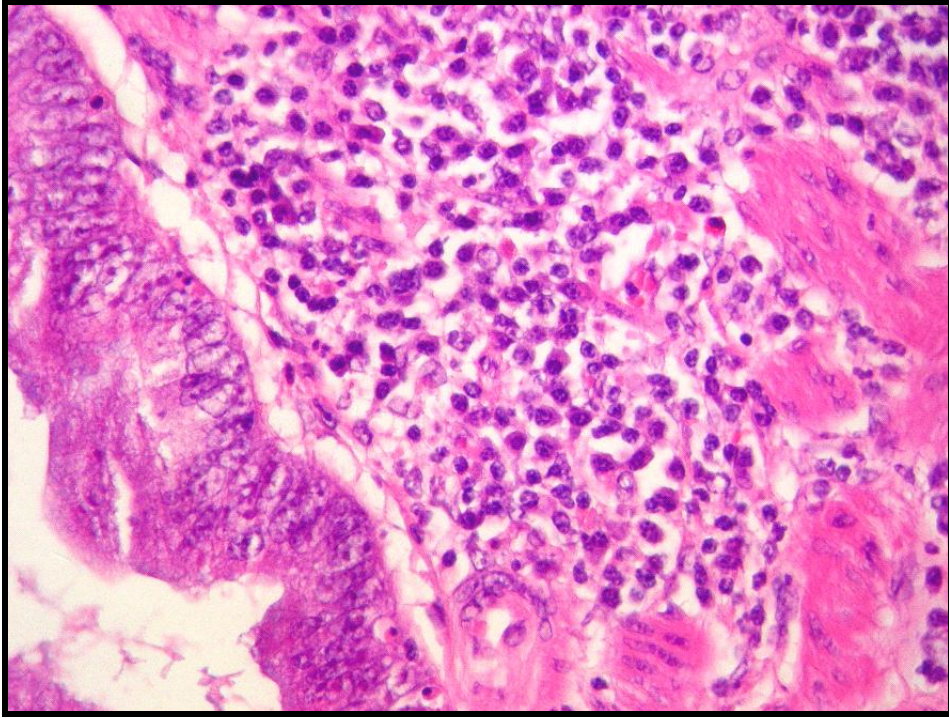
GRADO 4:



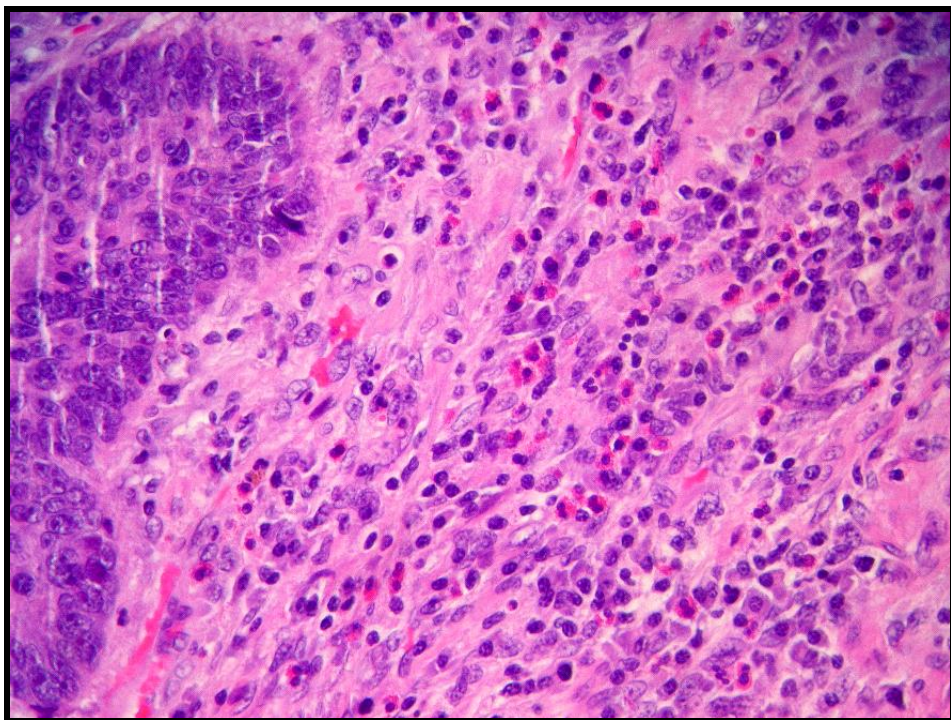
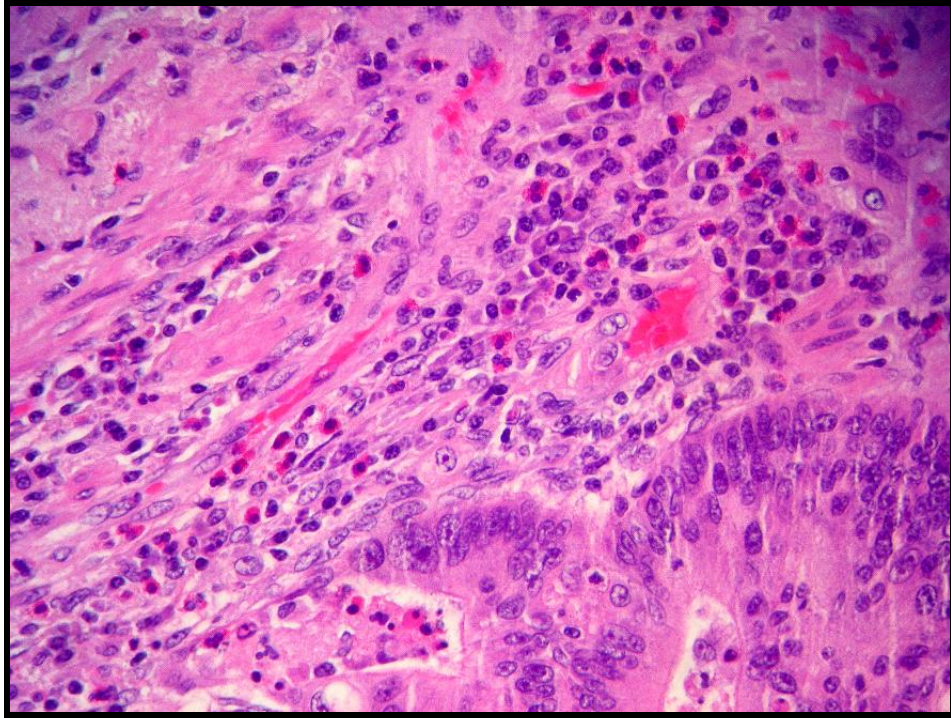
**ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS TRAS
TRATAMIENTO NEOADYUVANTE (H.E)**

REACCIÓN INFLAMATORIA LINFOCITARIA PERITUMORAL

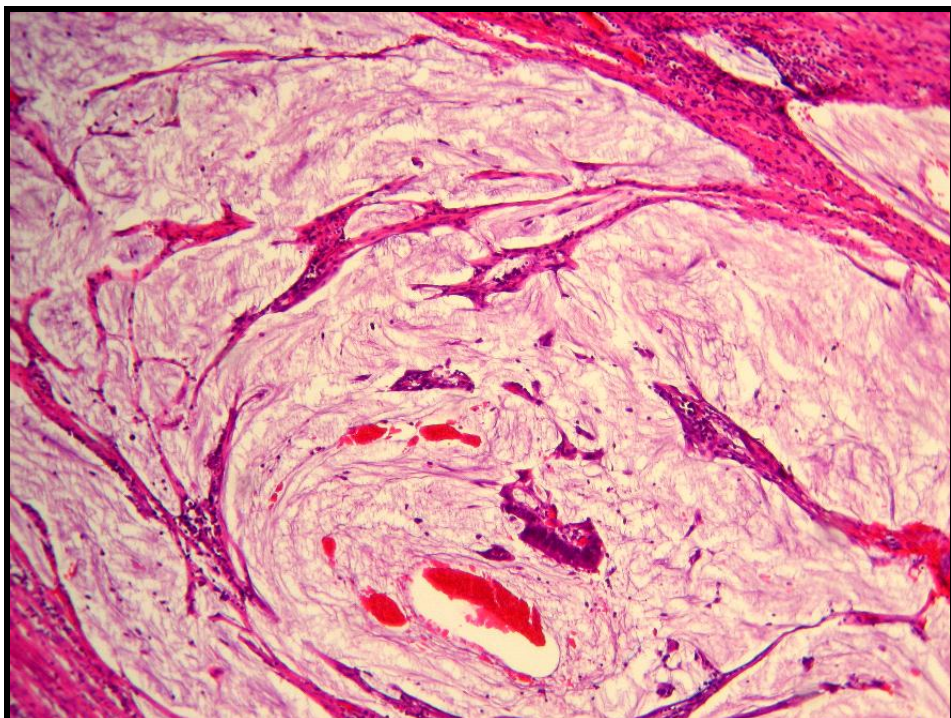
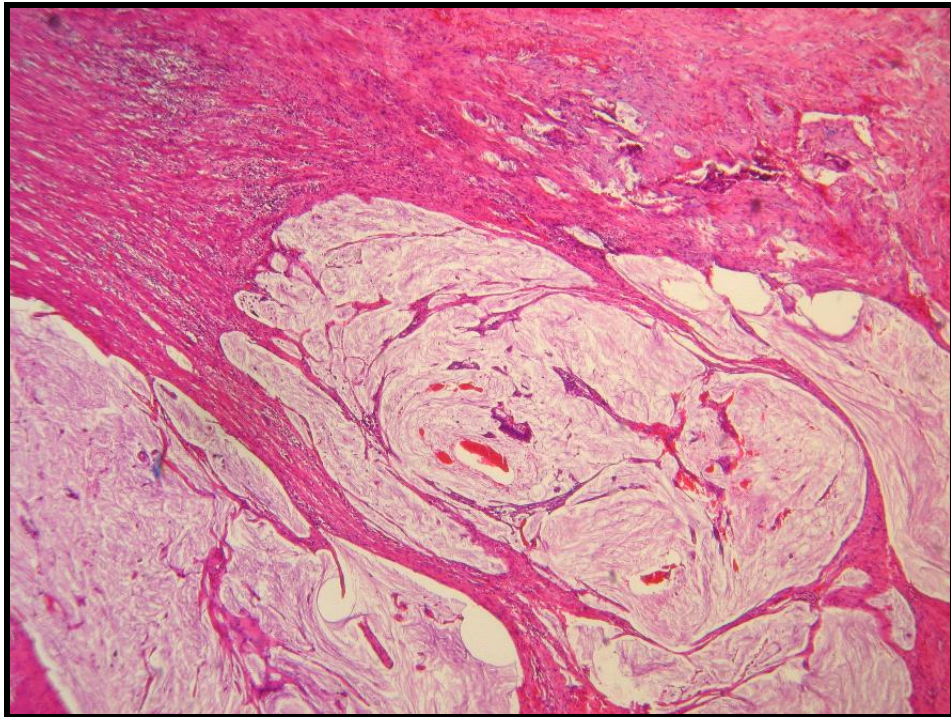




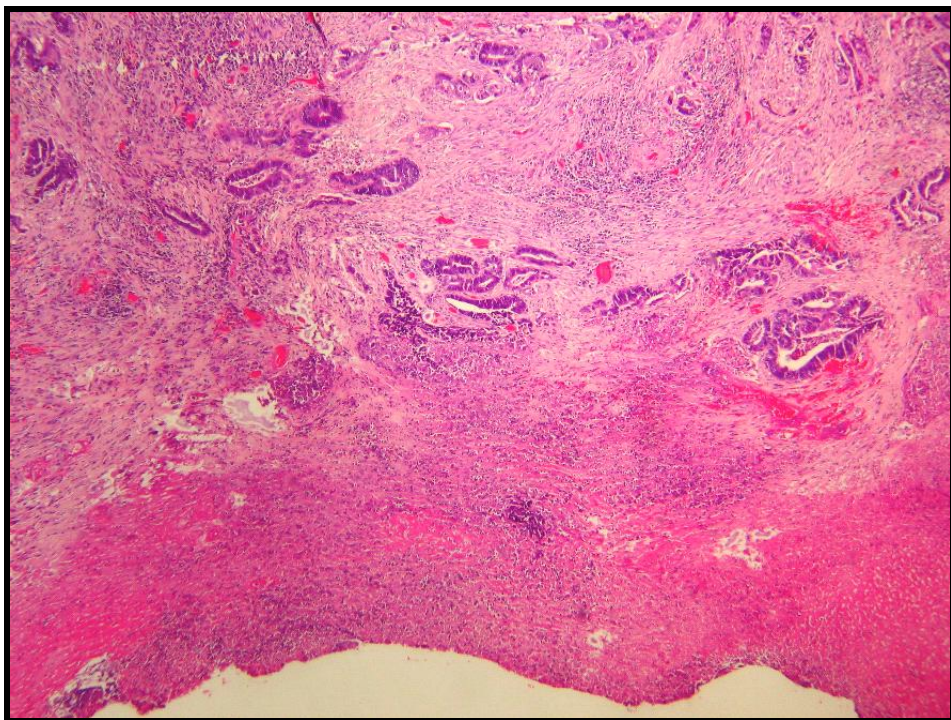
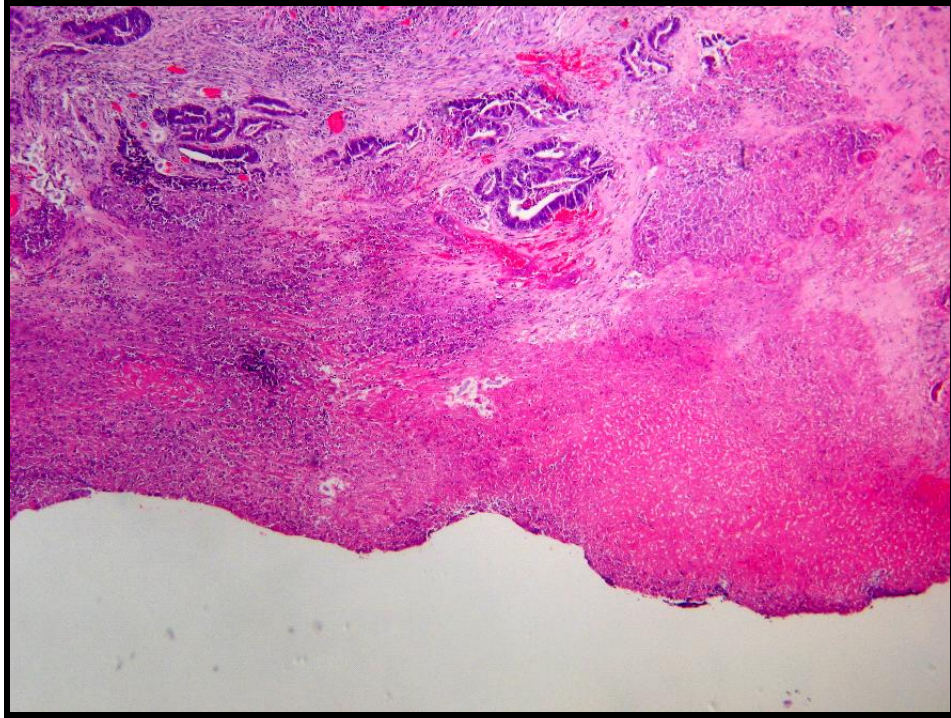
INFILTRADO PERITUMORAL POR CÉLULAS EOSINÓFILAS



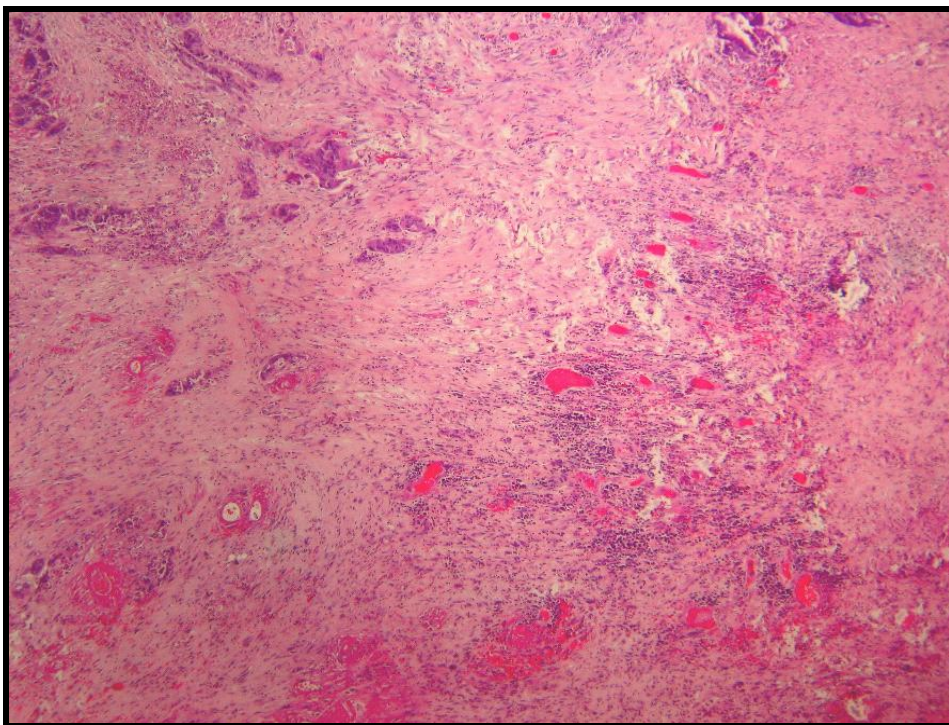
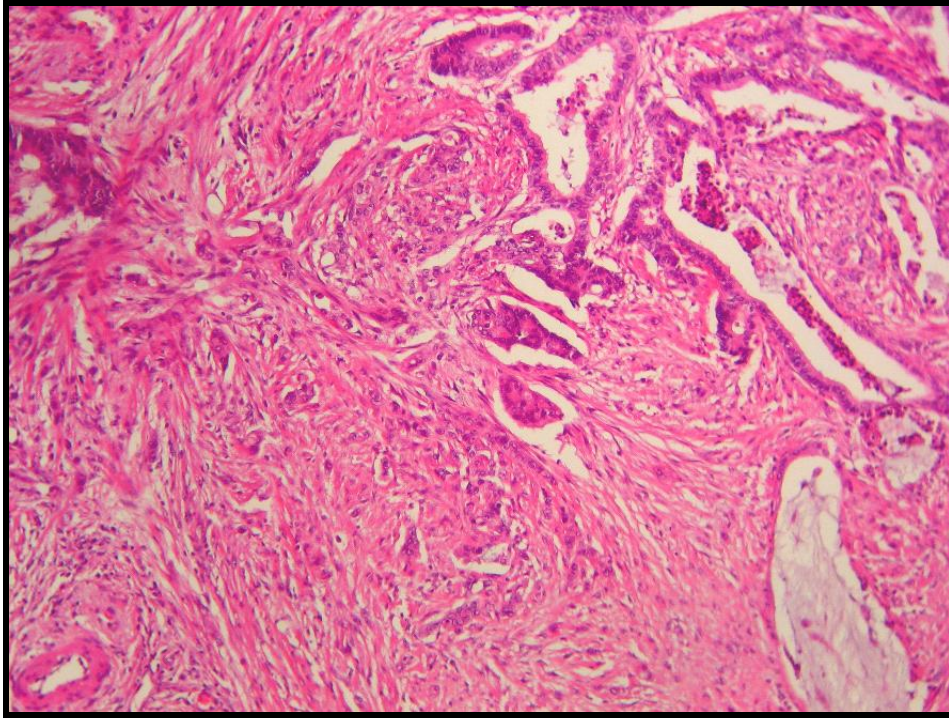
TRANSFORMACIÓN MUCINOSA



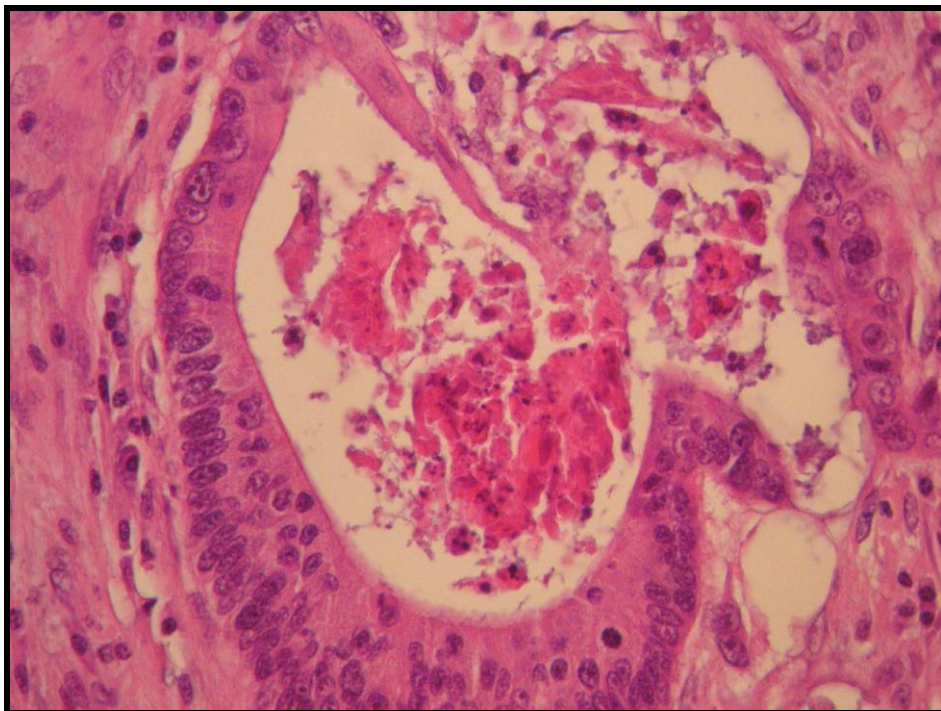
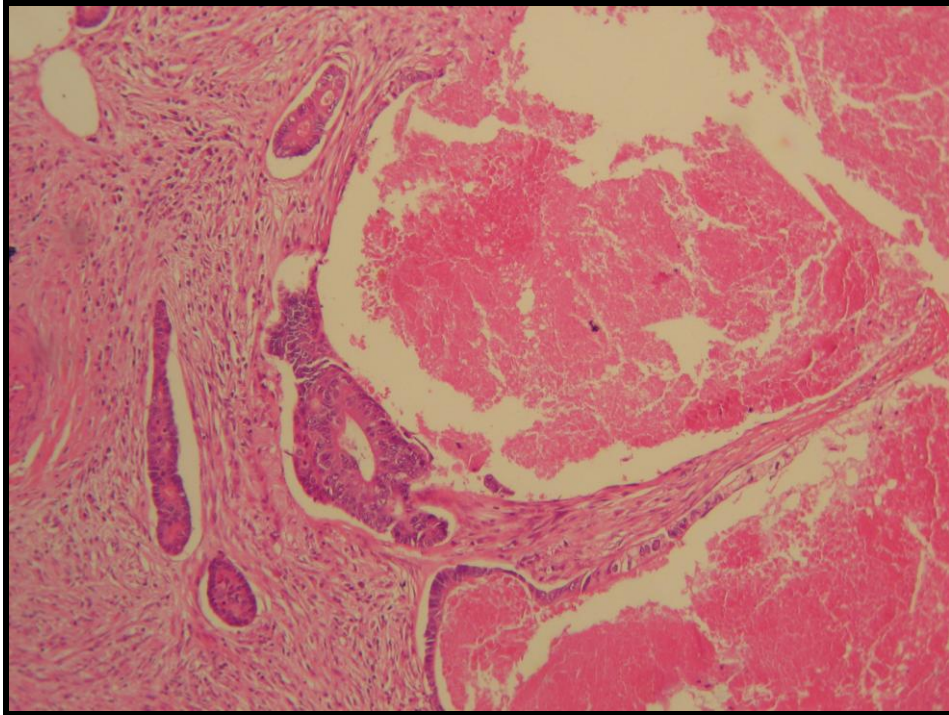
ULCERACIÓN



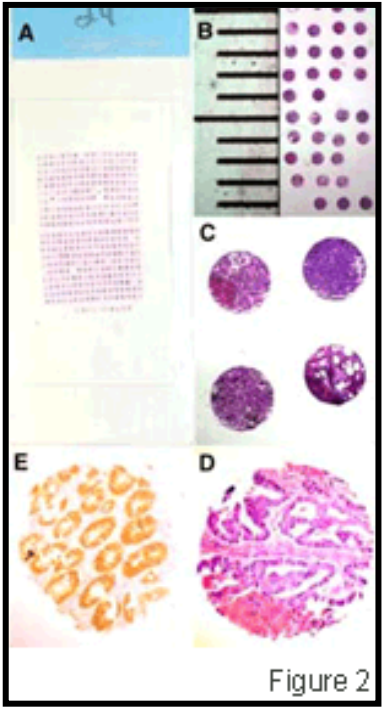
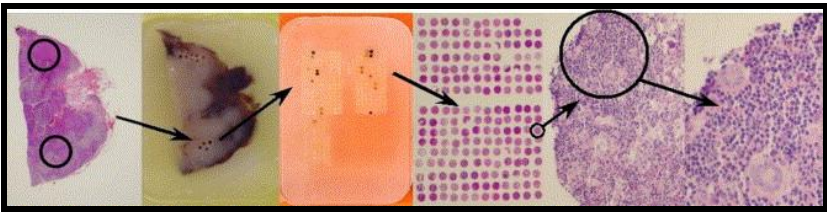
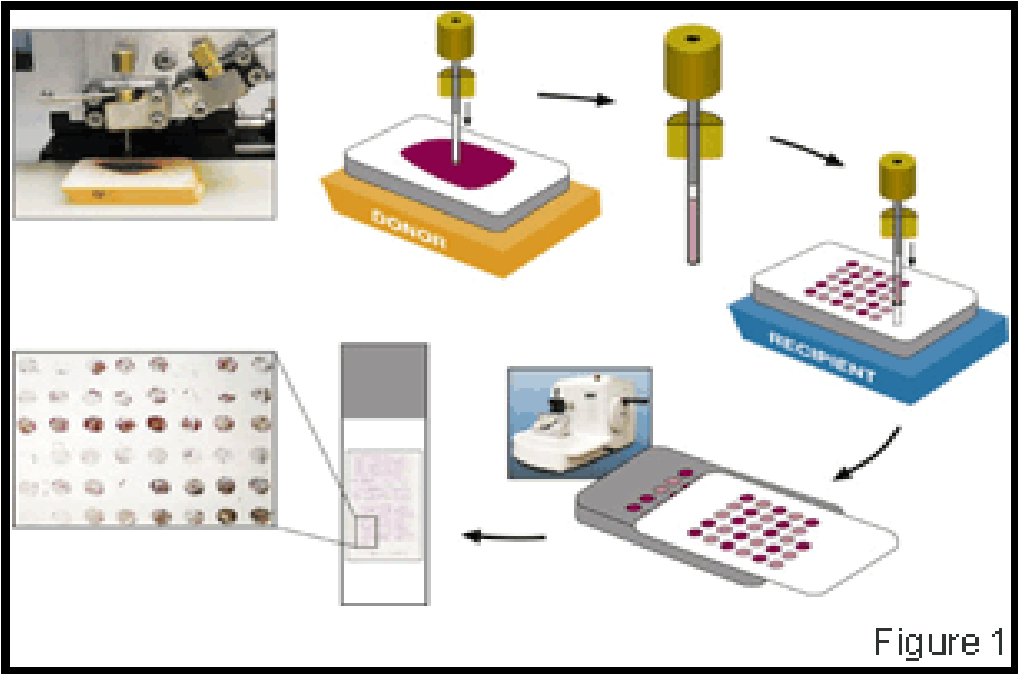
FIBROSIS PERITUMORAL:



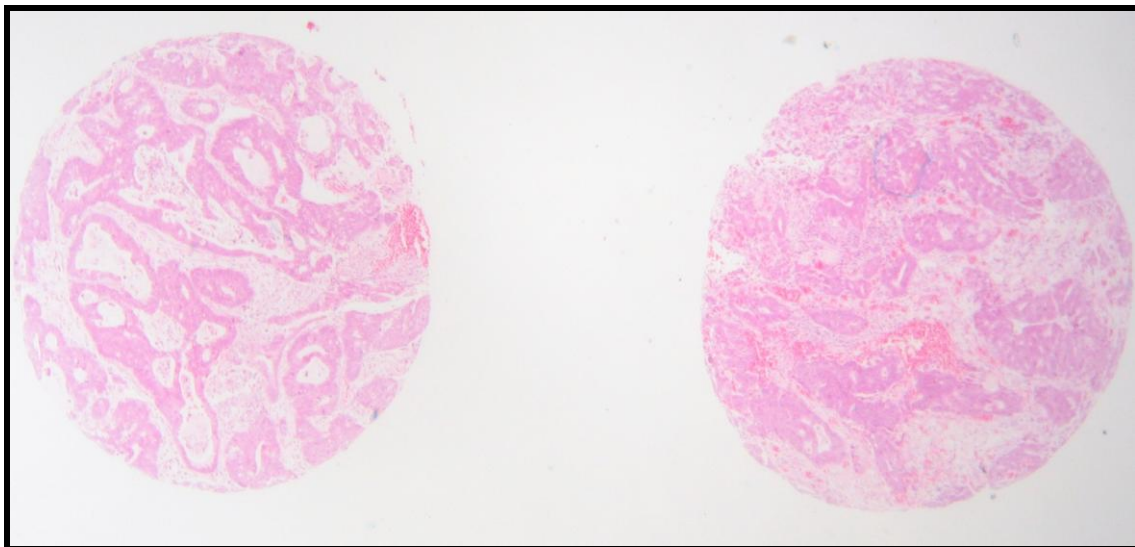
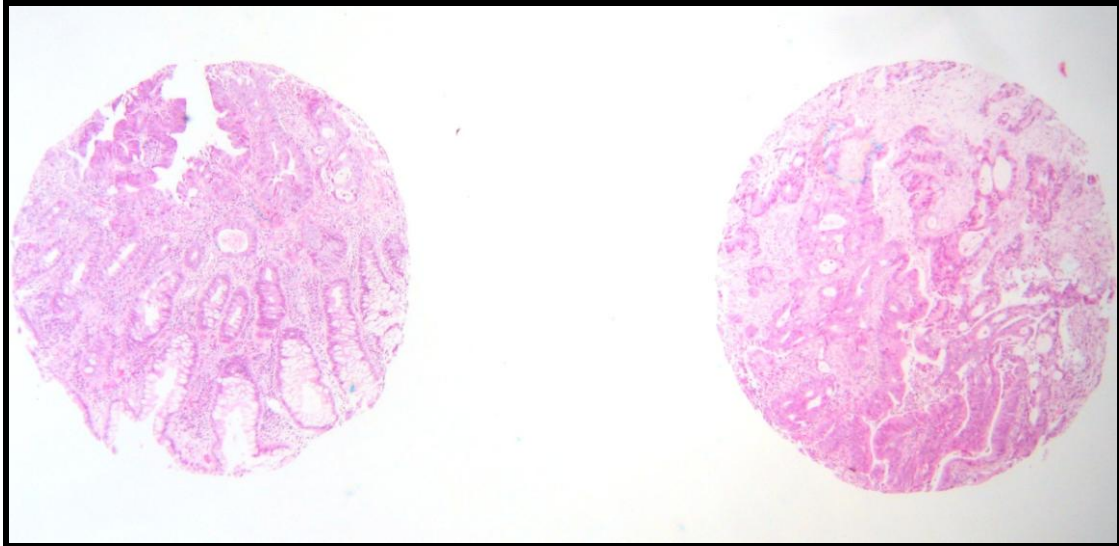
NECROSIS TUMORAL:

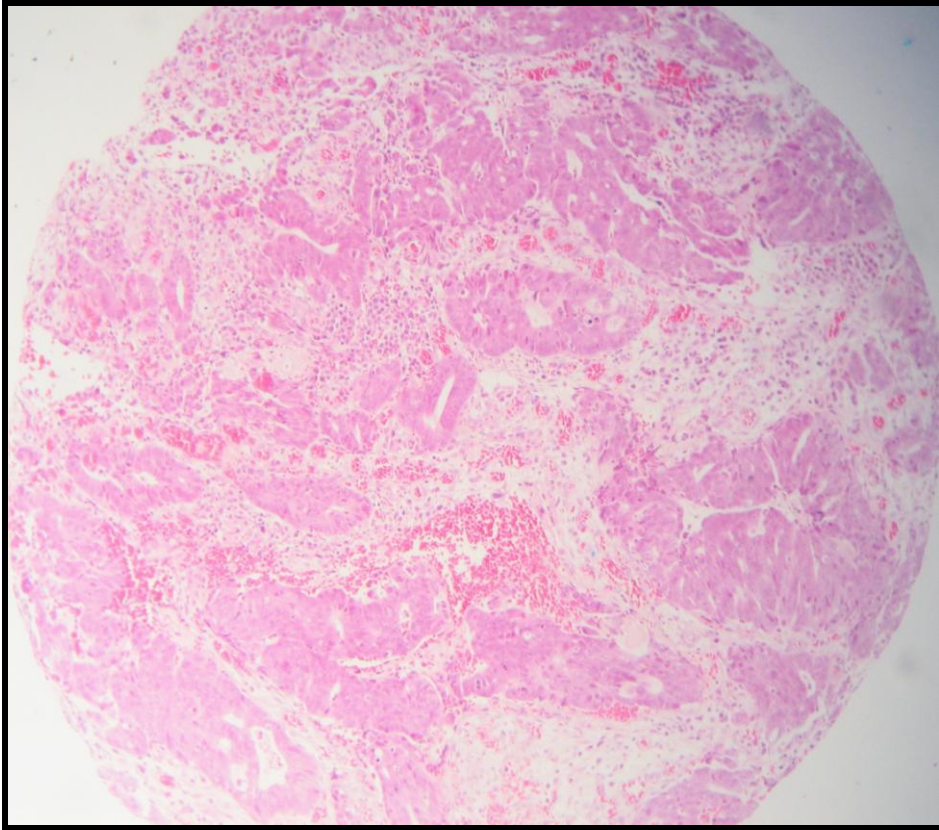


MATRICES TISULARES



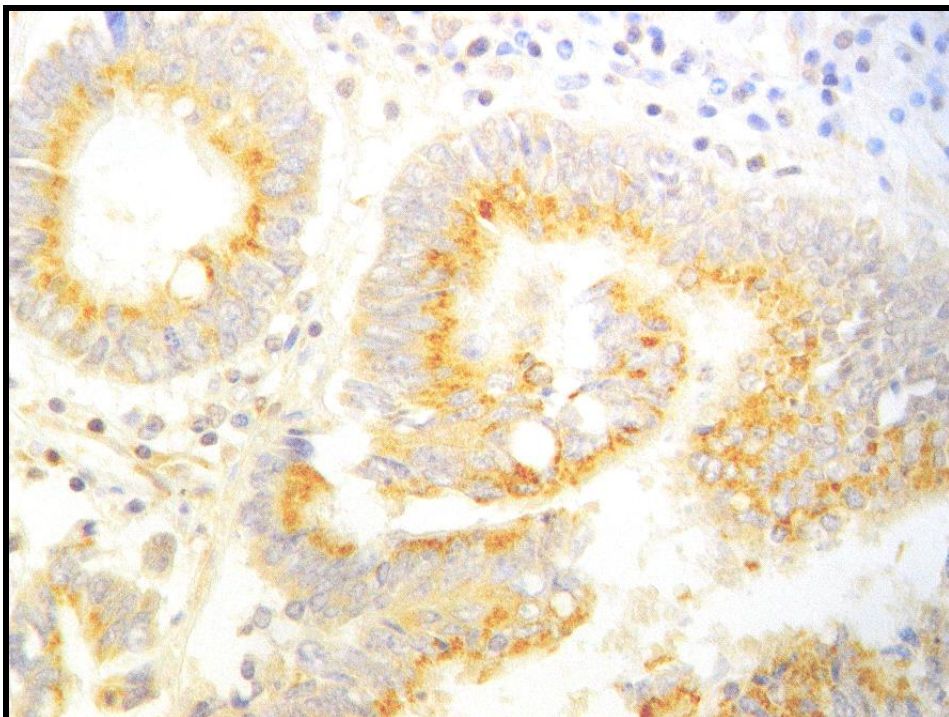
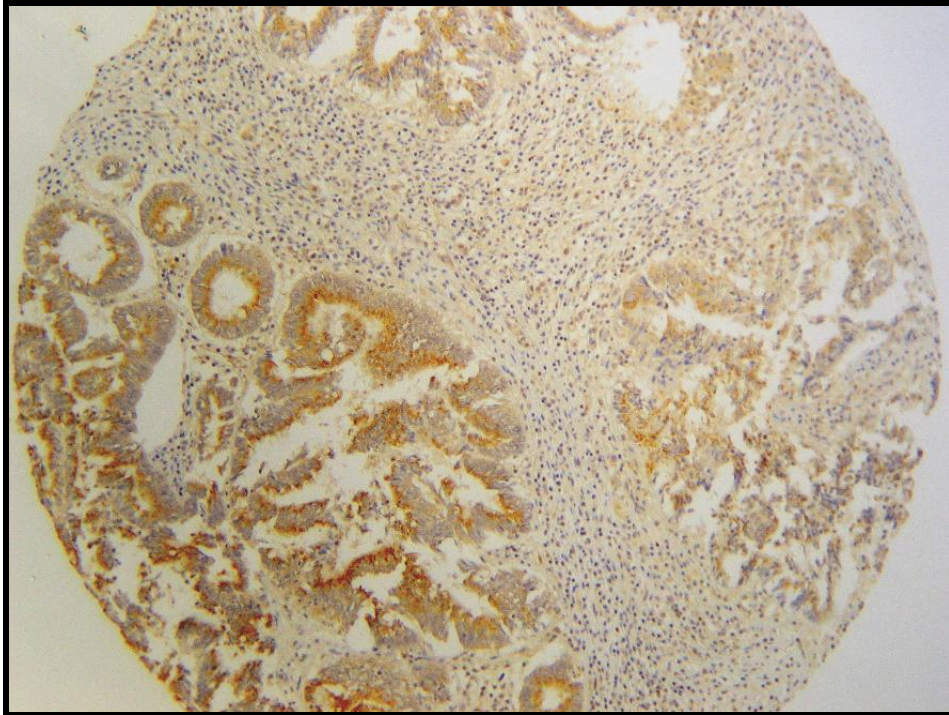
**ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO CON TINCIÓN
HEMATOXILINA EOSINA Y TÉCNICA DE LAS
MATRICES TISULARES:**



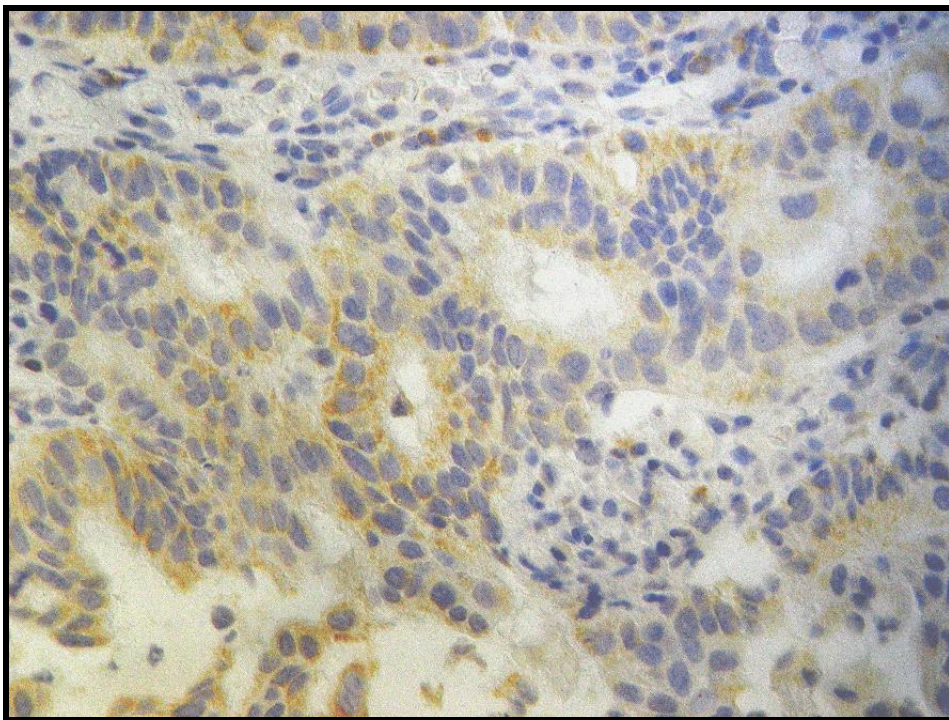
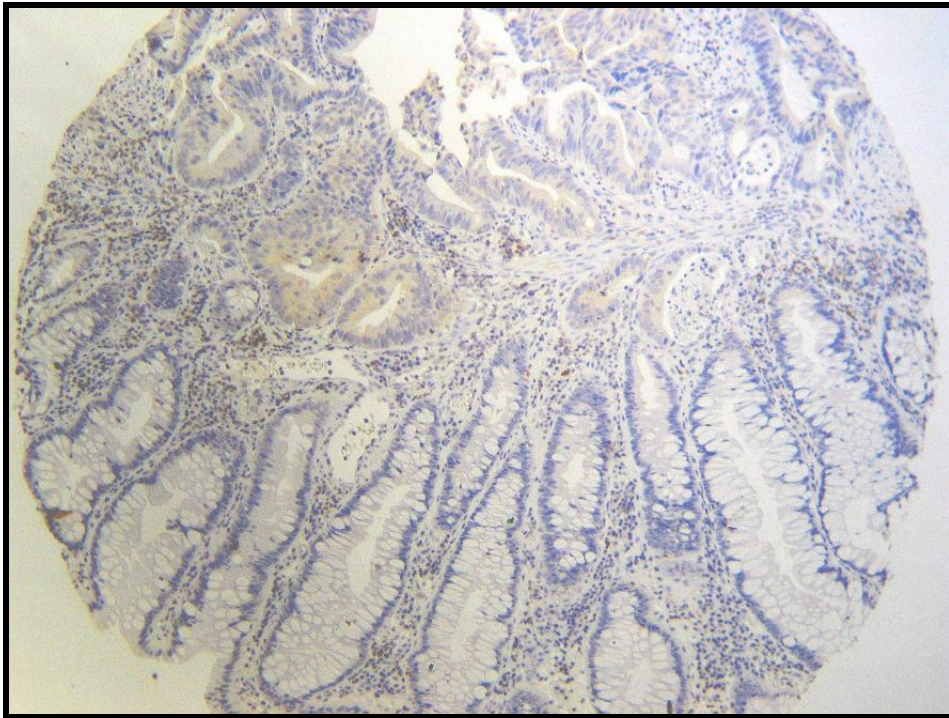


**ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO CON MATRICES
TISULARES:**

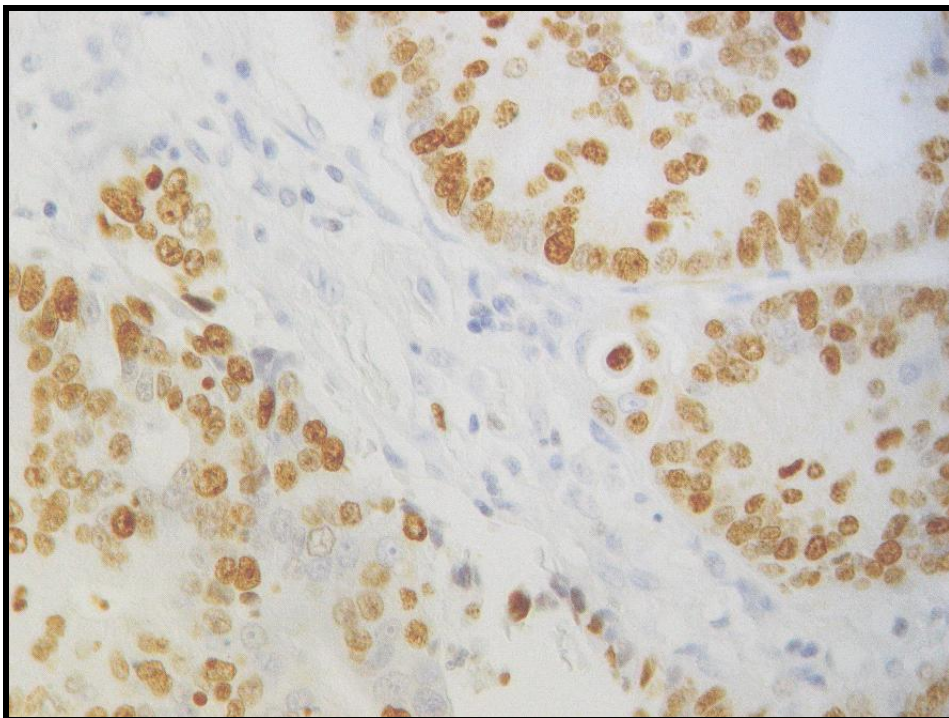
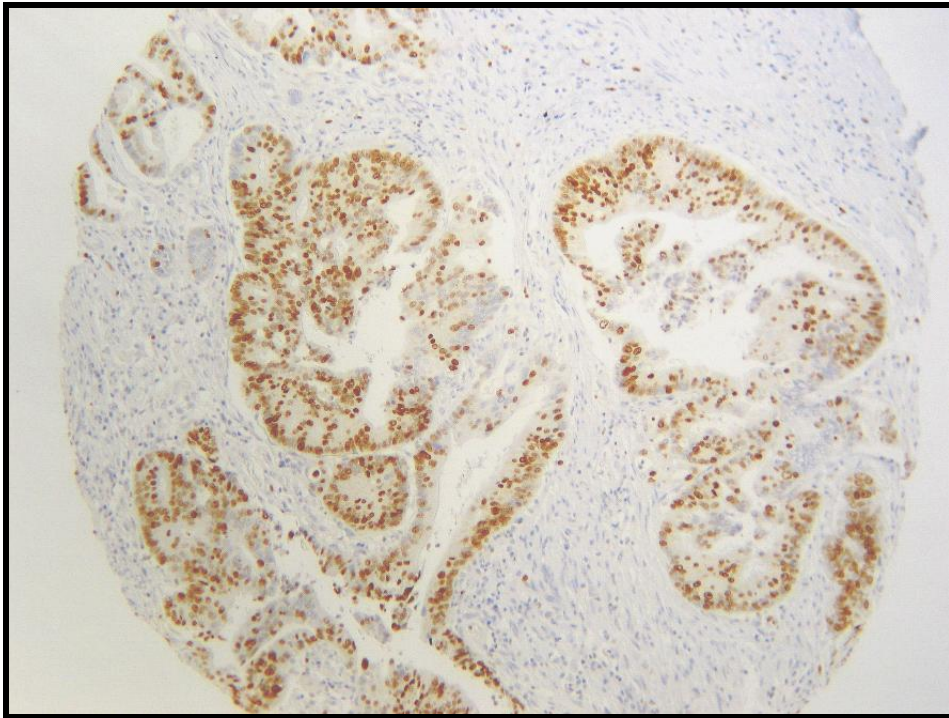
BAX:



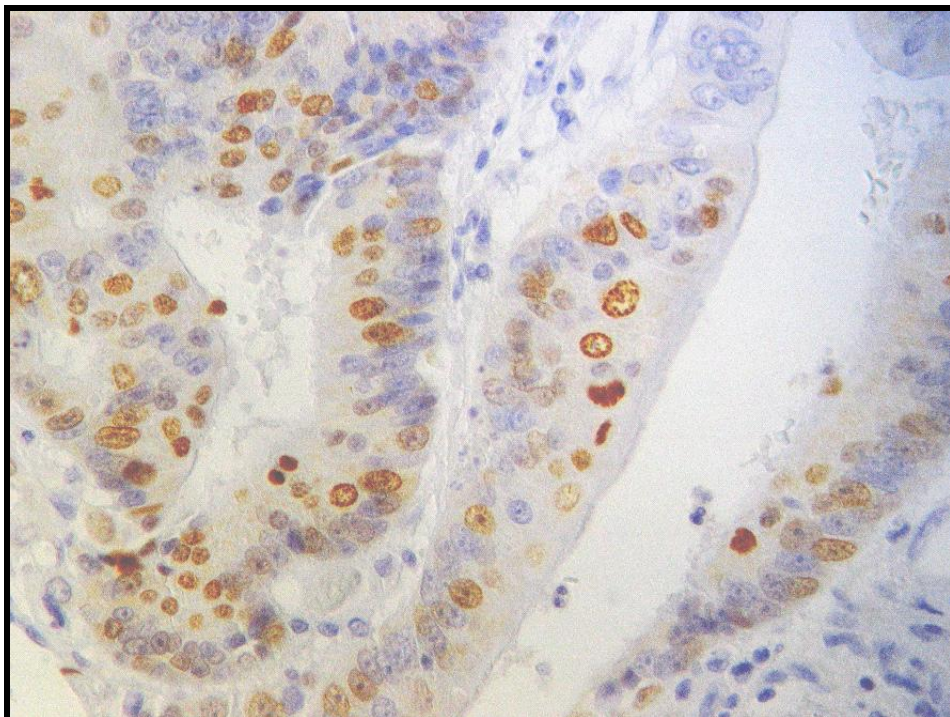
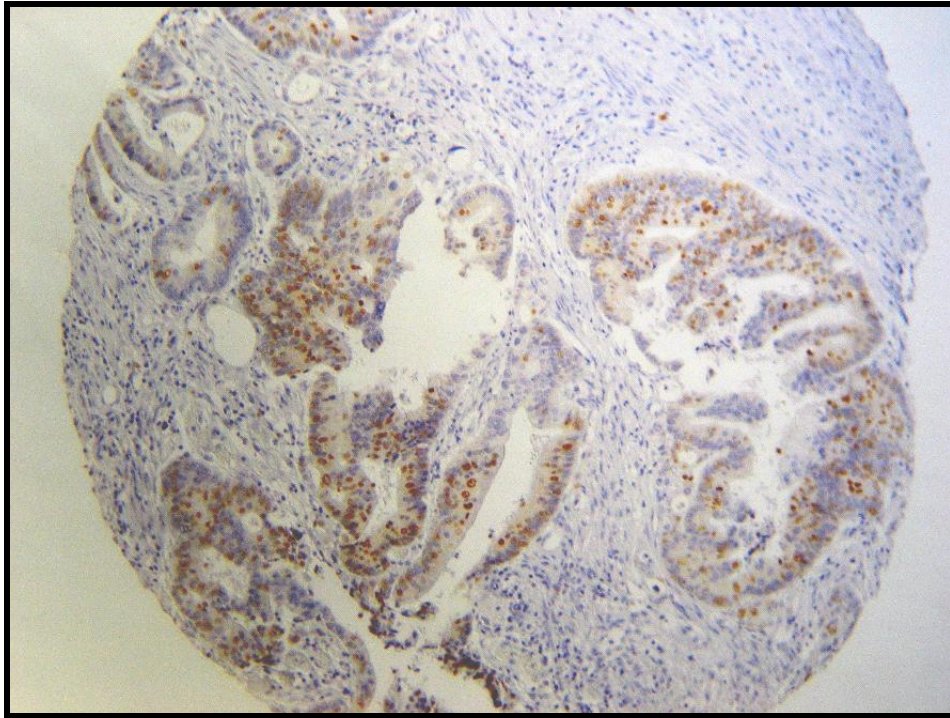
BCL-2



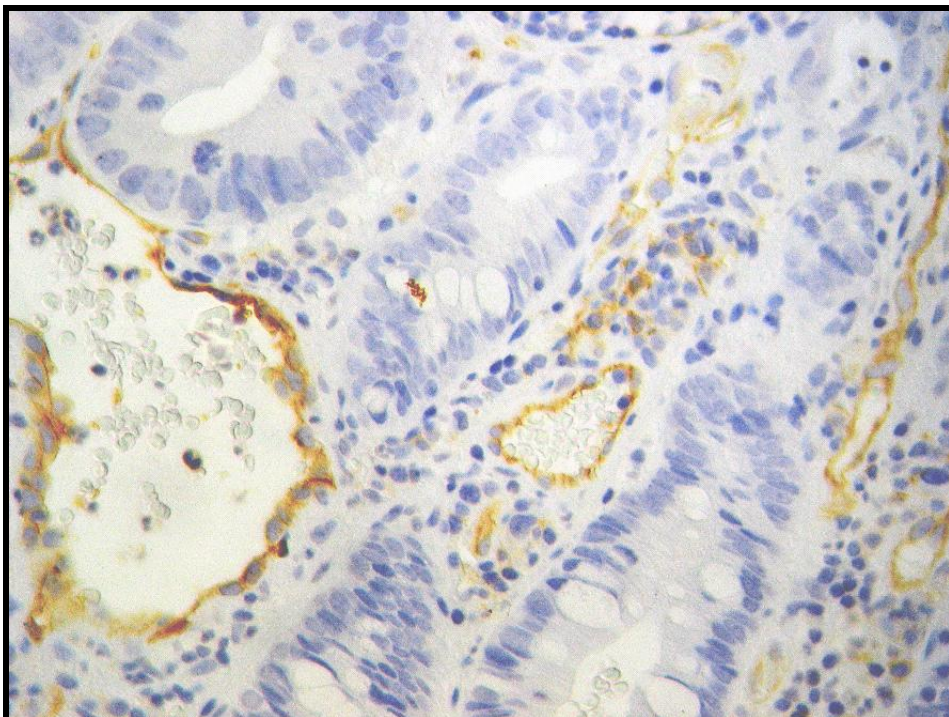
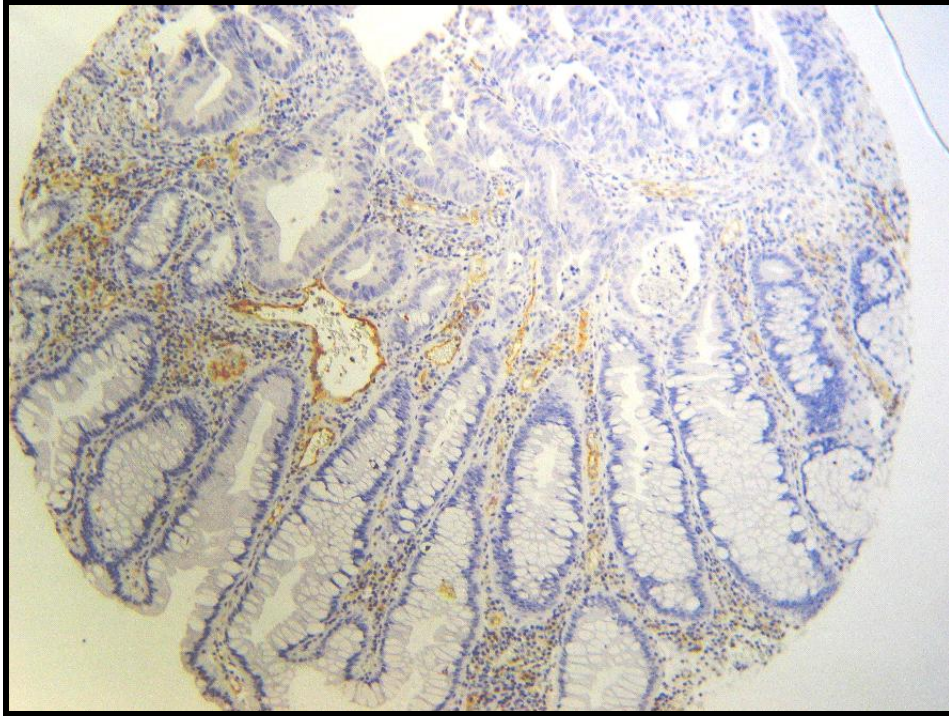
KI 67:



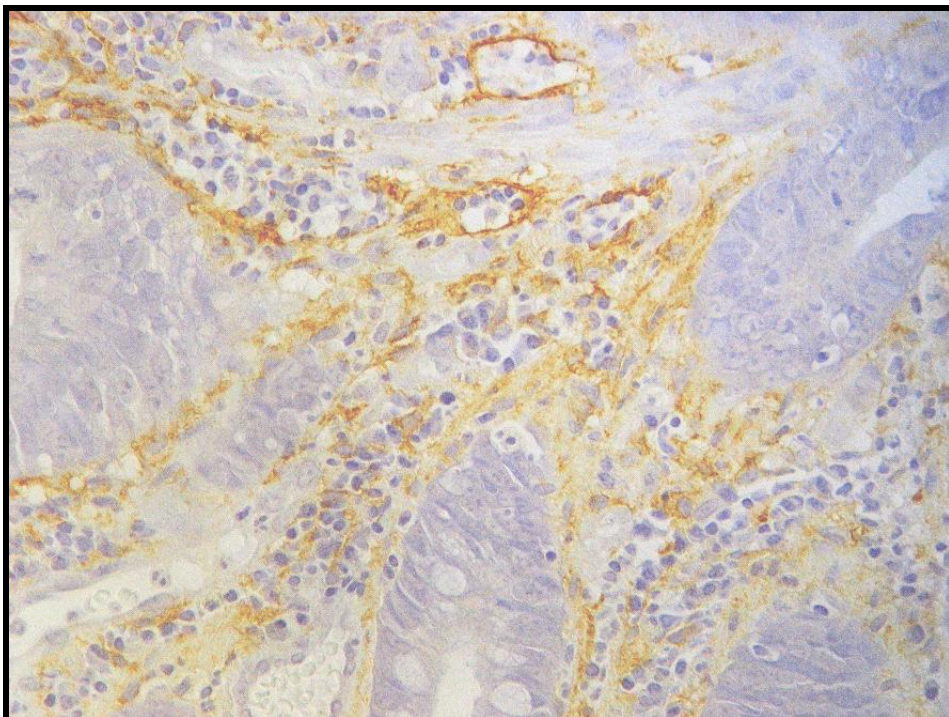
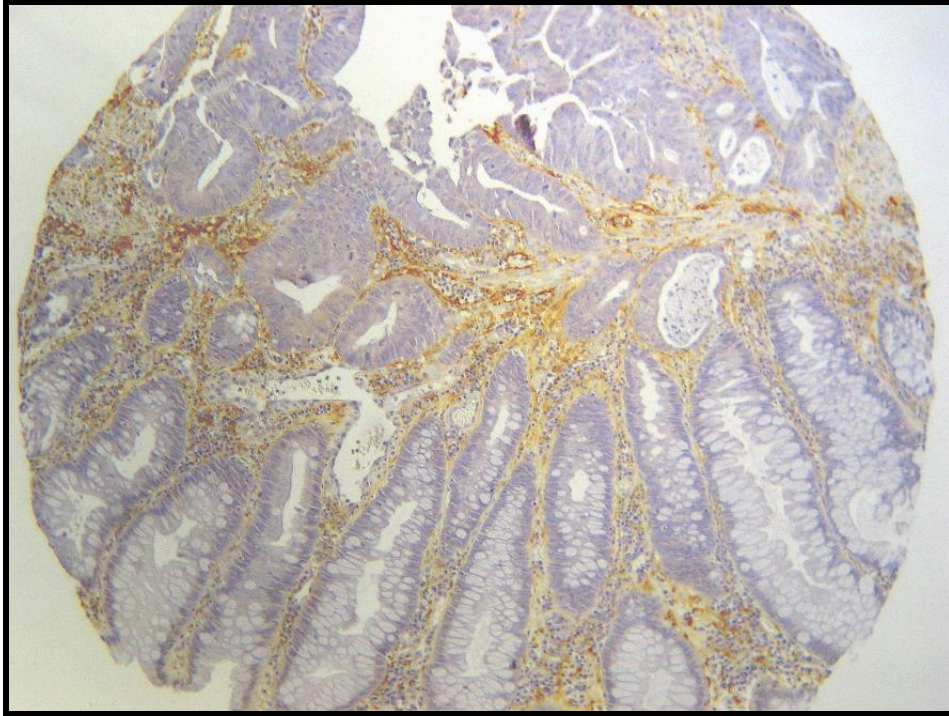
TOPOISOMERASA 2 α :



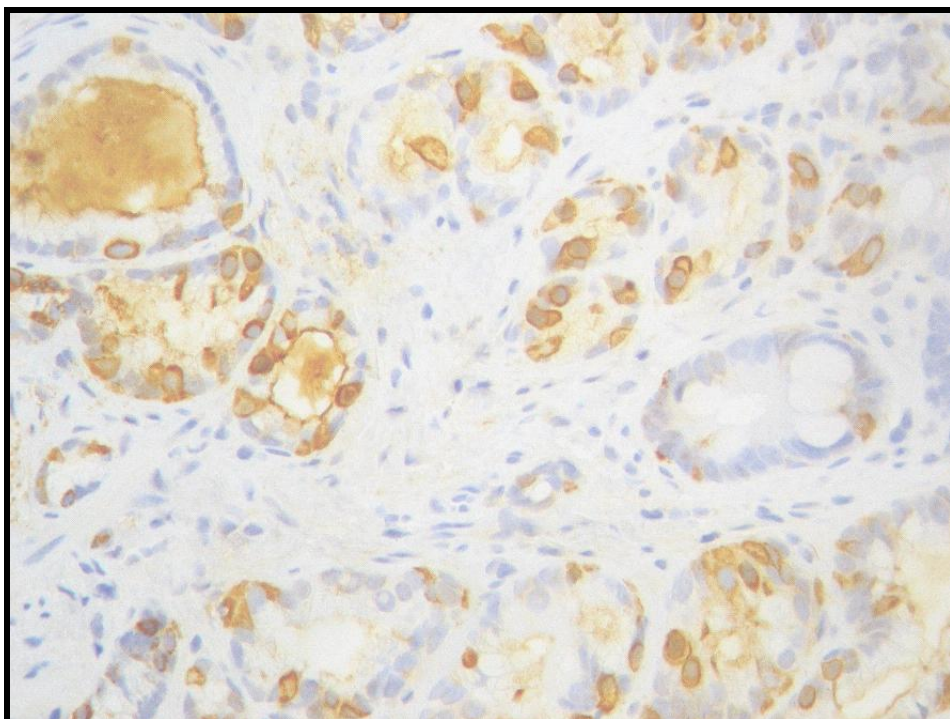
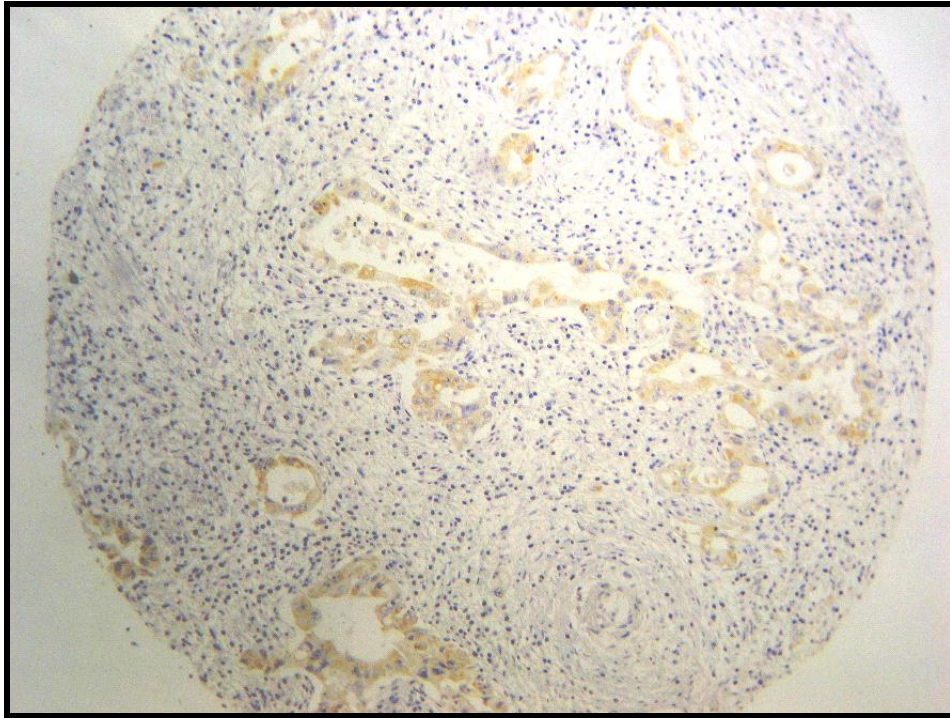
CD31:



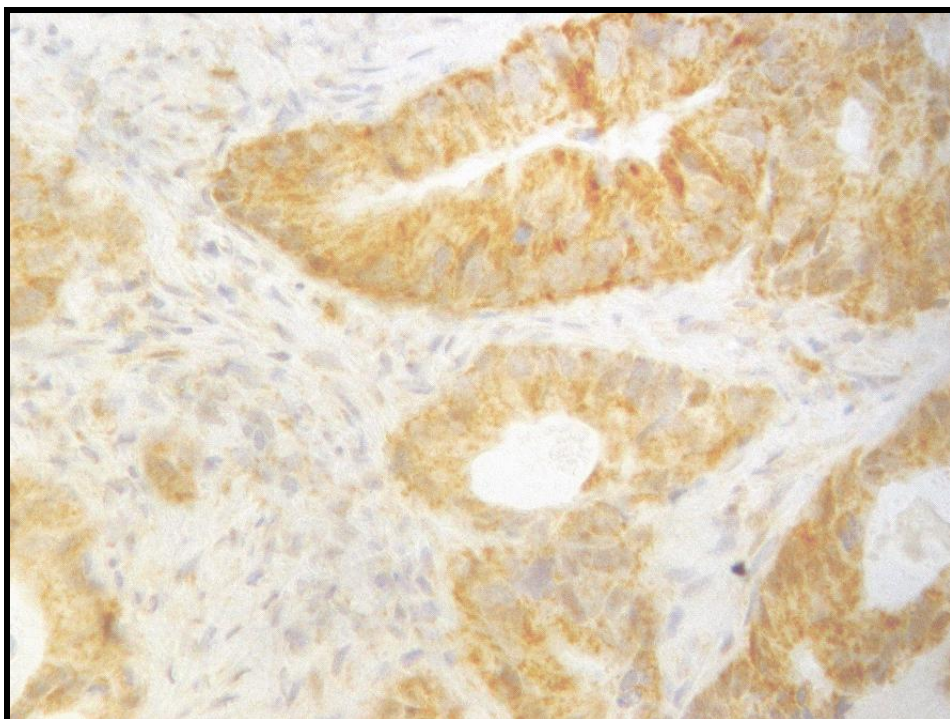
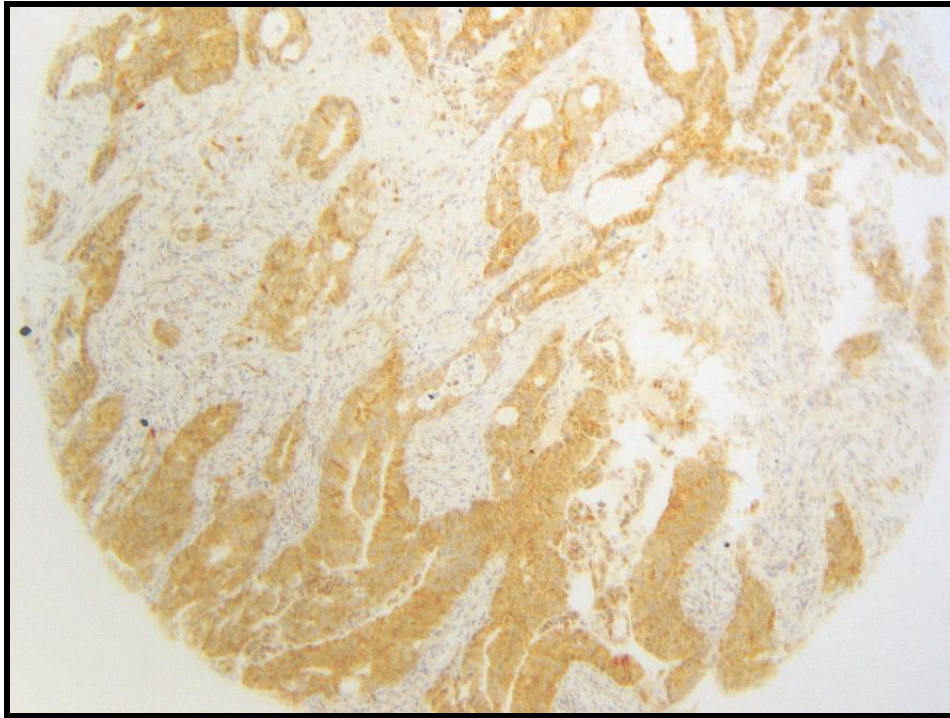
D2-40:



CROMOGRANINA:



TIMIDILATO SINTETASA:



8. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Hamilton S.R, Kudo S., Riboli E., Nakamura S., Hainaut P., Rubio C.A., Sobin L.H., Fogt F., Winawer S.J., Goldgar D.E., Jass J.R., *Carcinoma of the colon and rectum*, in *Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System*. M. Stanley R. Hamilton and M. Lauri A. Aaltonen, Ph.D., Editors. 2000, International Agency for research on cancer (IARC) Lyon. p. 105-119.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Cancer Incidence, mortality and prevalence in the European Union. Lyon: IARC Press; 1999.
3. Parkin DM, Whelan S:L, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer incidence in five continents, vol. VIII. Lyon: International Agency for research on Cancer; 2002. IARC Scient. Publ. No. 5
4. Faivre J, Bouvier AM, Bonithon-Kopp C. Epidemiology and screening of colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(2):187-99.
5. IARC. 2002 [cited; Available from: <http://www-dep.iarcfr/globocan> 2002
6. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol*. 2007;18(3):581-92.
7. *Registro de cáncer de Navarra. Incidencia y mortalidad por cáncer en Navarra. 1993-1997, Tendencias en los últimos 25 años*. 2001, ANALES Sis Navarra. p. 339-362.
8. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology and Ene Results: colon and rectum cancer.
[http:// seer.cancer.gov/faststats/html/inc_colorectal.html](http://seer.cancer.gov/faststats/html/inc_colorectal.html).
9. Doll R, Muir C, Waterhouse I et al. Cancer incidence in five continents. Geneva: UICC, 1970.
10. Waterhouse I, Muir C, Correa P et al. Cancer Incidence in five continents. Lyon: IARC Scientific publications nr 15, 1976.
11. Waterhouse I, Muir C, Shanmugartnam K et al. Cancer incidence in five continents. Lyon:IARC Scientific publications nr 42, 1982
12. Muir C, Waterhouse I, Mack T et al. Cancer incidence in five continents. Lyon: IARC Scicentific publications nr 88, 1987
13. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL et al. Cancer incidence in five continents. Lyon: IARC Scientific publications nr 120, 1992

14. Coleman MP, Esteve j, Daniecki P et al. Cancer incidence in five continents. Lyon: IARC Scientific publications nr 121, 1993
15. ENCR. European Network of cancer Registries. Eurocim version 4.0. European incidence database V2.2 (1999).Lyon; 2001.
16. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2000: Cancer incidence, mortality and Prevalence Worldwide, version 1.0. IARC CancerBase No.5, Lyon, IARC Press, 2001. Limited version available from: URL: <http://www-dep.iarc.fr/globocan/globocan.htm>.
17. Ferlay J, Bray F, Sankila R, Parkin DM. EUCAN: Cancer incidence, Mortality and Prevalence in the European Union 1997, version 4.0. IARC Cancer Base No. 4. Lyon: IARC Press, 1999. Limited version available from: URL: <http://www-dep.iarc.fr/eucan/eucan.htm>. Last update on 17/01/2002.
18. Martinez Beneito M.A. LQA, Amador Isola A. Tumores malignos de colon y recto. In: Estadísticos DGdSPAdEEEy, editor. Atlas de mortalidad de la Comunidad Valenciana
19. Berrino F, Capocaccia R, Coleman MP, et al. Survival of cancer patients in Europe: the EUROCORE-3 Study. Ann Oncol 2003.
20. Sant M, Aareleid T, Berrino F, Bielska Lasota M, Carli PM, Faivre J, et al. EUROCORE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94--results and commentary. Ann Oncol. 2003;14 Suppl 5:v61-118.
21. Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EUROCORE-4 study. Lancet Oncol. 2007;8(9):773-83.
22. Coleman MP, Gatta G, Verdecchia A, Esteve J, Sant M, Storm H, et al. EUROCORE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. Ann Oncol. 2003;14 Suppl 5:v128-49.
23. Gatta G, Ciccolallo L, Capocaccia R, Coleman MP, Hakulinen T, Moller H, et al. Differences in colorectal cancer survival between European and US populations: the importance of sub-site and morphology. Eur J Cancer. 2003;39(15):2214-22.
24. Stewart BW, Kleihues P, International Agency for Research on Cancer. World cancer report. Lyon: IARC Press; 2003.
25. Hill AB. The Environment and Disease: Association or Causation? Proc R Soc Med. 1965;58:295-300.
26. Evans AS. Causation and disease: a chronological journey. The Thomas Parran Lecture. Am J Epidemiol. 1978;108(4):249-58.

27. KJ. R. Epidemiologia moderna. S.A EDS, editor. Madrid; 1987.
28. Boutron MC, Faivre J, Quipourt V, Senesse P, Michiels C. Family history of colorectal tumours and implications for the adenoma-carcinoma sequence: a case control study. *Gut*. 1995;37(6):830-4.
29. Negri E. BC, C. LaVechia, et al. Family history of cancer and risk of colorectal cancer in Italy. *British Journal of Cancer*. 1999;77:174-9.
30. Sandhu S. LRKK. Prevalence of family history and risk of prevalent colorectal cancer: implication for screening. *Journal of Medical Screening*. 2001;8:69-72.
31. St John DJ, McDermott FT, Hopper JL, Debney EA, Johnson WR, Hughes ES. Cancer risk in relatives of patients with common colorectal cancer. *Ann Intern Med*. 1993;118(10):785-90.
32. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1994;331(25):1669-74.
33. Le Marchand L, Zhao LP, Quiaoit F, Wilkens LR, Kolonel LN. Family history and risk of colorectal cancer in the multiethnic population of Hawaii. *Am J Epidemiol*. 1996;144(12):1122-8.
34. Matzakos T. LS, Ahnen SJ., Epidemiological and risk factors for colorectal cancer.; 2002 [updated 2002; cited]; Available from: <http://www.uptodate.com>.
35. Cohen AM. MB, Schilsky RL., . Cáncer de colon. *Cancer Principles and Practice of Oncology*. 4^a ed. Philadelphia: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA.; 1993.
36. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med*. 1994;331(25):1694-702.
37. Prevention NCICC.
38. Pignone MP RM, Teatsch S, Berg A, Lohr, K. Screening for colorectal cancer in Adults. Agency for Healthcare And Quality Systematic Evidence Review Pub n^a 02-50003.
39. Singh PN, Fraser GE. Dietary risk factors for colon cancer in a low-risk population. *Am J Epidemiol*. 1998;148(8):761-74.
40. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, et al. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med*. 1999;340(3):169-76.
41. Sturmer T, Glynn RJ, Lee IM, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. Aspirin use and colorectal cancer: post-trial follow-up data from the Physicians' Health Study. *Ann Intern Med*. 1998;128(9):713-20.

42. National Cancer Institute. Aspirin may reduce risk of colon polyps.; 2002 [cited. Available from: <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/results/aspirin0402>.
43. Bostick RM, Potter JD, McKenzie DR, Sellers TA, Kushi LH, Steinmetz KA, et al. Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Res.* 1993;53(18):4230-7.
44. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, et al. Calcium supplements and colorectal adenomas. Polyp Prevention Study Group. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;889:138-45.
45. Marotomi M GJ, LoGerfo P, Weinstein IB, . Production of diacylglycerol, an activator of protein Kinase C, by human intestinal microflora. . *Cancer es.* 1990;50:3595-9.
46. Augustsson K, Skog K, Jagerstad M, Dickman PW, Steineck G. Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet.* 1999;353(9154):703-7.
47. Forman D. Meat and cancer: a relation in search of a mechanism. *Lancet.* 1999;353(9154):686-7.
48. Lacoles L. Fiber and colon cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1988;7:747-60.
49. Howe GR, Benito E, Castelleto R, Cornee J, Esteve J, Gallagher RP, et al. Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J Natl Cancer Inst.* 1992;84(24):1887-96.
50. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Fuchs C, Rosner BA, et al. Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the Nurses' Health Study. *Ann Intern Med.* 1998;129(7):517-24.
51. Wargovich MJ, Eng VW, Newmark HL, Bruce WR. Calcium ameliorates the toxic effect of deoxycholic acid on colonic epithelium. *Carcinogenesis.* 1983;4(9):1205-7.
52. Earnest DL HL, Fenerty MB. Inhibition of prostaglandin synthesis: potential for chemoprevention of human colon cancer. *Cancer Bull.* 1991;43:561-8.
53. Earnest DL, Hixson LJ, Alberts DS. Piroxicam and other cyclooxygenase inhibitors: potential for cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl.* 1992;16I:156-66.
54. Kune GA, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: a review of the scientific evidence from 1957 to 1991. *Nutr Cancer.* 1992;18(2):97-111.

55. Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY, Larkin GN, Rogge JD, Ransohoff DF. Results of screening colonoscopy among persons 40 to 49 years of age. *N Engl J Med.* 2002;346(23):1781-5.
56. Giovannucci E, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter D, Rosner BA, Willett WC, et al. A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in U.S. women. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(3):192-9.
57. Giovannucci E, Martinez ME. Tobacco, colorectal cancer, and adenomas: a review of the evidence. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(23):1717-30.
58. Xu Z, Su DL. *Schistosoma japonicum* and colorectal cancer: an epidemiological study in the People's Republic of China. *Int J Cancer.* 1984;34(3):315-8.
59. Boice JD, Jr., Engholm G, Kleinerman RA, Blettner M, Stovall M, Lisco H, et al. Radiation dose and second cancer risk in patients treated for cancer of the cervix. *Radiat Res.* 1988;116(1):3-55.
60. Cali RL, Pitsch RM, Thorson AG, Watson P, Tapia P, Blatchford GJ, et al. Cumulative incidence of metachronous colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1993;36(4):388-93.
61. Mandel JS, Church TR, Ederer F, Bond JH. Colorectal cancer mortality: effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(5):434-7.
62. Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, et al. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. *Gastroenterology.* 2003;124(2):544-60.
63. Lurie JD, Welch HG. Diagnostic testing following fecal occult blood screening in the elderly. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(19):1641-6.
64. Recommendations on cancer screening in the European union. Advisory Committee on Cancer Prevention. *Eur J Cancer.* 2000;36(12):1473-8.
65. Choi PM, Nugent FW, Schoetz DJ, Jr., Silverman ML, Haggitt RC. Colonoscopic surveillance reduces mortality from colorectal cancer in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 1993;105(2):418-24.
66. Heiskanen I, Kellokumpu I, Jarvinen H. Management of duodenal adenomas in 98 patients with familial adenomatous polyposis. *Endoscopy.* 1999;31(6):412-16.
67. Heiskanen I, Luostarinen T, Jarvinen HJ. Impact of screening examinations on survival in familial adenomatous polyposis. *Scand J Gastroenterol.* 2000;35(12):1284-7.

68. Moertel CG, O'Fallon JR, Go VL, O'Connell MJ, Thynne GS. The preoperative carcinoembryonic antigen test in the diagnosis, staging, and prognosis of colorectal cancer. *Cancer*. 1986;58(3):603-10.
69. Fletcher RH. Carcinoembryonic antigen. *Ann Intern Med*. 1986;104(1):66-73.
70. Zamcheck N, Doos WG, Prudente R, Lurie BB, Gottlieb LS. Prognostic factors in colon carcinoma: correlation of serum carcinoembryonic antigen level and tumor histopathology. *Hum Pathol*. 1975;6(1):31-45.
71. Bresalier RS, Boland CR, Kim YS. Characteristics of colorectal carcinoma cells with high metastatic potential. *Gastroenterology*. 1984;87(1):115-22.
72. Zampino MG, Labianca R, Beretta G, Gatta G, Lorrizo K, Braud Fd F, et al. Rectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;51(2):121-43.
73. Raskin HF, Pleticka S. The Cytologic Diagnosis of Cancer of the Colon. *Acta Cytol*. 1964;8:131-40.
74. Ehya H, O'Hara BJ. Brush cytology in the diagnosis of colonic neoplasms. *Cancer*. 1990;66(7):1563-7.
75. Winawer SJ, Leidner SD, Hajdu SI, Sherlock P. Colonoscopic biopsy and cytology in the diagnosis of colon cancer. *Cancer*. 1978;42(6):2849-53.
76. Shapiro S. Goals of screening. *Cancer*. 1992;70(5 Suppl):1252-8.
77. Pahlman L, Glimelius B. Pre- or postoperative radiotherapy in rectal and rectosigmoid carcinoma. Report from a randomized multicenter trial. *Ann Surg*. 1990;211(2):187-95.
78. Frykholm GJ, Glimelius B, Pahlman L. Preoperative or postoperative irradiation in adenocarcinoma of the rectum: final treatment results of a randomized trial and an evaluation of late secondary effects. *Dis Colon Rectum*. 1993;36(6):564-72.
79. Billingham RP. Conservative treatment of rectal cancer. Extending the indications. *Cancer*. 1992;70(5 Suppl):1355-63.
80. Hojo K, Koyama Y, Moriya Y. Lymphatic spread and its prognostic value in patients with rectal cancer. *Am J Surg*. 1982;144(3):350-4.
81. Lightdale CJ. Esophageal cancer. *American College of Gastroenterology. Am J Gastroenterol*. 1999;94(1):20-9.
82. Hildebrandt U, Feifel G. Importance of endoscopic ultrasonography staging for treatment of rectal cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 1995;5(4):843-9.
83. Vogl TJ, Pegios W, Hunerbein M, Mack MG, Schlag PM, Felix R. Use and applications of MRI techniques in the diagnosis and staging of rectal lesions. *Recent Results Cancer Res*. 1998;146:35-47.

84. Norton SA, Thomas MG. Staging of rectosigmoid neoplasia with colonoscopic endoluminal ultrasonography. *Br J Surg.* 1999;86(7):942-6.
85. Akahoshi K, Kondoh A, Nagaie T, Koyanagi N, Nakanishi K, Harada N, et al. Preoperative staging of rectal cancer using a 7.5 MHz front-loading US probe. *Gastrointest Endosc.* 2000;52(4):529-34.
86. Boyce GA, Sivak MV, Jr., Lavery IC, Fazio VW, Church JM, Milsom J, et al. Endoscopic ultrasound in the pre-operative staging of rectal carcinoma. *Gastrointest Endosc.* 1992;38(4):468-71.
87. Cho E, Nakajima M, Yasuda K, Ashihara T, Kawai K. Endoscopic ultrasonography in the diagnosis of colorectal cancer invasion. *Gastrointest Endosc.* 1993;39(4):521-7.
88. Hunerbein M, Totkas S, Ghadimi BM, Schlag PM. Preoperative evaluation of colorectal neoplasms by colonoscopic miniprobe ultrasonography. *Ann Surg.* 2000;232(1):46-50.
89. Blomqvist L, Machado M, Rubio C, Gabrielsson N, Granqvist S, Goldman S, et al. Rectal tumour staging: MR imaging using pelvic phased-array and endorectal coils vs endoscopic ultrasonography. *Eur Radiol.* 2000;10(4):653-60.
90. Tseng LJ, Mo LR, Thian LT, Jao YT. Pre-operative staging of recto-sigmoid colon carcinoma by upper gastrointestinal endoscopic ultrasonography. *Hepatogastroenterology.* 1999;46(26):891-3.
91. Snady H, Merrick MA. Improving the treatment of colorectal cancer: the role of EUS. *Cancer Invest.* 1998;16(8):572-81.
92. Kuntz C, Kienle P, Buhl K, Glaser F, Herfarth C. Flexible endoscopic ultrasonography of colonic tumors: indications and results. *Endoscopy.* 1997;29(9):865-70.
93. Meyenberger C, Wildi S, Kulling D, Bertschinger P, Zala GF, Klotz HP, et al. [Tumor staging and follow-up care in rectosigmoid carcinoma: colonoscopic endosonography compared to CT, MRI and endorectal MRI]. *Schweiz Rundsch Med Prax.* 1996;85(19):622-31.
94. Hildebrandt U, Schuder G, Feifel G. Preoperative staging of rectal and colonic cancer. *Endoscopy.* 1994;26(9):810-2.
95. Botet JF, Lightdale C. Endoscopic ultrasonography of the gastrointestinal tract. *Gastroenterol Clin North Am.* 1995;24(2):385-412.
96. Kimmey MB, Martin RW, Haggitt RC, Wang KY, Franklin DW, Silverstein FE. Histologic correlates of gastrointestinal ultrasound images. *Gastroenterology.* 1989;96(2 Pt 1):433-41.

97. Kwok H, Bissett IP, Hill GL. Preoperative staging of rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2000;15(1):9-20.
98. Guinet C, Buy JN, Ghossain MA, Sezeur A, Mallet A, Bigot JM, et al. Comparison of magnetic resonance imaging and computed tomography in the preoperative staging of rectal cancer. *Arch Surg.* 1990;125(3):385-8.
99. Thaler W, Watzka S, Martin F, La Guardia G, Psenner K, Bonatti G, et al. Preoperative staging of rectal cancer by endoluminal ultrasound vs. magnetic resonance imaging. Preliminary results of a prospective, comparative study. *Dis Colon Rectum.* 1994;37(12):1189-93.
100. McNicholas MM, Joyce WP, Dolan J, Gibney RG, MacErlaine DP, Hyland J. Magnetic resonance imaging of rectal carcinoma: a prospective study. *Br J Surg.* 1994;81(6):911-4.
101. Zerhouni EA, Rutter C, Hamilton SR, Balfe DM, Megibow AJ, Francis IR, et al. CT and MR imaging in the staging of colorectal carcinoma: report of the Radiology Diagnostic Oncology Group II. *Radiology.* 1996;200(2):443-51.
102. Schnall MD, Furth EE, Rosato EF, Kressel HY. Rectal tumor stage: correlation of endorectal MR imaging and pathologic findings. *Radiology.* 1994;190(3):709-14.
103. Brown G, Richards CJ, Newcombe RG, Dallimore NS, Radcliffe AG, Carey DP, et al. Rectal carcinoma: thin-section MR imaging for staging in 28 patients. *Radiology.* 1999;211(1):215-22.
104. Dworak O. Number and size of lymph nodes and node metastases in rectal carcinomas. *Surg Endosc.* 1989;3(2):96-9.
105. Gavioli M, Bagni A, Piccagli I, Fundaro S, Natalini G. Usefulness of endorectal ultrasound after preoperative radiotherapy in rectal cancer: comparison between sonographic and histopathologic changes. *Dis Colon Rectum.* 2000;43(8):1075-83.
106. Williamson PR, Hellinger MD, Larach SW, Ferrara A. Endorectal ultrasound of T3 and T4 rectal cancers after preoperative chemoradiation. *Dis Colon Rectum.* 1996;39(1):45-9.
107. Fleshman JW, Myerson RJ, Fry RD, Kodner IJ. Accuracy of transrectal ultrasound in predicting pathologic stage of rectal cancer before and after preoperative radiation therapy. *Dis Colon Rectum.* 1992;35(9):823-9.
108. Beynon J, Mortensen NJ, Foy DM, Channer JL, Virjee J, Goddard P. Pre-operative assessment of local invasion in rectal cancer: digital examination, endoluminal sonography or computed tomography? *Br J Surg.* 1986;73(12):1015-7.

109. Napoleon B, Pujol B, Berger F, Valette PJ, Gerard JP, Souquet JC. Accuracy of endosonography in the staging of rectal cancer treated by radiotherapy. *Br J Surg.* 1991;78(7):785-8.
110. Gunderson LL, Haddock MG, Schild SE. Rectal cancer: Preoperative versus postoperative irradiation as a component of adjuvant treatment. *Semin Radiat Oncol.* 2003;13(4):419-32.
111. Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A, Michalski W, Bebenek M, Pudelko M, et al. Sphincter preservation following preoperative radiotherapy for rectal cancer: report of a randomised trial comparing short-term radiotherapy vs. conventionally fractionated radiochemotherapy. *Radiother Oncol.* 2004;72(1):15-24.
112. Bosset JF, Horiot JC, Hamers HP, Cionini L, Bartelink H, Caspers R, et al. Postoperative pelvic radiotherapy with or without elective irradiation of para-aortic nodes and liver in rectal cancer patients. A controlled clinical trial of the EORTC Radiotherapy Group. *Radiother Oncol.* 2001;61(1):7-13.
113. Gerard JP, Chapet O, Nemoz C, Hartweg J, Romestaing P, Coquard R, et al. Improved sphincter preservation in low rectal cancer with high-dose preoperative radiotherapy: the lyon R96-02 randomized trial. *J Clin Oncol.* 2004;22(12):2404-9.
114. Del Valle E, Muñoz F, De Fuenmayor M, al. e. Resultados de la cirugía con tratamiento neoadyuvante del cáncer de recto. *Cir Esp.* 2003;73:33-7.
115. Grann A, Feng C, Wong D, Saltz L, Paty PP, Guillem JG, et al. Preoperative combined modality therapy for clinically resectable uT3 rectal adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49(4):987-95.
116. Brown G, Davies S, Williams GT, Bourne MW, Newcombe RG, Radcliffe AG, et al. Effectiveness of preoperative staging in rectal cancer: digital rectal examination, endoluminal ultrasound or magnetic resonance imaging? *Br J Cancer.* 2004;91(1):23-9.
117. Fuchsjaeger MH, Maier AG, Schima W, Zebedin E, Herbst F, Mittlbock M, et al. Comparison of transrectal sonography and double-contrast MR imaging when staging rectal cancer. *AJR Am J Roentgenol.* 2003;181(2):421-7.
118. Fisher B, Wolmark N, Rockette H, Redmond C, Deutsch M, Wickerham DL, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy or radiation therapy for rectal cancer: results from NSABP protocol R-01. *J Natl Cancer Inst.* 1988;80(1):21-9.
119. Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, Wieand HS, Collins RT, Beart RW, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. *N Engl J Med.* 1991;324(11):709-15.

120. Adjuvant therapy for patients with colon and rectum cancer. Consensus Statement. 1990;8(4):1-25.
121. Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med*. 2001;345(9):638-46.
122. Hermanek P, Heald RJ. Pre-operative radiotherapy for rectal carcinoma? Has the case really been made for short course pre-operative radiotherapy if surgical standards for rectal carcinoma are optimal? *Colorectal Dis*. 2004;6(1):10-4.
123. Minsky BD, Mies C, Recht A, Rich TA, Chaffey JT. Resectable adenocarcinoma of the rectosigmoid and rectum. I. Patterns of failure and survival. *Cancer*. 1988;61(7):1408-16.
124. Berger C, de Muret A, Garaud P, Chapet S, Bourlier P, Reynaud-Bougnoux A, et al. Preoperative radiotherapy (RT) for rectal cancer: predictive factors of tumor downstaging and residual tumor cell density (RTCD): prognostic implications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1997;37(3):619-27.
125. Preoperative short-term radiation therapy in operable rectal carcinoma. A prospective randomized trial. Stockholm Rectal Cancer Study Group. *Cancer*. 1990;66(1):49-55.
126. Goldberg PA, Nicholls RJ, Porter NH, Love S, Grimsey JE. Long-term results of a randomised trial of short-course low-dose adjuvant pre-operative radiotherapy for rectal cancer: reduction in local treatment failure. *Eur J Cancer*. 1994;30A(11):1602-6.
127. Holm T, Singnomklao T, Rutqvist LE, Cedermark B. Adjuvant preoperative radiotherapy in patients with rectal carcinoma. Adverse effects during long term follow-up of two randomized trials. *Cancer*. 1996;78(5):968-76.
128. McCue JL, Sheffield JP, Phillips RK. Adjuvant radiotherapy and anastomosis in rectal cancer--disturbing evidence from animal studies. *Dis Colon Rectum*. 1995;38(2):152-8.
129. Quirke P, Durdey P, Dixon MF, Williams NS. Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection. Histopathological study of lateral tumour spread and surgical excision. *Lancet*. 1986;2(8514):996-9.
130. Kuzu MA, Koksoy C, Akyol FH, Uzal D, Kale T, Demirpence E. Effects of preoperative fractionated irradiation on left colonic anastomoses in the rat. *Dis Colon Rectum*. 1998;41(3):370-6.
131. Karanjia ND, Schache DJ, North WR, Heald RJ. 'Close shave' in anterior resection. *Br J Surg*. 1990;77(5):510-2.

132. Hurst PA, Prout WG, Kelly JM, Bannister JJ, Walker RT. Local recurrence after low anterior resection using the staple gun. *Br J Surg.* 1982;69(5):275-6.
133. Dahlberg M, Glimelius B, Pahlman L. Changing strategy for rectal cancer is associated with improved outcome. *Br J Surg.* 1999;86(3):379-84.
134. Martling AL, Holm T, Rutqvist LE, Moran BJ, Heald RJ, Cedemark B. Effect of a surgical training programme on outcome of rectal cancer in the County of Stockholm. Stockholm Colorectal Cancer Study Group, Basingstoke Bowel Cancer Research Project. *Lancet.* 2000;356(9224):93-6.
135. Wibe A, Rendedal PR, Svensson E, Norstein J, Eide TJ, Myrvold HE, et al. Prognostic significance of the circumferential resection margin following total mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg.* 2002;89(3):327-34.
136. Williams NS. The rationale for preservation of the anal sphincter in patients with low rectal cancer. *Br J Surg.* 1984;71(8):575-81.
137. Heimann TM, Szporn A, Bolnick K, Aufses AH, Jr. Local recurrence following surgical treatment of rectal cancer. Comparison of anterior and abdominoperineal resection. *Dis Colon Rectum.* 1986;29(12):862-4.
138. Wolmark N, Fisher B. An analysis of survival and treatment failure following abdominoperineal and sphincter-saving resection in Dukes' B and C rectal carcinoma. A report of the NSABP clinical trials. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *Ann Surg.* 1986;204(4):480-9.
139. Bailey HR, Huval WV, Max E, Smith KW, Butts DR, Zamora LF. Local excision of carcinoma of the rectum for cure. *Surgery.* 1992;111(5):555-61.
140. Papillon J, Berard P. Endocavitary irradiation in the conservative treatment of adenocarcinoma of the low rectum. *World J Surg.* 1992;16(3):451-7.
141. Birbeck KF, Macklin CP, Tiffin NJ, Parsons W, Dixon MF, Mapstone NP, et al. Rates of circumferential resection margin involvement vary between surgeons and predict outcomes in rectal cancer surgery. *Ann Surg.* 2002;235(4):449-57.
142. Nagtegaal ID, Marijnen CA, Kranenbarg EK, van de Velde CJ, van Krieken JH. Circumferential margin involvement is still an important predictor of local recurrence in rectal carcinoma: not one millimeter but two millimeters is the limit. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(3):350-7.
143. Adam IJ, Mohamdee MO, Martin IG, Scott N, Finan PJ, Johnston D, et al. Role of circumferential margin involvement in the local recurrence of rectal cancer. *Lancet.* 1994;344(8924):707-11.

144. Hall NR, Finan PJ, al-Jaberi T, Tsang CS, Brown SR, Dixon MF, et al. Circumferential margin involvement after mesorectal excision of rectal cancer with curative intent. Predictor of survival but not local recurrence? *Dis Colon Rectum*. 1998;41(8):979-83.
145. Nagtegaal ID, van de Velde CJ, van der Worp E, Kapiteijn E, Quirke P, van Krieken JH. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. *J Clin Oncol*. 2002;20(7):1729-34.
146. Guillem JG, Chessin DB, Cohen AM, Shia J, Mazumdar M, Enker W, et al. Long-term oncologic outcome following preoperative combined modality therapy and total mesorectal excision of locally advanced rectal cancer. *Ann Surg*. 2005;241(5):829-36; discussion 36-8.
147. Tekkis PP, Heriot AG, Smith J, Thompson MR, Finan P, Stamatakis JD. Comparison of circumferential margin involvement between restorative and nonrestorative resections for rectal cancer. *Colorectal Dis*. 2005;7(4):369-74.
148. Luna-Perez P, Bustos-Cholico E, Alvarado I, Maffuz A, Rodriguez-Ramirez S, Gutierrez de la Barrera M, et al. Prognostic significance of circumferential margin involvement in rectal adenocarcinoma treated with preoperative chemoradiotherapy and low anterior resection. *J Surg Oncol*. 2005;90(1):20-5.
149. Wibe A, Carlsen E, Dahl O, Tveit KM, Weedon-Fekjaer H, Hestvik UE, et al. Nationwide quality assurance of rectal cancer treatment. *Colorectal Dis*. 2006;8(3):224-9.
150. Ooi BS, Tjandra JJ, Green MD. Morbidities of adjuvant chemotherapy and radiotherapy for resectable rectal cancer: an overview. *Dis Colon Rectum*. 1999;42(3):403-18.
151. Marijnen CA, Glimelius B. The role of radiotherapy in rectal cancer. *Eur J Cancer*. 2002;38(7):943-52.
152. Reis ED, Vine AJ, Heimann T. Radiation damage to the rectum and anus: pathophysiology, clinical features and surgical implications. *Colorectal Dis*. 2002;4(1):2-12.
153. Marijnen CA, Kapiteijn E, van de Velde CJ, Martijn H, Steup WH, Wiggers T, et al. Acute side effects and complications after short-term preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision in primary rectal cancer: report of a multicenter randomized trial. *J Clin Oncol*. 2002;20(3):817-25.
154. Bosset JF, Manton G, Lorchel F, Magnin V, Pelissier EP, Gerard JP, et al. Adjuvant and neoadjuvant radiation therapy for rectal cancer. *Semin Oncol*. 2000;27(5 Suppl 10):60-5.

155. Kollmorgen CF, Meagher AP, Wolff BG, Pemberton JH, Martenson JA, Illstrup DM. The long-term effect of adjuvant postoperative chemoradiotherapy for rectal carcinoma on bowel function. *Ann Surg.* 1994;220(5):676-82.
156. Nathanson DR, Espat NJ, Nash GM, D'Alessio M, Thaler H, Minsky BD, et al. Evaluation of preoperative and postoperative radiotherapy on long-term functional results of straight coloanal anastomosis. *Dis Colon Rectum.* 2003;46(7):888-94.
157. Sauer R. Adjuvant and neoadjuvant radiotherapy and concurrent radiochemotherapy for rectal cancer. *Pathol Oncol Res.* 2002;8(1):7-17.
158. Glimelius B. Radiotherapy in rectal cancer. *Br Med Bull.* 2002;64:141-57.
159. Heald RJ, Moran BJ, Ryall RD, Sexton R, MacFarlane JK. Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978-1997. *Arch Surg.* 1998;133(8):894-9.
160. Bulow S, Christensen IJ, Harling H, Kronborg O, Fenger C, Nielsen HJ. Recurrence and survival after mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg.* 2003;90(8):974-80.
161. Wiggers T, van de Velde CH. Reduction "by half". The need for standardised surgical technique in studies of radiotherapy for rectal cancer. *Eur J Surg.* 1999;165(5):407-9.
162. Simunovic M, Sexton R, Rempel E, Moran BJ, Heald RJ. Optimal preoperative assessment and surgery for rectal cancer may greatly limit the need for radiotherapy. *Br J Surg.* 2003;90(8):999-1003.
163. Pullyblank AM, Monson JR. Monoclonal antibody treatment of colorectal cancer. *Br J Surg.* 1997;84(11):1511-7.
164. Riethmuller G, Schneider-Gadicke E, Schlimok G, Schmiegel W, Raab R, Hoffken K, et al. Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma. German Cancer Aid 17-1A Study Group. *Lancet.* 1994;343(8907):1177-83.
165. Stocchi L, Nelson H. Diagnostic and therapeutic applications of monoclonal antibodies in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1998;41(2):232-50.
166. Compton CC, Greene FL. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA Cancer J Clin.* 2004;54(6):295-308.
167. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(8):583-96.

168. Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, Bland KI. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*. 2003;10(1):65-71.
169. Russell AH, Harris J, Rosenberg PJ, Sause WT, Fisher BJ, Hoffman JP, et al. Anal sphincter conservation for patients with adenocarcinoma of the distal rectum: long-term results of radiation therapy oncology group protocol 89-02. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;46(2):313-22.
170. Sitzler PJ, Seow-Choen F, Ho YH, Leong AP. Lymph node involvement and tumor depth in rectal cancers: an analysis of 805 patients. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(12):1472-6.
171. Willett CG, Compton CC, Shellito PC, Efird JT. Selection factors for local excision or abdominoperineal resection of early stage rectal cancer. *Cancer*. 1994;73(11):2716-20.
172. Kodner IJ, Gilley MT, Shemesh EI, Fleshman JW, Fry RD, Myerson RJ. Radiation therapy as definitive treatment for selected invasive rectal cancer. *Surgery*. 1993;114(4):850-6; discussion 6-7.
173. Thomas PR, Lindblad AS. Adjuvant postoperative radiotherapy and chemotherapy in rectal carcinoma: a review of the Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Radiother Oncol*. 1988;13(4):245-52.
174. Moertel CG. Chemotherapy for colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1994;330(16):1136-42.
175. Smalley SR, Benedetti JK, Williamson SK, Robertson JM, Estes NC, Maher T, et al. Phase III trial of fluorouracil-based chemotherapy regimens plus radiotherapy in postoperative adjuvant rectal cancer: GI INT 0144. *J Clin Oncol*. 2006;24(22):3542-7.
176. Minsky BD, Coia L, Haller DG, Hoffman J, John M, Landry J, et al. Radiation therapy for rectosigmoid and rectal cancer: results of the 1992-1994 Patterns of Care process survey. *J Clin Oncol*. 1998;16(7):2542-7.
177. Tepper JE, O'Connell MJ, Petroni GR, Hollis D, Cooke E, Benson AB, 3rd, et al. Adjuvant postoperative fluorouracil-modulated chemotherapy combined with pelvic radiation therapy for rectal cancer: initial results of intergroup 0114. *J Clin Oncol*. 1997;15(5):2030-9.
178. Rougier P, Nordlinger B. Large scale trial for adjuvant treatment in high risk resected colorectal cancers. Rationale to test the combination of loco-regional and systemic chemotherapy and to compare l-leucovorin + 5-FU to levamisole + 5-FU. *Ann Oncol*. 1993;4 Suppl 2:21-8.

8. BIBLIOGRAFÍA

179. Mohiuddin M, Regine WF, Marks GJ, Marks JW. High-dose preoperative radiation and the challenge of sphincter-preservation surgery for cancer of the distal 2 cm of the rectum. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998;40(3):569-74.
180. Valentini V, Coco C, Cellini N, Picciocchi A, Genovesi D, Mantini G, et al. Preoperative chemoradiation for extraperitoneal T3 rectal cancer: acute toxicity, tumor response, and sphincter preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998;40(5):1067-75.
181. Gunderson LL, Nelson H, Martenson JA, Cha S, Haddock MG, Devine RM, et al. Locally advanced primary colorectal cancer: IOERT and EBRT +/-5-FU. *Front Radiat Ther Oncol.* 1997;31:204-8.
182. Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A. Hepatic metastases from colorectal carcinoma: impact of surgical resection on the natural history. *Br J Surg.* 1990;77(11):1241-6.
183. Steele G, Jr., Bleday R, Mayer RJ, Lindblad A, Petrelli N, Weaver D. A prospective evaluation of hepatic resection for colorectal carcinoma metastases to the liver: Gastrointestinal Tumor Study Group Protocol 6584. *J Clin Oncol.* 1991;9(7):1105-12.
184. Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Gall FP. Indicators of prognosis after hepatic resection for colorectal secondaries. *Surgery.* 1991;110(1):13-29.
185. Pedersen IK, Burcharth F, Roikjaer O, Baden H. Resection of liver metastases from colorectal cancer. Indications and results. *Dis Colon Rectum.* 1994;37(11):1078-82.
186. Harmon KE, Ryan JA, Jr., Biehl TR, Lee FT. Benefits and safety of hepatic resection for colorectal metastases. *Am J Surg.* 1999;177(5):402-4.
187. Fong Y, Cohen AM, Fortner JG, Enker WE, Turnbull AD, Coit DG, et al. Liver resection for colorectal metastases. *J Clin Oncol.* 1997;15(3):938-46.
188. Headrick JR, Miller DL, Nagorney DM, Allen MS, Deschamps C, Trastek VF, et al. Surgical treatment of hepatic and pulmonary metastases from colon cancer. *Ann Thorac Surg.* 2001;71(3):975-9; discussion 9-80.
189. Thomas DS, Nauta RJ, Rodgers JE, Popescu GF, Nguyen H, Lee TC, et al. Intraoperative high-dose rate interstitial irradiation of hepatic metastases from colorectal carcinoma. Results of a phase I-II trial. *Cancer.* 1993;71(6):1977-81.
190. Ravikumar TS. Interstitial therapies for liver tumors. *Surg Oncol Clin N Am.* 1996;5(2):365-77.
191. Seifert JK, Morris DL. Prognostic factors after cryotherapy for hepatic metastases from colorectal cancer. *Ann Surg.* 1998;228(2):201-8.

192. McAfee MK, Allen MS, Trastek VF, Ilstrup DM, Deschamps C, Pairolero PC. Colorectal lung metastases: results of surgical excision. *Ann Thorac Surg.* 1992;53(5):780-5; discussion 5-6.
193. Girard P, Ducreux M, Baldeyrou P, Rougier P, Le Chevalier T, Bougaran J, et al. Surgery for lung metastases from colorectal cancer: analysis of prognostic factors. *J Clin Oncol.* 1996;14(7):2047-53.
194. Kemeny N, Huang Y, Cohen AM, Shi W, Conti JA, Brennan MF, et al. Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1999;341(27):2039-48.
195. Wagman LD, Kemeny MM, Leong L, Terz JJ, Hill LR, Beatty JD, et al. A prospective, randomized evaluation of the treatment of colorectal cancer metastatic to the liver. *J Clin Oncol.* 1990;8(11):1885-93.
196. Kemeny N, Daly J, Reichman B, Geller N, Botet J, Oderman P. Intrahepatic or systemic infusion of fluorodeoxyuridine in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. A randomized trial. *Ann Intern Med.* 1987;107(4):459-65.
197. Chang AE, Schneider PD, Sugarbaker PH, Simpson C, Culnane M, Steinberg SM. A prospective randomized trial of regional versus systemic continuous 5-fluorodeoxyuridine chemotherapy in the treatment of colorectal liver metastases. *Ann Surg.* 1987;206(6):685-93.
198. Rougier P, Laplanche A, Huguier M, Hay JM, Ollivier JM, Escat J, et al. Hepatic arterial infusion of floxuridine in patients with liver metastases from colorectal carcinoma: long-term results of a prospective randomized trial. *J Clin Oncol.* 1992;10(7):1112-8.
199. Kemeny N, Cohen A, Seiter K, Conti JA, Sigurdson ER, Tao Y, et al. Randomized trial of hepatic arterial floxuridine, mitomycin, and carmustine versus floxuridine alone in previously treated patients with liver metastases from colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1993;11(2):330-5.
200. Schmoll HJ, Buchele T, Grothey A, Dempke W. Where do we stand with 5-fluorouracil? *Semin Oncol.* 1999;26(6):589-605.
201. Grothey A, Schmoll HJ. New chemotherapy approaches in colorectal cancer. *Curr Opin Oncol.* 2001;13(4):275-86.
202. Poon MA, O'Connell MJ, Wieand HS, Krook JE, Gerstner JB, Tschetter LK, et al. Biochemical modulation of fluorouracil with leucovorin: confirmatory evidence of improved therapeutic efficacy in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1991;9(11):1967-72.

203. Valone FH, Friedman MA, Wittlinger PS, Drakes T, Eisenberg PD, Malec M, et al. Treatment of patients with advanced colorectal carcinomas with fluorouracil alone, high-dose leucovorin plus fluorouracil, or sequential methotrexate, fluorouracil, and leucovorin: a randomized trial of the Northern California Oncology Group. *J Clin Oncol.* 1989;7(10):1427-36.
204. Petrelli N, Douglass HO, Jr., Herrera L, Russell D, Stablein DM, Bruckner HW, et al. The modulation of fluorouracil with leucovorin in metastatic colorectal carcinoma: a prospective randomized phase III trial. *Gastrointestinal Tumor Study Group. J Clin Oncol.* 1989;7(10):1419-26.
205. Erlichman C, Fine S, Wong A, Elhakim T. A randomized trial of fluorouracil and folinic acid in patients with metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 1988;6(3):469-75.
206. Doroshow JH, Multhauf P, Leong L, Margolin K, Litchfield T, Akman S, et al. Prospective randomized comparison of fluorouracil versus fluorouracil and high-dose continuous infusion leucovorin calcium for the treatment of advanced measurable colorectal cancer in patients previously unexposed to chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1990;8(3):491-501.
207. Buroker TR, O'Connell MJ, Wieand HS, Krook JE, Gerstner JB, Mailliard JA, et al. Randomized comparison of two schedules of fluorouracil and leucovorin in the treatment of advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12(1):14-20.
208. Jager E, Heike M, Bernhard H, Klein O, Bernhard G, Lautz D, et al. Weekly high-dose leucovorin versus low-dose leucovorin combined with fluorouracil in advanced colorectal cancer: results of a randomized multicenter trial. *Study Group for Palliative Treatment of Metastatic Colorectal Cancer Study Protocol 1. J Clin Oncol.* 1996;14(8):2274-9.
209. Kosmidis PA, Tsavaris N, Skarlos D, Theocharis D, Samantas E, Pavlidis N, et al. Fluorouracil and leucovorin with or without interferon alfa-2b in advanced colorectal cancer: analysis of a prospective randomized phase III trial. *Hellenic Cooperative Oncology Group. J Clin Oncol.* 1996;14(10):2682-7.
210. Greco FA, Figlin R, York M, Einhorn L, Schilsky R, Marshall EM, et al. Phase III randomized study to compare interferon alfa-2a in combination with fluorouracil versus fluorouracil alone in patients with advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1996;14(10):2674-81.
211. Hansen RM, Ryan L, Anderson T, Krzywda B, Quebbeman E, Benson A, 3rd, et al. Phase III study of bolus versus infusion fluorouracil with or without cisplatin in advanced colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(10):668-74.

212. Hoff PM, Royce M, Medgyesy D, Brito R, Pazdur R. Oral fluoropyrimidines. *Semin Oncol.* 1999;26(6):640-6.
213. Leichman CG, Fleming TR, Muggia FM, Tangen CM, Ardan B, Doroshow JH, et al. Phase II study of fluorouracil and its modulation in advanced colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1995;13(6):1303-11.
214. Twelves C, Boyer M, Findlay M, Cassidy J, Weitzel C, Barker C, et al. Capecitabine (Xeloda) improves medical resource use compared with 5-fluorouracil plus leucovorin in a phase III trial conducted in patients with advanced colorectal carcinoma. *Eur J Cancer.* 2001;37(5):597-604.
215. Wanebo HJ, Koness RJ, Vezeridis MP, Cohen SI, Wroblewski DE. Pelvic resection of recurrent rectal cancer. *Ann Surg.* 1994;220(4):586-95; discussion 95-7.
216. Adson MA, van Heerden JA, Adson MH, Wagner JS, Ilstrup DM. Resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *Arch Surg.* 1984;119(6):647-51.
217. Coppa GF, Eng K, Ranson JH, Gouge TH, Localio SA. Hepatic resection for metastatic colon and rectal cancer. An evaluation of preoperative and postoperative factors. *Ann Surg.* 1985;202(2):203-8.
218. Wong CS, Cummings BJ, Brierley JD, Catton CN, McLean M, Catton P, et al. Treatment of locally recurrent rectal carcinoma--results and prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998;40(2):427-35.
219. Crane CH, Janjan NA, Abbruzzese JL, Curley S, Vauthey J, Sawaf HB, et al. Effective pelvic symptom control using initial chemoradiation without colostomy in metastatic rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49(1):107-16.
220. Ogunbiyi OA, McKenna K, Birnbaum EH, Fleshman JW, Kodner IJ. Aggressive surgical management of recurrent rectal cancer--is it worthwhile? *Dis Colon Rectum.* 1997;40(2):150-5.
221. Lowy AM, Rich TA, Skibber JM, Dubrow RA, Curley SA. Preoperative infusional chemoradiation, selective intraoperative radiation, and resection for locally advanced pelvic recurrence of colorectal adenocarcinoma. *Ann Surg.* 1996;223(2):177-85.
222. Valentini V, Morganti AG, De Franco A, Coco C, Ratto C, Battista Doglietto G, et al. Chemoradiation with or without intraoperative radiation therapy in patients with locally recurrent rectal carcinoma: prognostic factors and long term outcome. *Cancer.* 1999;86(12):2612-24.

223. Haddock MG, Gunderson LL, Nelson H, Cha SS, Devine RM, Dozois RR, et al. Intraoperative irradiation for locally recurrent colorectal cancer in previously irradiated patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001;49(5):1267-74.
224. Rodriguez-Bigas MA, Herrera L, Petrelli NJ. Surgery for recurrent rectal adenocarcinoma in the presence of hydronephrosis. *Am J Surg*. 1992;164(1):18-21.
225. Wadler S, Lembersky B, Atkins M, Kirkwood J, Petrelli N. Phase II trial of fluorouracil and recombinant interferon alfa-2a in patients with advanced colorectal carcinoma: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 1991;9(10):1806-10.
226. Kemeny N, Younes A, Seiter K, Kelsen D, Sammarco P, Adams L, et al. Interferon alpha-2a and 5-fluorouracil for advanced colorectal carcinoma. Assessment of activity and toxicity. *Cancer*. 1990;66(12):2470-5.
227. Pazdur R, Ajani JA, Patt YZ, Winn R, Jackson D, Shepard B, et al. Phase II study of fluorouracil and recombinant interferon alfa-2a in previously untreated advanced colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 1990;8(12):2027-31.
228. Hill M, Norman A, Cunningham D, Findlay M, Nicolson V, Hill A, et al. Royal Marsden phase III trial of fluorouracil with or without interferon alfa-2b in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 1995;13(6):1297-302.
229. Levi FA, Zidani R, Vannetzel JM, Perpoint B, Focan C, Faggiuolo R, et al. Chronomodulated versus fixed-infusion-rate delivery of ambulatory chemotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid (leucovorin) in patients with colorectal cancer metastases: a randomized multi-institutional trial. *J Natl Cancer Inst*. 1994;86(21):1608-17.
230. Rothenberg ML, Eckardt JR, Kuhn JG, Burris HA, 3rd, Nelson J, Hilsenbeck SG, et al. Phase II trial of irinotecan in patients with progressive or rapidly recurrent colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 1996;14(4):1128-35.
231. Conti JA, Kemeny NE, Saltz LB, Huang Y, Tong WP, Chou TC, et al. Irinotecan is an active agent in untreated patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 1996;14(3):709-15.
232. Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkila R, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998;352(9138):1413-8.

233. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, Niederle N, Possinger K, Labianca R, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*. 1998;352(9138):1407-12.
234. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med*. 2000 Sep 28;343(13):905-14.
235. Cunningham D. Mature results from three large controlled studies with raltitrexed ('Tomudex'). *Br J Cancer*. 1998;77 Suppl 2:15-21.
236. Cocconi G, Cunningham D, Van Cutsem E, Francois E, Gustavsson B, van Hazel G, et al. Open, randomized, multicenter trial of raltitrexed versus fluorouracil plus high-dose leucovorin in patients with advanced colorectal cancer. Tomudex Colorectal Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 1998;16(9):2943-52.
237. de Gramont A, Vignoud J, Tournigand C, Louvet C, Andre T, Varette C, et al. Oxaliplatin with high-dose leucovorin and 5-fluorouracil 48-hour continuous infusion in pretreated metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 1997;33(2):214-9.
238. Bleiberg H, de Gramont A. Oxaliplatin plus 5-fluorouracil: clinical experience in patients with advanced colorectal cancer. *Semin Oncol*. 1998;25(2 Suppl 5):32-9.
239. Andre T, Bensmaine MA, Louvet C, Francois E, Lucas V, Desseigne F, et al. Multicenter phase II study of bimonthly high-dose leucovorin, fluorouracil infusion, and oxaliplatin for metastatic colorectal cancer resistant to the same leucovorin and fluorouracil regimen. *J Clin Oncol*. 1999;17(11):3560-8.
240. Sargent DJ, Niedzwiecki D, O'Connell MJ, Schilsky RL. Recommendation for caution with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2001;345(2):144-5; author reply 6.
241. Gayowski TJ, Iwatsuki S, Madariaga JR, Selby R, Todo S, Irish W, et al. Experience in hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of clinical and pathologic risk factors. *Surgery*. 1994;116(4):703-10; discussion 10-1.
242. Grem JL, Jordan E, Robson ME, Binder RA, Hamilton JM, Steinberg SM, et al. Phase II study of fluorouracil, leucovorin, and interferon alfa-2a in metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 1993;11(9):1737-45.
243. Baron TH. Expandable metal stents for the treatment of cancerous obstruction of the gastrointestinal tract. *N Engl J Med*. 2001 ;344(22):1681-7.

244. Shousha S. Paneth cell-rich papillary adenocarcinoma and a mucoid adenocarcinoma occurring synchronously in colon: a light and electron microscopic study. *Histopathology*. 1979;3(6):489-501.
245. Horny HP, Horst HA. Lymphoreticular infiltrates in adenocarcinoma of the large intestine. *Pathol Res Pract*. 1987;182(2):222-7.
246. Ambe K, Mori M, Enjoji M. S-100 protein-positive dendritic cells in colorectal adenocarcinomas. Distribution and relation to the clinical prognosis. *Cancer*. 1989;63(3):496-503.
247. Saffos RO, Rhatigan RM. Benign (nonpolypoid) mucosal changes adjacent to carcinomas of the colon. A light microscopic study of 20 cases. *Hum Pathol*. 1977;8(4):441-9.
248. Dawson PA, Filipe MI. An ultrastructural and histochemical study of the mucous membrane adjacent to and remote from carcinoma of the colon. *Cancer*. 1976;37(5):2388-98.
249. Lev R, Lance P, Camara P. Histochemical and morphologic studies of mucosa bordering rectosigmoid carcinomas: comparisons with normal, diseased, and malignant colonic epithelium. *Hum Pathol*. 1985;16(2):151-61.
250. Franzin G, Grigioni WF, Dina R, Scarpa A, Zamboni G. Mucin secretion and morphological changes of the mucosa in non-neoplastic diseases of the colon. *Histopathology*. 1983;7(5):707-18.
251. Isaacson P, Attwood PR. Failure to demonstrate specificity of the morphological and histochemical changes in mucosa adjacent to colonic carcinoma (transitional mucosa). *J Clin Pathol*. 1979;32(3):214-8.
252. Listinsky CM, Riddell RH. Patterns of mucin secretion in neoplastic and non-neoplastic diseases of the colon. *Hum Pathol*. 1981;12(10):923-9.
253. Sawady J, Friedman MI, Katzin WE, Mendelsohn G. Role of the transitional mucosa of the colon in differentiating primary adenocarcinoma from carcinomas metastatic to the colon. An immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*. 1991;15(2):136-44.
254. Sunter JP, Higgs MJ, Cowan WK. Mucosal abnormalities at the anastomosis site in patients who have had intestinal resection for colonic cancer. *J Clin Pathol*. 1985;38(4):385-9.
255. Purdie CA, Piris J. Histopathological grade, mucinous differentiation and DNA ploidy in relation to prognosis in colorectal carcinoma. *Histopathology*. 2000;36(2):121-6.

256. Connelly JH, Robey-Cafferty SS, Cleary KR. Mucinous carcinomas of the colon and rectum. An analysis of 62 stage B and C lesions. *Arch Pathol Lab Med.* 1991;115(10):1022-5.
257. Sasaki O, Atkin WS, Jass JR. Mucinous carcinoma of the rectum. *Histopathology.* 1987;11(3):259-72.
258. Connelly JH, Robey-Cafferty SS, el-Naggar AK, Cleary KR. Exophytic signet-ring cell carcinoma of the colorectum. *Arch Pathol Lab Med.* 1991;115(2):134-36.
259. Green JB, Timmcke AE, Mitchell WT, Hicks TC, Gathright JB, Jr., Ray JE. Mucinous carcinoma--just another colon cancer? *Dis Colon Rectum.* 1993;36(1):49-54.
260. Sadahiro S, Ohmura T, Saito T, Akatsuka S. An assessment of the mucous component in carcinoma of the colon and rectum. *Cancer.* 1989;64(5):1113-6.
261. Sasaki S, Masaki T, Umetani N, Futakawa N, Ando H, Muto T. Characteristics in primary signet-ring cell carcinoma of the colorectum, from clinicopathological observations. *Jpn J Clin Oncol.* 1998;28(3):202-6.
262. Giaccherio A, Aste H, Baracchini P, Conio M, Fulcheri E, Lapertosa G, et al. Primary signet-ring carcinoma of the large bowel. Report of nine cases. *Cancer.* 1985;56(11):2723-6.
263. Almagro UA. Primary signet-ring carcinoma of the colon. *Cancer.* 1983;52(8):1453-7.
264. Shirouzu K, Isomoto H, Morodomi T, Ogata Y, Akagi Y, Kakegawa T. Primary linitis plastica carcinoma of the colon and rectum. *Cancer.* 1994;74(7):1863-8.
265. Amorn Y, Knight WA, Jr. Primary linitis plastica of the colon: report of two cases and review of the literature. *Cancer.* 1978;41(6):2420-5.
266. Nakahara H, Ishikawa T, Itabashi M, Hirota T. Diffusely infiltrating primary colorectal carcinoma of linitis plastica and lymphangiosis types. *Cancer.* 1992;69(4):901-6.
267. Goldstein NS, Long A, Kuan SF, Hart J. Colon signet ring cell adenocarcinoma: immunohistochemical characterization and comparison with gastric and typical colon adenocarcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2000;8(3):183-8.
268. Balthazar EJ, Rosenberg HD, Davidian MM. Primary and metastatic scirrhous carcinoma of the rectum. *AJR Am J Roentgenol.* 1979;132(5):711-5.
269. Stevens WR, Ruiz P. Primary linitis plastica carcinoma of the colon and rectum. *Mod Pathol.* 1989;2(3):265-9.

270. Jessurun J, Romero-Guadarrama M, Manivel JC. Medullary adenocarcinoma of the colon: clinicopathologic study of 11 cases. *Hum Pathol.* 1999;30(7):843-8.
271. Sugao Y, Yao T, Kubo C, Tsuneyoshi M. Improved prognosis of solid-type poorly differentiated colorectal adenocarcinoma: a clinicopathological and immunohistochemical study. *Histopathology.* 1997;31(2):123-33.
272. Ishikura H, Kishimoto T, Andachi H, Kakuta Y, Yoshiki T. Gastrointestinal hepatoid adenocarcinoma: venous permeation and mimicry of hepatocellular carcinoma, a report of four cases. *Histopathology.* 1997;31(1):47-54.
273. Reyes CV, Siddiqui MT. Anaplastic carcinoma of the colon: clinicopathologic study of eight cases of a poorly recognized lesion. *Ann Diagn Pathol.* 1997;1(1):19-25.
274. Park CH, Reid JD. Adenocarcinoma of the colon with choriocarcinoma in its metastases. *Cancer.* 1980;46(3):570-5.
275. Hall-Craggs M, Toker C. Basaloid tumor of the sigmoid colon. *Hum Pathol.* 1982;13(5):497-500.
276. Shia J, Tickoo SK, Guillem JG, Qin J, Nissan A, Hoos A, et al. Increased endocrine cells in treated rectal adenocarcinomas: a possible reflection of endocrine differentiation in tumor cells induced by chemotherapy and radiotherapy. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(7):863-72.
277. Chetty R, Bhathal PS. Caecal adenocarcinoma with rhabdoid phenotype: an immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1993;422(2):179-82.
278. Crissman JD. Adenosquamous and squamous cell carcinoma of the colon. *Am J Surg Pathol.* 1978;2(1):47-54.
279. Horne BD, McCulloch CF. Squamous cell carcinoma of the cecum: a case report. *Cancer.* 1978;42(4):1879-82.
280. Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K, Kakegawa K, Irie K, Morimatsu M. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. *Cancer.* 1989;63(3):539-43.
281. Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(2):179-89.

282. Wong JH, Severino R, Honnebier MB, Tom P, Namiki TS. Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 1999;17(9):2896-900.
283. Inada K, Shimokawa K, Ikeda T, Hayashi M, Azuma S. Development of liver metastasis in colorectal carcinoma. With special reference to venous invasion and basement membrane laminin. *Acta Pathol Jpn.* 1991;41(3):240-5.
284. Goldstein J, Mazor M, Leiberman JR. Primary carcinoma of the cecum with uterine metastases. *Hum Pathol.* 1981;12(12):1139-40.
285. Moore JB, Law DK, Moore EE, Dean CM. Testicular mass: an initial sign of colon carcinoma. *Cancer.* 1982;49(2):411-2.
286. Rusthoven JJ, Fine S, Thomas G. Adenocarcinoma of the rectum metastatic to the oral cavity. Two cases and a review of the literature. *Cancer.* 1984;54(6):1110-2.
287. Dionigi A, Facco C, Tibiletti MG, Bernasconi B, Riva C, Capella C. Ovarian metastases from colorectal carcinoma. Clinicopathologic profile, immunophenotype, and karyotype analysis. *Am J Clin Pathol.* 2000;114(1):111-22.
288. Krebs PA, Albuquerque A, Quezado M, Bryant B, Sobel ME, Merino MJ, et al. The use of microsatellite instability in the distinction between synchronous endometrial and colonic adenocarcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 1999;18(4):320-4.
289. Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *J Patol Bacteriol.* 1932;35:322-32.
290. Astler VB, Coller FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg.* 1954;139(6):846-52.
291. Eisenberg B, Decosse JJ, Harford F, Michalek J. Carcinoma of the colon and rectum: the natural history reviewed in 1704 patients. *Cancer.* 1982;49(6):1131-4.
292. Olson RM, Perencevich NP, Malcolm AW, Chaffey JT, Wilson RE. Patterns of recurrence following curative resection of adenocarcinoma of the colon and rectum. *Cancer.* 1980;45(12):2969-74.
293. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer.* 1986;57(9):1866-70.
294. Watson AJ, Merritt AJ, Jones LS, Askew JN, Anderson E, Becciolini A, et al. Evidence of reciprocity of bcl-2 and p53 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Br J Cancer.* 1996;73(8):889-95.

295. Arbmán G, Nilsson E, Hallbook O, Sjødahl R. Local recurrence following total mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg.* 1996;83(3):375-9.
296. Filella X, Molina R, Grau JJ, Pique JM, Garcia-Valdecasas JC, Astudillo E, et al. Prognostic value of CA 19.9 levels in colorectal cancer. *Ann Surg.* 1992;216(1):55-9.
297. Voogt PJ, van de Velde CJ, Brand A, Hermans J, Stijnen T, Bloem R, et al. Perioperative blood transfusion and cancer prognosis. Different effects of blood transfusion on prognosis of colon and breast cancer patients. *Cancer.* 1987;59(4):836-43.
298. Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, Jauch KW, Gabka C, Mempel M, et al. Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol.* 1994;12(9):1859-67.
299. Busch OR, Hop WC, Hoyneck van Papendrecht MA, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1993;328(19):1372-6.
300. Donohue JH, Williams S, Cha S, Windschitl HE, Witzig TE, Nelson H, et al. Perioperative blood transfusions do not affect disease recurrence of patients undergoing curative resection of colorectal carcinoma: a Mayo/North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol.* 1995;13(7):1671-8.
301. Jass JR. Prognostic factors in rectal cancer. *Eur J Cancer.* 1995;31A(6):862-3.
302. Kohne CH, Cunningham D, Di CF, Glimelius B, Blijham G, Aranda E, et al. Clinical determinants of survival in patients with 5-fluorouracil-based treatment for metastatic colorectal cancer: results of a multivariate analysis of 3825 patients. *Ann Oncol.* 2002;13(2):308-17.
303. Tortola S, Marcuello E, Gonzalez I, Reyes G, Arribas R, Aiza G, et al. p53 and K-ras gene mutations correlate with tumor aggressiveness but are not of routine prognostic value in colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17(5):1375-81.
304. Cagir B, Nagy MW, Topham A, Rakinic J, Fry RD. Adenosquamous carcinoma of the colon, rectum, and anus: epidemiology, distribution, and survival characteristics. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(2):258-63.
305. Kimura H, Konishi K, Maeda K, Yabushita K, Tsuji M, Miwa A. Highly aggressive behavior and poor prognosis of small-cell carcinoma in the alimentary tract: flow-cytometric analysis and immunohistochemical staining for the p53 protein and proliferating cell nuclear antigen. *Dig Surg.* 1999;16(2):152-7.

306. Cerottini JP, Caplin S, Pampallona S, Givel JC. Prognostic factors in colorectal cancer. *Oncol Rep.* 1999;6(2):409-14.
307. Ratto C, Sofo L, Ippoliti M, Merico M, Bossola M, Vecchio FM, et al. Accurate lymph-node detection in colorectal specimens resected for cancer is of prognostic significance. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(2):143-54; discussion 54-8.
308. Calaluce R, Miedema BW, Yesus YW. Micrometastasis in colorectal carcinoma: a review. *J Surg Oncol.* 1998;67(3):194-202.
309. Vermeulen PB, Van den Eynden GG, Huget P, Goovaerts G, Weyler J, Lardon F, et al. Prospective study of intratumoral microvessel density, p53 expression and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 1999;79(2):316-22.
310. Nielsen HJ, Hansen U, Christensen IJ, Reimert CM, Brunner N, Moesgaard F. Independent prognostic value of eosinophil and mast cell infiltration in colorectal cancer tissue. *J Pathol.* 1999;189(4):487-95.
311. Gagliardi G, Stepniewska KA, Hershman MJ, Hawley PR, Talbot IC. New grade-related prognostic variable for rectal cancer. *Br J Surg.* 1995;82(5):599-602.
312. Chung DC. Molecular prognostic markers and colorectal cancer: the search goes on. *Gastroenterology.* 1998;114(6):1330-2.
313. McLeod HL, Murray GI. Tumour markers of prognosis in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 1999;79(2):191-203.
314. Artemio Payá Romá CAG, Rodrigo Javier Martínez, F. Ignacio Aranda López. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Revista Española de Patología.* [Review]. 2006;39(4):201-8.
315. Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: a systematic overview of 8,507 patients from 22 randomised trials. *Lancet.* 2001;358(9290):1291-304.
316. Ruo L, Guillem JG, Minsky BD, Quan SH, Paty PB, Cohen AM. Preoperative radiation with or without chemotherapy and full-thickness transanal excision for selected T2 and T3 distal rectal cancers. *Int J Colorectal Dis.* 2002;17(1):54-8.
317. Medich D, McGinty J, Parda D, Karlovits S, Davis C, Caushaj P, et al. Preoperative chemoradiotherapy and radical surgery for locally advanced distal rectal adenocarcinoma: pathologic findings and clinical implications. *Dis Colon Rectum.* 2001;44(8):1123-8.

318. Theodoropoulos G, Wise WE, Padmanabhan A, Kerner BA, Taylor CW, Aguilar PS, et al. T-level downstaging and complete pathologic response after preoperative chemoradiation for advanced rectal cancer result in decreased recurrence and improved disease-free survival. *Dis Colon Rectum*. 2002;45(7):895-903.
319. Valentini V, Coco C, Cellini N, Picciocchi A, Rosetto ME, Mantini G, et al. Preoperative chemoradiation with cisplatin and 5-fluorouracil for extraperitoneal T3 rectal cancer: acute toxicity, tumor response, sphincter preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1999;45(5):1175-84.
320. Mandard AM, Dalibard F, Mandard JC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JF, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer*. 1994;73(11):2680-6.
321. Bozzetti F, Andreola S, Rossetti C, Zucali R, Meroni E, Baratti D, et al. Preoperative radiotherapy for resectable cancer of the middle-distal rectum: its effect on the primary lesion as determined by endorectal ultrasound using flexible echo colonoscope. *Int J Colorectal Dis*. 1996;11(6):283-6.
322. Dworak O, Keilholz L, Hoffmann A. Pathological features of rectal cancer after preoperative radiochemotherapy. *Int J Colorectal Dis*. 1997;12(1):19-23.
323. Wheeler JM, Warren BF, Mortensen NJ, Ekanyaka N, Kulacoglu H, Jones AC, et al. Quantification of histologic regression of rectal cancer after irradiation: a proposal for a modified staging system. *Dis Colon Rectum*. 2002;45(8):1051-6.
324. Shia J, Guillem JG, Moore HG, Tickoo SK, Qin J, Ruo L, et al. Patterns of morphologic alteration in residual rectal carcinoma following preoperative chemoradiation and their association with long-term outcome. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(2):215-23.
325. Onaitis MW, Noone RB, Hartwig M, Hurwitz H, Morse M, Jowell P, et al. Neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer: analysis of clinical outcomes from a 13-year institutional experience. *Ann Surg*. 2001;233(6):778-85.
326. Ruo L, Tickoo S, Klimstra DS, Minsky BD, Saltz L, Mazumdar M, et al. Long-term prognostic significance of extent of rectal cancer response to preoperative radiation and chemotherapy. *Ann Surg*. 2002;236(1):75-81.
327. Nagtegaal ID, Marijnen CA, Kranenbarg EK, Mulder-Stapel A, Hermans J, van de Velde CJ, et al. Local and distant recurrences in rectal cancer patients are predicted by the nonspecific immune response; specific immune response has only a systemic effect--a histopathological and immunohistochemical study. *BMC Cancer*. 2001;1:7.

328. Fernandez-Acenero MJ, Galindo-Gallego M, Sanz J, Aljama A. Prognostic influence of tumor-associated eosinophilic infiltrate in colorectal carcinoma. *Cancer*. 2000;88(7):1544-8.
329. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):979-94.
330. Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, Barber JP, Bedi GC, Giardiello FM, et al. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Res*. 1995;55(9):1811-6.
331. Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, Vogt M, Muller C, Dopfer K, et al. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer*. 1996;77(2):255-64.
332. Kikuchi Y, Dinjens WN, Bosman FT. Proliferation and apoptosis in proliferative lesions of the colon and rectum. *Virchows Arch*. 1997;431(2):111-7.
333. Schwandner O, Schiedeck TH, Bruch HP, Duchrow M, Windhoevel U, Broll R. Apoptosis in rectal cancer: prognostic significance in comparison with clinical histopathologic, and immunohistochemical variables. *Dis Colon Rectum*. 2000;43(9):1227-36.
334. Ikenaga M, Takano Y, Saegusa M, Ohtani Y, Hiki Y, Kakita A, et al. Apoptosis of colon cancers assessed by in situ DNA nick end-labeling method. *Pathol Int*. 1996;46(1):33-7.
335. Sugamura K, Makino M, Kaibara N. Apoptosis as a prognostic factor in colorectal carcinoma. *Surg Today*. 1998;28(2):145-50.
336. Minsky BD, Cohen AM, Kemeny N, Enker WE, Kelsen DP, Reichman B, et al. Enhancement of radiation-induced downstaging of rectal cancer by fluorouracil and high-dose leucovorin chemotherapy. *J Clin Oncol*. 1992;10(1):79-84.
337. Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J, Vignal J, Grandjean JP, Partensky C, et al. Influence of the interval between preoperative radiation therapy and surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing surgery for rectal cancer: the Lyon R90-01 randomized trial. *J Clin Oncol*. 1999;17(8):2396.
338. Spitz FR, Giacco GG, Hess K, Larry L, Rich TA, Janjan N, et al. p53 immunohistochemical staining predicts residual disease after chemoradiation in patients with high-risk rectal cancer. *Clin Cancer Res*. 1997;3(10):1685-90.

339. Saw RP, Morgan M, Koorey D, Painter D, Findlay M, Stevens G, et al. p53, deleted in colorectal cancer gene, and thymidylate synthase as predictors of histopathologic response and survival in low, locally advanced rectal cancer treated with preoperative adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum*. 2003;46(2):192-202.
340. Rau B, Sturm I, Lage H, Berger S, Schneider U, Hauptmann S, et al. Dynamic expression profile of p21WAF1/CIP1 and Ki-67 predicts survival in rectal carcinoma treated with preoperative radiochemotherapy. *J Clin Oncol*. 2003;21(18):3391-401.
341. Reerink O, Karrenbeld A, Plukker JT, Verschueren RC, Szabo BG, Sluiter WJ, et al. Molecular prognostic factors in locally irresectable rectal cancer treated preoperatively by chemo-radiotherapy. *Anticancer Res*. 2004;24(2C):1217-21.
342. Diez M, Ramos P, Medrano MJ, Mugerza JM, Villeta R, Lozano O, et al. Preoperatively irradiated rectal carcinoma: analysis of the histopathologic response and predictive value of proliferating cell nuclear antigen immunostaining. *Oncology*. 2003;64(3):213-9.
343. Komuro Y, Watanabe T, Hosoi Y, Matsumoto Y, Nakagawa K, Tsuno N, et al. The expression pattern of Ku correlates with tumor radiosensitivity and disease free survival in patients with rectal carcinoma. *Cancer*. 2002;95(6):1199-205.
344. Rich TA. Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: more on pre- or postoperative therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995;32(2):547-8.
345. Scott N, Hale A, Deakin M, Hand P, Adab FA, Hall C, et al. A histopathological assessment of the response of rectal adenocarcinoma to combination chemo-radiotherapy: relationship to apoptotic activity, p53 and bcl-2 expression. *Eur J Surg Oncol*. 1998;24(3):169-73.
346. Tannapfel A, Nusslein S, Fietkau R, Katalinic A, Kockerling F, Wittekind C. Apoptosis, proliferation, bax, bcl-2 and p53 status prior to and after preoperative radiochemotherapy for locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1998;41(3):585-91.
347. Sakakura C, Koide K, Ichikawa D, Wakasa T, Shirasu M, Kimura A, et al. Analysis of histological therapeutic effect, apoptosis rate and p53 status after combined treatment with radiation, hyperthermia and 5-fluorouracil suppositories for advanced rectal cancers. *Br J Cancer*. 1998;77(1):159-66.
348. Verheij M, van Blitterswijk WJ, Bartelink H. Radiation-induced apoptosis--the ceramide-SAPK signaling pathway and clinical aspects. *Acta Oncol*. 1998;37(6):575-81.

349. Xia F, Wang X, Wang YH, Tsang NM, Yandell DW, Kelsey KT, et al. Altered p53 status correlates with differences in sensitivity to radiation-induced mutation and apoptosis in two closely related human lymphoblast lines. *Cancer Res.* 1995;55(1):12-5.
350. Ribeiro JC, Barnetson AR, Fisher RJ, Mameghan H, Russell PJ. Relationship between radiation response and p53 status in human bladder cancer cells. *Int J Radiat Biol.* 1997;72(1):11-20.
351. Fu CG, Tominaga O, Nagawa H, Nita ME, Masaki T, Ishimaru G, et al. Role of p53 and p21/WAF1 detection in patient selection for preoperative radiotherapy in rectal cancer patients. *Dis Colon Rectum.* 1998;41(1):68-74.
352. Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58(22):5071-4.
353. Yamaguchi H, Bhalla K, Wang HG. Bax plays a pivotal role in thapsigargin-induced apoptosis of human colon cancer HCT116 cells by controlling Smac/Diablo and Omi/HtrA2 release from mitochondria. *Cancer Res.* 2003;63(7):1483-9.
354. Zhang L, Yu J, Park BH, Kinzler KW, Vogelstein B. Role of BAX in the apoptotic response to anticancer agents. *Science.* 2000;290(5493):989-92.
355. Cascinu S, Graziano F, Catalano V, Staccioli MP, Rossi MC, Baldelli AM, et al. An analysis of p53, BAX and vascular endothelial growth factor expression in node-positive rectal cancer. Relationships with tumour recurrence and event-free survival of patients treated with adjuvant chemoradiation. *Br J Cancer.* 2002;86(5):744-9.
356. Guo B, Cao S, Toth K, Azrak RG, Rustum YM. Overexpression of Bax enhances antitumor activity of chemotherapeutic agents in human head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2000;6(2):718-24.
357. Chang HJ, Jung KH, Kim DY, Jeong SY, Choi HS, Kim YH, et al. Bax, a predictive marker for therapeutic response to preoperative chemoradiotherapy in patients with rectal carcinoma. *Hum Pathol.* 2005;36(4):364-71.
358. Matsumoto H, Wada T, Fukunaga K, Yoshihiro S, Matsuyama H, Naito K. Bax to Bcl-2 ratio and Ki-67 index are useful predictors of neoadjuvant chemoradiation therapy in bladder cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2004;34(3):124-30.

359. Barillari G, Albonici L, Franzese O, Modesti A, Liberati F, Barillari P, et al. The basic residues of placenta growth factor type 2 retrieve sequestered angiogenic factors into a soluble form: implications for tumor angiogenesis. *Am J Pathol.* 1998;152(5):1161-6.
360. Amaya H, Tanigawa N, Lu C, Matsumura M, Shimomatsuya T, Horiuchi T, et al. Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis, survival and thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor expression in human colorectal cancer. *Cancer Lett.* 1997;119(2):227-35.
361. Bourke RD, Cooling RJ, Bolger JP. Retinal neovascularisation and posterior penetrating ocular injury. *Eye.* 1998;12 (Pt 1):147-8.
362. Lantieri LA, Martin-Garcia N, Wechsler J, Mitrofanoff M, Raulo Y, Baruch JP. Vascular endothelial growth factor expression in expanded tissue: a possible mechanism of angiogenesis in tissue expansion. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(2):392-8.
363. Lund EL, Spang-Thomsen M, Skovgaard-Poulsen H, Kristjansen PE. Tumor angiogenesis--a new therapeutic target in gliomas. *Acta Neurol Scand.* 1998;97(1):52-62.
364. Saenz NC, Heslin MJ, Adsay V, Lewis JJ, Leung DH, LaQuaglia MP, et al. Neovascularity and clinical outcome in high-grade extremity soft tissue sarcomas. *Ann Surg Oncol.* 1998;5(1):48-53.
365. Campbell SC, Volpert OV, Ivanovich M, Bouck NP. Molecular mediators of angiogenesis in bladder cancer. *Cancer Res.* 1998;58(6):1298-304.
366. Obermair A, Wanner C, Bilgi S, Speiser P, Kaider A, Reinthaller A, et al. Tumor angiogenesis in stage IB cervical cancer: correlation of microvessel density with survival. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(2):314-9.
367. Giatromanolaki A, Koukourakis MI. p53 and angiogenesis in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer.* 1998;77(5):850-2.
368. Acenero MJ, Gallego MG, Ballesteros PA, Gonzalez JF. Vascular density as a prognostic indicator for invasive ductal breast carcinoma. *Virchows Arch.* 1998;432(2):113-7.
369. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol.* 2002;29(6 Suppl 16):15-8.
370. Saad RS, El-Gohary Y, Memari E, Liu YL, Silverman JF. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in esophageal adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2005;36(9):955-61.

371. Maula SM, Luukkaa M, Grenman R, Jackson D, Jalkanen S, Ristamaki R. Intratumoral lymphatics are essential for the metastatic spread and prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Cancer Res.* 2003;63(8):1920-6.
372. Hall FT, Freeman JL, Asa SL, Jackson DG, Beasley NJ. Intratumoral lymphatics and lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129(7):716-9.
373. Dadras SS, Paul T, Bertoncini J, Brown LF, Muzikansky A, Jackson DG, et al. Tumor lymphangiogenesis: a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am J Pathol.* 2003;162(6):1951-60.
374. Pepper MS. Lymphangiogenesis and tumor metastasis: myth or reality? *Clin Cancer Res.* 2001;7(3):462-8.
375. Padera TP, Kadambi A, di Tomaso E, Carreira CM, Brown EB, Boucher Y, et al. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science.* 2002;296(5574):1883-6.
376. Clarijs R, Ruiter DJ, de Waal RM. Lymphangiogenesis in malignant tumours: Does it occur? *J Pathol.* 2001;193(2):143-6.
377. Bono P, Wasenius VM, Heikkila P, Lundin J, Jackson DG, Joensuu H. High LYVE-1-positive lymphatic vessel numbers are associated with poor outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(21):7144-9.
378. Muñoz-Guerra MF, Marazuela EG, Martin-Villar E, Quintanilla M, Gamallo C. Prognostic significance of intratumoral lymphangiogenesis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer.* 2004;100(3):553-60.
379. Kurahara H, Takao S, Maemura K, Shinchi H, Natsugoe S, Aikou T. Impact of vascular endothelial growth factor-C and -D expression in human pancreatic cancer: its relationship to lymph node metastasis. *Clin Cancer Res.* 2004;10(24):8413-20.
380. Saad RS, Kordunsky L, Liu YL, Denning KL, Kandil HA, Silverman JF. Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2006;19(10):1317-23.
381. Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang PJ, Acs G. Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res.* 2005;11(23):8364-71.

382. Kuroyama S, Kobayashi N, Ohbu M, Ohtani Y, Okayasu I, Kakita A. Enzyme histochemical analysis of lymphatic vessels in colon carcinoma: occurrence of lymphangiogenesis within the tumor. *Hepatogastroenterology*. 2005;52(64):1057-61.
383. Ishigami SI, Aii S, Furutani M, Niwano M, Harada T, Mizumoto M, et al. Predictive value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastasis and prognosis of human colorectal cancer. *Br J Cancer*. 1998;78(10):1379-84.
384. Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, Koura AN, Bucana CD, Cleary KR, et al. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg*. 1997;132(5):541-6.
385. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9(6):669-76.
386. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene*. 2003;22(42):6549-56.
387. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25(4):581-611.
388. Wong MP, Cheung N, Yuen ST, Leung SY, Chung LP. Vascular endothelial growth factor is up-regulated in the early pre-malignant stage of colorectal tumour progression. *Int J Cancer*. 1999;81(6):845-50.
389. Nozue M, Isaka N, Fukao K. Over-expression of vascular endothelial growth factor after preoperative radiation therapy for rectal cancer. *Oncol Rep*. 2001;8(6):1247-9.
390. Zlobec I, Steele R, Compton CC. VEGF as a predictive marker of rectal tumor response to preoperative radiotherapy. *Cancer*. 2005;104(11):2517-21.
391. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst*. 1990;82(1):4-6.
392. Shaheen RM, Davis DW, Liu W, Zebrowski BK, Wilson MR, Bucana CD, et al. Antiangiogenic therapy targeting the tyrosine kinase receptor for vascular endothelial growth factor receptor inhibits the growth of colon cancer liver metastasis and induces tumor and endothelial cell apoptosis. *Cancer Res*. 1999;59(21):5412-6.
393. Collins TS, Hurwitz HI. Targeting vascular endothelial growth factor and angiogenesis for the treatment of colorectal cancer. *Semin Oncol*. 2005;32(1):61-8.

394. Frank RE, Saclarides TJ, Leurgans S, Speziale NJ, Drab EA, Rubin DB. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence and survival in patients with node-negative colon cancer. *Ann Surg.* 1995;222(6):695-9.
395. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Theodossiou D, Barbatis K, O'Byrne K, Harris AL, et al. Comparative evaluation of angiogenesis assessment with anti-factor-VIII and anti-CD31 immunostaining in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 1997;3(12 Pt 1):2485-92.
396. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Kakolyris S, Kaklamanis L, Barbatis K, O'Byrne KJ, et al. Focal expression of thymidine phosphorylase associates with CD31 positive lymphocytic aggregation and local neo-angiogenesis in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 1998;18(1A):71-6.
397. Jass JR. Lymphocytic infiltration and survival in rectal cancer. *J Clin Pathol.* 1986;39(6):585-9.
398. Seymour MT. Colorectal cancer: treatment of advanced disease. *Cancer Treat Rev.* 1998;24(2):119-31.
399. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, et al. Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II/Dukes' B2 colon cancer. *J Clin Oncol.* 1995;13(12):2936-43.
400. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2001;344(16):1196-206.
401. Paradiso A, Simone G, Lena MD, Leone B, Vallejo C, Lacava J, et al. Expression of apoptosis-related markers and clinical outcome in patients with advanced colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2001;84(5):651-8.
402. Johnston PG, Fisher ER, Rockette HE, Fisher B, Wolmark N, Drake JC, et al. The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12(12):2640-7.
403. Gorlick R, Metzger R, Danenberg KD, Salonga D, Miles JS, Longo GS, et al. Higher levels of thymidylate synthase gene expression are observed in pulmonary as compared with hepatic metastases of colorectal adenocarcinoma. *J Clin Oncol.* 1998;16(4):1465-9.
404. Villafranca E, Okruzhnov Y, Dominguez MA, Garcia-Foncillas J, Azinovic I, Martinez E, et al. Polymorphisms of the repeated sequences in the enhancer region of the thymidylate synthase gene promoter may predict downstaging after preoperative chemoradiation in rectal cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19(6):1779-86.

405. Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Groshen S, Cohen H, et al. Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Oncol.* 1996;14(1):176-82.
406. van Kuilenburg AB, Muller EW, Haasjes J, Meinsma R, Zoetekouw L, Waterham HR, et al. Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin Cancer Res.* 2001;7(5):1149-53.
407. Horie N, Aiba H, Oguro K, Hojo H, Takeishi K. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct Funct.* 1995;20(3):191-7.
408. Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V, Xiong YP, Ingles SA, Sherrod A, et al. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. *Pharmacogenomics J.* 2001;1(1):65-70.
409. Van Triest B, Peters GJ. Thymidylate synthase: a target for combination therapy and determinant of chemotherapeutic response in colorectal cancer. *Oncology.* 1999;57(3):179-94.
410. Wadler S, Bajaj R, Neuberg D, Agarwal V, Haynes H, Benson AB, 3rd. Prognostic implications of c-Ki-ras2 mutations in patients with advanced colorectal cancer treated with 5-fluorouracil and interferon: a study of the eastern cooperative oncology group (EST 2292). *Cancer J Sci Am.* 1997;3(5):284-8.
411. Tezel E, Nagasaka T, Nomoto S, Sugimoto H, Nakao A. Neuroendocrine-like differentiation in patients with pancreatic carcinoma. *Cancer.* 2000;89(11):2230-6.
412. Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Prostate.* 1999;39(2):135-48.
413. Miremadi A, Pinder SE, Lee AH, Bell JA, Paish EC, Wencyk P, et al. Neuroendocrine differentiation and prognosis in breast adenocarcinoma. *Histopathology.* 2002;40(3):215-22.
414. Foley EF, Gaffey MJ, Frierson HF, Jr. The frequency and clinical significance of neuroendocrine cells within stage III adenocarcinomas of the colon. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122(10):912-4.

415. Grabowski P, Schindler I, Anagnostopoulos I, Foss HD, Riecken EO, Mansmann U, et al. Neuroendocrine differentiation is a relevant prognostic factor in stage III-IV colorectal cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13(4):405-11.
416. Hamada Y, Oishi A, Shoji T, Takada H, Yamamura M, Hioki K, et al. Endocrine cells and prognosis in patients with colorectal carcinoma. *Cancer.* 1992;69(11):2641-6.
417. de Bruine AP, Wiggers T, Beek C, Volovics A, von Meyenfeldt M, Arends JW, et al. Endocrine cells in colorectal adenocarcinomas: incidence, hormone profile and prognostic relevance. *Int J Cancer.* 1993;54(5):765-71.
418. Lapertosa G, Baracchini P, Delucchi F. Prevalence and prognostic significance of endocrine cells in colorectal adenocarcinomas. *Pathologica.* 1994;86(2):170-3.
419. Yin J, Liang Y, Wang H. [Significance of endocrine cells and their hormones in colorectal cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1997;19(3):192-5.
420. Ahlgren G, Pedersen K, Lundberg S, Aus G, Hugosson J, Abrahamsson PA. Regressive changes and neuroendocrine differentiation in prostate cancer after neoadjuvant hormonal treatment. *Prostate.* 2000;42(4):274-9.
421. Bonkhoff H. Neuroendocrine cells in benign and malignant prostate tissue: morphogenesis, proliferation, and androgen receptor status. *Prostate Suppl.* 1998;8:18-22.
422. Bosman FT. Neuroendocrine cells in non-endocrine tumors: what does it mean? *Verh Dtsch Ges Pathol.* 1997;81:62-72.
423. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983;31(1):13-20.
424. Endl E, Gerdes J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res.* 2000;257(2):231-7.
425. Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MH, Key G, Flad HD, et al. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *J Cell Biol.* 1993;123(3):513-22.
426. Verheijen R, Kuijpers HJ, Schlingemann RO, Boehmer AL, van Driel R, Brakenhoff GJ, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. I. Intracellular localization during interphase. *J Cell Sci.* 1989;92 (Pt 1):123-30.

427. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311-22.
428. Salminen E, Palmu S, Vahlberg T, Roberts PJ, Soderstrom KO. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol.* 2005;11(21):3245-9.
429. Jacquemier JD, Penault-Llorca FM, Bertucci F, Sun ZZ, Houvenaeghel GF, Geneix JA, et al. Angiogenesis as a prognostic marker in breast carcinoma with conventional adjuvant chemotherapy: a multiparametric and immunohistochemical analysis. *J Pathol.* 1998;184(2):130-5.
430. Paradiso A, Tommasi S, Barletta A, Leone B, Lacava J, Vellejo C, et al. Metastatic site and p53 primary tumor expression in previously untreated stage IV breast cancer patients. *Anticancer Res.* 1999;19(5C):4523-8.
431. Chang J, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Clark GM, Makris A, et al. Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17(10):3058-63.
432. Nakamura S, Akazawa K, Yao T, Tsuneyoshi M. A clinicopathologic study of 233 cases with special reference to evaluation with the MIB-1 index. *Cancer.* 1995;76(8):1313-24.
433. Lehy T, Abitbol JL, Mignon M. [Influence of rectal preparation by enema on cell proliferation in the normal rectal mucosa in man]. *Gastroenterol Clin Biol.* 1984;8(3):216-21.
434. Palmqvist R, Sellberg P, Oberg A, Tavelin B, Rutegard JN, Stenling R. Low tumour cell proliferation at the invasive margin is associated with a poor prognosis in Dukes' stage B colorectal cancers. *Br J Cancer.* 1999;79(3-4):577-81.
435. Kimura T, Tanaka S, Haruma K, Sumii K, Kajiyama G, Shimamoto F, et al. Clinical significance of MUC1 and E-cadherin expression, cellular proliferation, and angiogenesis at the deepest invasive portion of colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2000;16(1):55-64.
436. Willett CG, Warland G, Hagan MP, Daly WJ, Coen J, Shellito PC, et al. Tumor proliferation in rectal cancer following preoperative irradiation. *J Clin Oncol.* 1995;13(6):1417-24.
437. D'Arpa P, Liu LF. Topoisomerase-targeting antitumor drugs. *Biochim Biophys Acta.* 1989;989(2):163-77.
438. Liu LF. DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs. *Annu Rev Biochem.* 1989;58:351-75.

439. Bertucci F, Viens P, Tagett R, Nguyen C, Houlgatte R, Birnbaum D. DNA arrays in clinical oncology: promises and challenges. *Lab Invest.* 2003;83(3):305-16.
440. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med.* 1998;4(7):844-7.
441. Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest.* 1986;55(2):244-8.
442. Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays. *Methods Mol Med.* 2005;114:257-68.
443. Bubendorf L, Kononen J, Koivisto P, Schraml P, Moch H, Gasser TC, et al. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughout fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. *Cancer Res.* 1999;59(4):803-6.
444. Moch H, Kononen T, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? *Adv Anat Pathol.* 2001;8(1):14-20.
445. Liu CL, Montgomery KD, Natkunam Y, West RB, Nielsen TO, Cheang MC, et al. TMA-Combiner, a simple software tool to permit analysis of replicate cores on tissue microarrays. *Mod Pathol.* 2005;18(12):1641-8.
446. Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. *Lab Invest.* 2000;80(12):1943-9.
447. Hoos A, Cordon-Cardo C. Tissue microarray profiling of cancer specimens and cell lines: opportunities and limitations. *Lab Invest.* 2001;81(10):1331-8.
448. Rubin MA, Dunn R, Strawderman M, Pienta KJ. Tissue microarray sampling strategy for prostate cancer biomarker analysis. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(3):312-9.
449. Escobar J, Menéndez P, Belyakova E. Applying Tissue Microarrays in tumor Immunohistochemistry Studies. *Rev Esp Patol.* 2006;39(1):11-7.