

María José Domper Arnal

Evaluación de la proteína  
Granzima a como marcador  
diagnóstico, pronóstico y de  
respuesta al tratamiento en  
pacientes con cáncer colorectal.

Director/es

Dr. D. Ángel Lanas Arbeloa

Dr. D. Ángel Ferrández Arenas

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza  
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



**Universidad**  
Zaragoza

Tesis Doctoral

EVALUACIÓN DE LA PROTEÍNA GRANZIMA A  
COMO MARCADOR DIAGNÓSTICO, PRONÓSTICO  
Y DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN  
PACIENTES CON CÁNCER COLORECTAL.

Autor

María José Domper Arnal

Director/es

Dr. D. Ángel Lanas Arbeloa  
Dr. D. Ángel Ferrández Arenas

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**  
Escuela de Doctorado

2021



Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología



UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA  
U. Z.

**Evaluación de la proteína Granzima A como marcador diagnóstico,  
pronóstico y de respuesta al tratamiento en pacientes con Cáncer  
Colorectal**

**M<sup>a</sup>José Domper Arnal**

**Director y tutor: Prof. Ángel Lanas Arbeloa**

**Co-director: Dr. Ángel Ferrández Arenas**

**Memoria presentada por Dña M<sup>a</sup>José Domper Arnal para optar al título de Doctora en  
Medicina por la UZ**

2021

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del Instituto de Salud Carlos III (Contrato de investigación CM19/00094), el CIBER de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd), el Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (Contrato de investigación Post-FSE. Grupo GIIS027 de investigación traslacional en patología digestiva) y el Gobierno de Aragón mediante la concesión de subvenciones a la actividad investigadora (Grupo de referencia en patología digestiva B25\_20R).

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría ser breve en este apartado debido a la tendencia habitual en mí en ser prolija y extensa en mis comentarios, como bien evidencia la longitud de este trabajo.

En primer lugar, quiero dar las gracias a mis directores de tesis, el Dr A. Lanas, una referencia para mí que siempre me acompañará a lo largo de toda mi carrera, y el Dr A. Ferrández, tutor de residencia y compañero, por apoyarme en este camino tan largo y complicado para mí. De igual manera, querría tener una mención especial al Dr J. Pardo por su ayuda incondicional, así como a su equipo, destacando a la Dra Ll. Santiago.

También quiero agradecer su inestimable ayuda al servicio de anatomía patológica del HCULB, liderado por la Dra MT Ramirez, con especial cariño al Dr G. Muñoz. Así mismo, agradezco toda la ayuda proporcionada por A. Gallur desde el IACS.

Qué decir de la inestimable aportación de la Dra P. Carreras. Tu paciencia no tiene límite y tu ayuda es imprescindible.

Gracias a todo el servicio de aparato digestivo del HCULB por formarme, ayudarme, empujarme, confiar en mí, motivarme y hacerme feliz en mi trabajo y fuera de él. Quiero mencionar al Dr MA Simón por su incansable papel de “padre postizo” en todos estos años. Igualmente agradezco su labor, apoyo y compañía en multitud de momentos a todo el personal de enfermería, auxiliar, administración ...del servicio de digestivo y nombro con especial alegría a todos los residentes que me acompañaron en mi formación y a todos los que me siguen acompañando ahora, así como al personal de investigación del servicio, sin los cuales la labor médica en este ámbito sería imposible.

Hay un sitio especial en estos agradecimientos para todos mis amigos y amigas, familia que se elige, y que son uno de los mayores pilares de mi vida. No puedo nombrar a todos porque seguro que sería incapaz de ponerme freno, pero los imprescindibles SIEMPRE estáis allí.

Por último, quiero agradecer de manera muy especial el cariño, compañía, comprensión y ayuda que ha tenido conmigo toda mi familia, especialmente mi madre, M<sup>a</sup>Jesús, símbolo de la lucha incansable de una mujer en este mundo y espejo donde mirarme.

## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

ASTs: adenomas serrados tradicionales

ASS/Ps: adenomas serrados sésiles

ADCC: antibody-dependent cellular cytotoxicity

AEG: asociación española de gastroenterología

AJCC: american joint committee on cancer

ACV: accidente cerebro-vascular

AP: anatomía patológica

Breg: linfocitos B reguladores

BSA: bovine serum albumine

CCR: cáncer colorectal

CCRHNP: cáncer colorectal hereditario no polipósico

CIMP: CpG island methylator pathway

CMS: consensus molecular subtypes

CRM: circumferential resection margin

CEA: antígeno carcino-embriionario

CSC: cancer stem cells

CEICA: comité ético de investigación clínica de Aragón

CMBD: conjunto mínimo básico de datos

CT: centro tumoral

CAS: cytolytic activity score

DSE: disección submucosa endoscópica

DFS: disease-free survival

DCs: dendritic cells

DSS/AOM: dextran sulfate sodium/azoxymethane



DAB: diaminobencidina

EMVI: extramural venous invasion

EUS: ecoendoscopia

EGFR: epidermal growth factor receptor

EMT: epithelial-mesenchymal transition

ECM: extracellular matrix

GZMs: granzimas

GZMA: granzima A

GZMB: granzima B

HCULB: hospital clínico universitario Lozano Blesa

HRP: flex horseradish peroxidase

NHC: número de historia clínica

INC: inestabilidad cromosómica

IMS: inestabilidad de microsatélites

IHQ: inmunohistoquímica

IAM: infarto agudo de miocardio

IACS: instituto aragonés de ciencias de la salud

IIS: instituto de investigación sanitaria

IMC: índice de masa corporal

KO: knock out

LARC: locally advanced rectal cancer

LTc: linfocitos T citotóxicos

LPS: lipopolisacaridos

MAPK: mitogen-activated protein kinase

MRF: mesorectal fascia

MSS: microsatellite-stable

MSI-H: microsatellite instability-high

MHC: major histocompatibility complex

MDSCs: myeloid-derived suppressor cells

MI: margen invasivo

NK: natural killer

OS: overall survival

OC: osteoclastos

PAF: poliposis adenomatosa familiar

PSs: pólipos serrados

PHs: pólipos hiperplásicos

PMVH: pólipos microvesiculares hiperplásicos

PET: tomografía por emisión de positrones

p CR: pathological complete response

PFS: progression-free survival

PD-1: programmed cell death receptor-1

PGE2: prostaglandina E2

PRF1: perforina1

QRT: quimioradioterapia

QT: quimioterapia

RME: resección mucosa endoscópica

RMI: resonancia magnética

RT: radioterapia

ROS: reactive oxygen species

RA: rheumatoid arthritis

RT: room temperature

SOHi: sangre oculta en heces inmunológica

SCPRT: short course preoperative radiotherapy

TGFb: transforming growth factor beta

TEM: microcirugía endoscópica transanal

TAMIS: cirugía transanal mínimamente invasiva

TME: total mesorectal excision

Treg: linfocitos T reguladores

UC: ulcerative colitis

VEGF: vascular endothelial growth factor

WT: wild type

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1. INTRODUCCIÓN AL CÁNCER COLORECTAL</b> .....	1
1.1.1. EPIDEMIOLOGIA DEL CÁNCER COLORECTAL. INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD .....	1
1.1.2. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE CÁNCER COLORECTAL .....	4
1.1.3. PATOGÉNESIS DEL CÁNCER COLORECTAL .....	6
1.1.4. DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER COLORECTAL .....	15
1.1.5. HISTORIA NATURAL Y ESTADIAJE DEL CÁNCER COLORECTAL .....	21
1.1.6. MANEJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DEL CÁNCER COLORECTAL .....	24
1.1.7. SEGUIMIENTO TRAS EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORECTAL CON INTENCIÓN CURATIVA .....	39
<b>1.2. INTRODUCCIÓN A LA INMUNOBIOLOGÍA</b> .....	40
1.2.1. INFLAMACIÓN Y CÁNCER .....	40
1.2.2. FAMILIA DE LAS SERÍN-PROTEASAS: GRANZIMAS .....	42
1.2.3. GRANZIMA A .....	53
<b>2. HIPÓTESIS DE TRABAJO</b> .....	57
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	58
<b>3.1. OBJETIVOS PRIMARIOS</b> .....	58
<b>3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS</b> .....	58
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	59
<b>4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO</b> .....	59
<b>4.2. POBLACIÓN A ESTUDIO</b> .....	59
4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	59
4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	59
<b>4.3. REGISTRO DE LA INFORMACIÓN Y FUENTES DE DATOS</b> .....	60
4.3.1. REGISTRO DE PACIENTES CON CCR DE LA UNIDAD DE ENDOSCOPIAS DEL HCULB 60	
4.3.2. DATOS DE HISTORIA CLÍNICA ELECTRÓNICA INTRAHOSPITALARIA .....	61
4.3.3. REGISTRO DE MORTALIDAD DE ARAGÓN .....	61
4.3.4. BASE DE DATOS EPICOLON .....	61
<b>4.4. VARIABLES A ESTUDIO</b> .....	62
4.4.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS RELACIONADAS CON EL PACIENTE.....	62
4.4.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO Y ESTADIAJE DEL CCR .....	64

4.4.3.	VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA .....	65
4.4.4	VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO DEL CCR.....	66
4.4.5	VARIABLES RELACIONADAS CON LA IHQ DE GRANZIMA A .....	67
4.4.6	VARIABLES RELACIONADAS CON LA EVOLUCIÓN Y EL PRONÓSTICO DEL CCR ...	69
<b>4.5</b>	<b>DESARROLLO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>71</b>
4.5.1	RECOGIDA DE INFORMACIÓN .....	71
4.5.2	EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS DEL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y PROCESADO DE LAS MISMAS .....	72
4.5.3	IHQ GRANZIMA: PUESTA A PUNTO DE LA TÉCNICA (PRIMERAS 100 MUESTRAS) Y AMPLIACIÓN POSTERIOR DEL TAMAÑO MUESTRAL .....	74
4.5.4	IHQ GZMA: ESTUDIO DE CONCORDANCIA INTER-OBSERVADOR (34 muestras).	76
<b>4.6</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>77</b>
<b>4.7</b>	<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>80</b>
<b>5.1</b>	<b>RESULTADOS DESCRIPTIVOS POR PACIENTE.....</b>	<b>81</b>
<b>5.2</b>	<b>RESULTADOS DESCRIPTIVOS POR TUMOR .....</b>	<b>84</b>
5.2.1	VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CCR.....	84
5.2.2	VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA .....	86
5.2.3	VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO DEL CCR.....	88
<b>5.3.</b>	<b>RESULTADOS EN RELACIÓN AL OBJETIVO PRIMARIO NÚMERO 1 .....</b>	<b>90</b>
5.3.1.	RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO SANO – PERITUMORAL (n=202).....	93
5.3.2.	RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO SANO – TUMORAL (n=201).....	94
5.3.3.	RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO PERITUMORAL-TUMORAL (n=236) .....	94
<b>5.4.</b>	<b>RESULTADOS EN RELACIÓN A OBJETIVO PRIMARIO NÚMERO 2.....</b>	<b>95</b>
5.4.1.	DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL DIAGNÓSTICO DE CCR.....	95
5.4.2.	DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL TIPO DE TRATAMIENTO ADMINISTRADO AL PACIENTE CON CCR Y LA RESPUESTA AL MISMO.....	101
5.4.3.	DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL PRONÓSTICO DE CCR .....	101
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>128</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>149</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>150</b>
<b>9.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>220</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. INTRODUCCIÓN AL CÁNCER COLORECTAL

#### 1.1.1. EPIDEMIOLOGIA DEL CÁNCER COLORECTAL. INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD

El cáncer colorectal (CCR) supone aproximadamente el 10% de todos los cánceres diagnosticados, así como un porcentaje similar de las muertes totales por cáncer en la población mundial (1,2). Es el segundo cáncer más frecuentemente diagnosticado en mujeres y el tercero en hombres. En mujeres, la incidencia y mortalidad del CCR es un 25% menor que en hombres. Las mayores tasas de incidencia y mortalidad se registran en países con alto nivel de desarrollo económico (2,3). En los países desarrollados el cribado del CCR y las mejoras en el tratamiento del mismo han reducido la incidencia y mortalidad considerablemente, aunque las tasas se mantienen relativamente altas con una tasa de incidencia ajustada por edad de 30,8 casos por cada 100.000 habitantes/año y una tasa de mortalidad ajustada por edad de 10,6 casos por 100.000 habitantes/año (las tasas a nivel mundial son de 19,7 y 8,9, respectivamente) (4,5). Por otro lado, se ha observado un aumento del número de casos de CCR diagnosticados en menores de 50 años, principalmente localizados en el recto y en el colon izquierdo (2,6-9) (Figura 1).

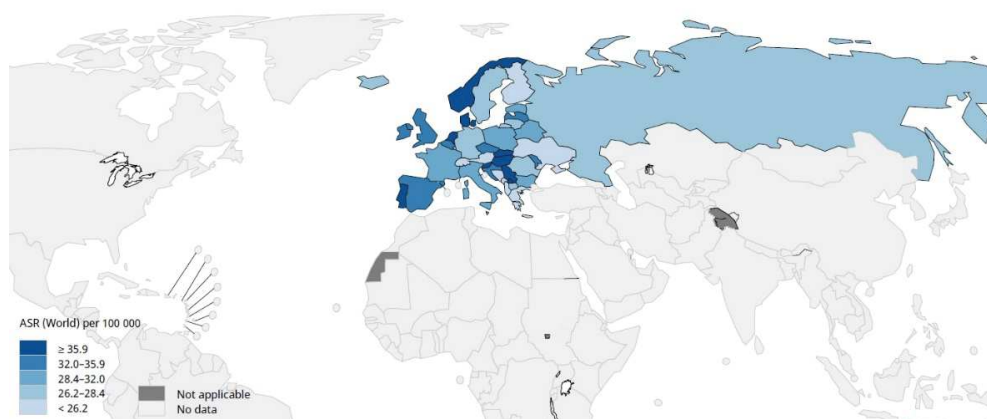


Figura 1.a

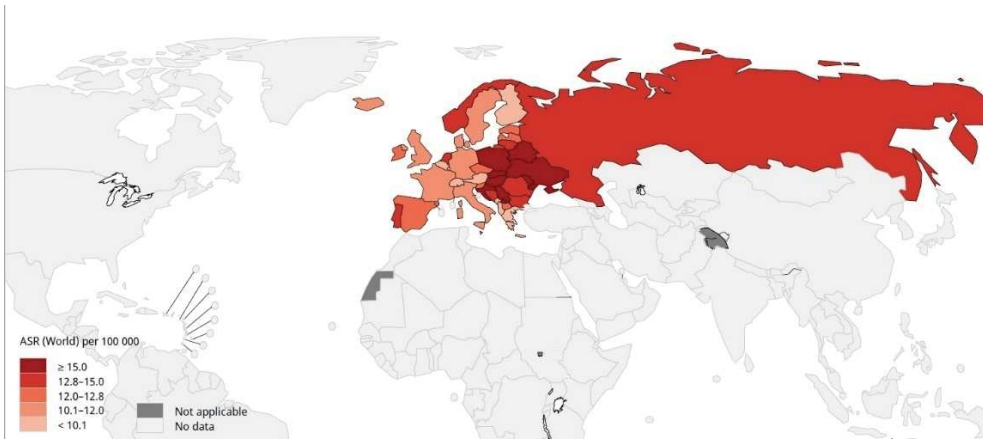


Fig 1.b

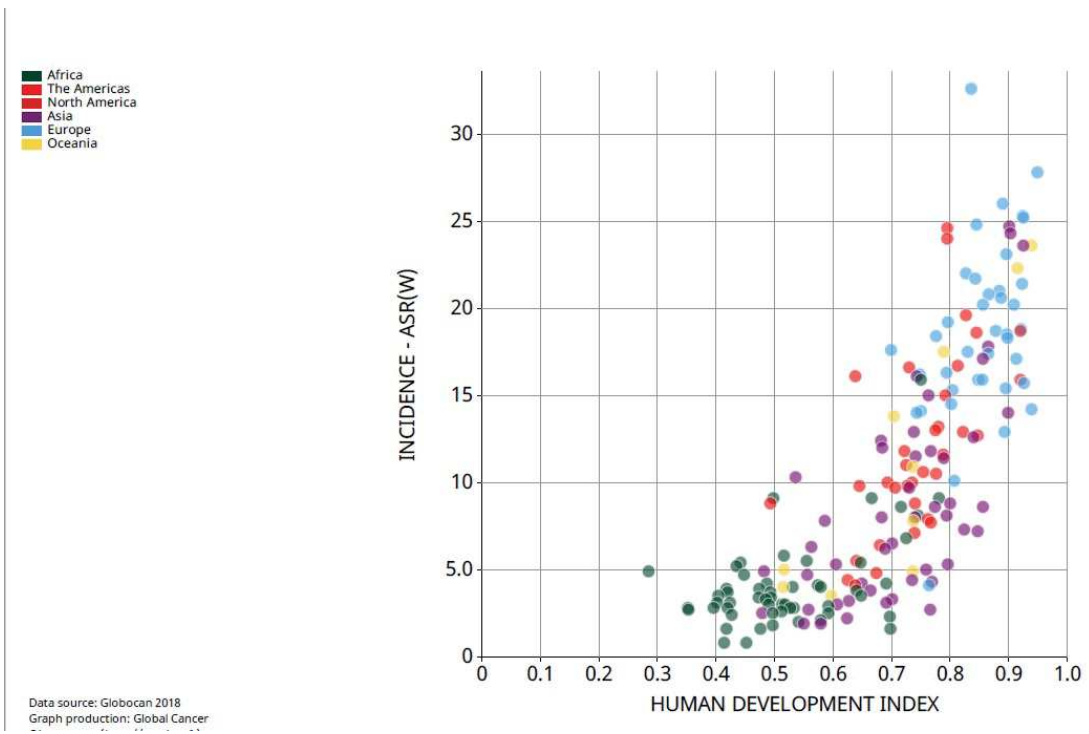
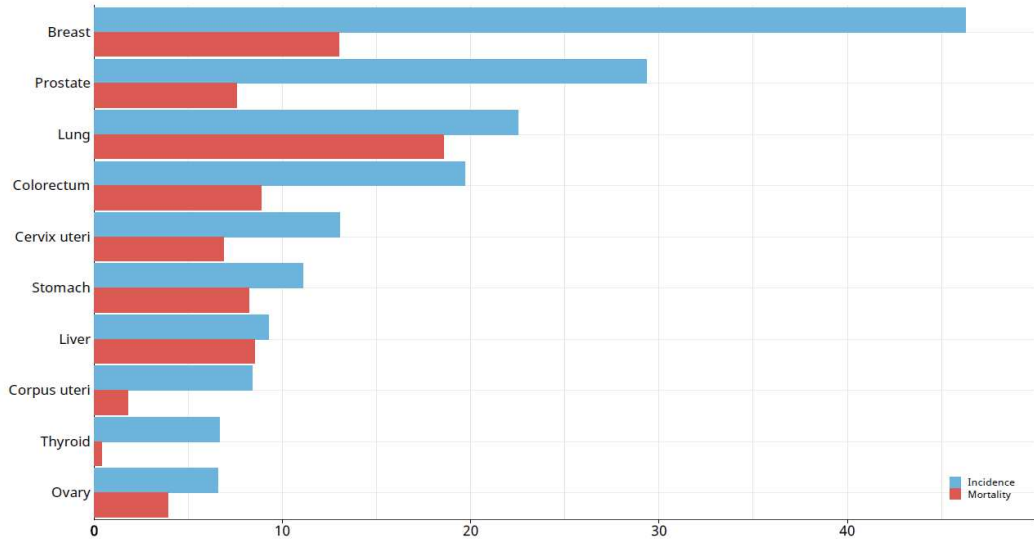
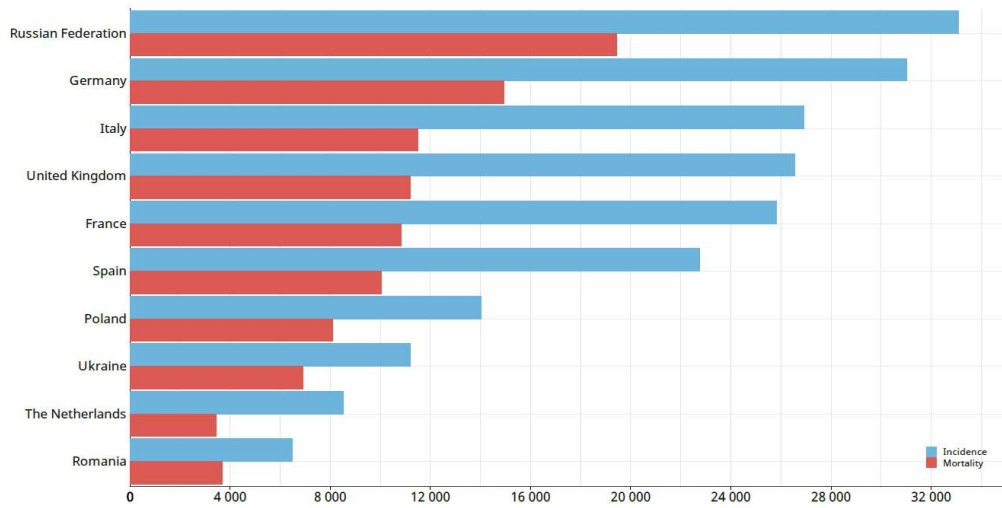


Fig 1.c

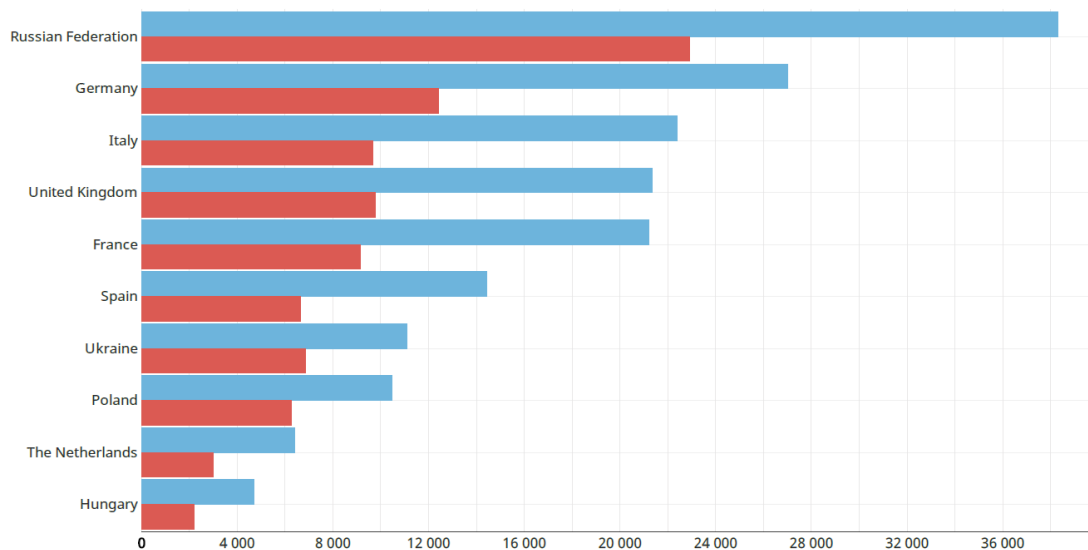


1.d



1.e





1.f

Fig 1: Epidemiología descriptiva del CCR. Fig 1.a: Tasas de incidencia ajustadas por edad a nivel mundial en 2018, para el cancer colorectal, ambos sexos, todas las edades. Fig 1.b: Tasas de mortalidad ajustadas por edad a nivel mundial en 2018, para el cancer colorectal, ambos sexos, todas las edades. Fig 1.c: Tasas de incidencia ajustada por edad (mundo) por 100.000 habitantes/año Vs Índice de desarrollo humano. Datos para cancer colorectal en 2018, ambos sexos, todas las edades. Fig 1.d Tasas de incidencia y mortalidad ajustadas por edad a nivel mundial en 2018 de los cánceres más frecuentemente diagnosticados. Datos para ambos sexos y todas las edades. Fig 1.e Tasas de incidencia y mortalidad ajustadas por edad a nivel mundial en 2018 para CCR. Datos para sexo masculino y todas las edades. Fig 1.f. Tasas de incidencia y mortalidad ajustadas por edad a nivel mundial en 2018 para CCR. Datos para sexo femenino y todas las edades. Datos extraídos de GLOBOCAN 2018(5).

ASR: Age-standardized rate; ASR (W): Age-standardized rate (World)

### 1.1.2.FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE CÁNCER COLORECTAL

En estudios epidemiológicos el sexo masculino y la edad se han demostrado como dos factores de riesgo independientes para el desarrollo de CCR. Existen factores hereditarios y ambientales que también juegan un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad. Basado en estudios en gemelos y estudios de familiares se estima que la heredabilidad del CCR podría estar en el rango del 12 al 35% de los casos(2,10). Aproximadamente el 25 % de los pacientes con CCR tiene una historia familiar de la enfermedad sin un componente de síndrome genético claro.

Sólo el 5% de los casos de CCR son atribuidos a un síndrome genético claro como el cancer colorectal hereditario no polipósico (CCRHNP o syndrome de Lynch) o la poliposis adenomatosa familiar (PAF). Estas enfermedades están causadas por una mutación germinal hereditaria que a pesar de ser una mutación rara tiene una penetrancia muy alta en su expression genética (gen MLH1 en caso del Sd lynch y gen APC en caso de PAF) (11). Procedentes de estudios en los que se secuencian todo el genoma humano, se han identificado mutaciones más comunes pero con una penetrancia genética mucho menor asociadas a un mayor riesgo de desarrollo de CCR, que, en conjunto, explican menos del 1% de todos los casos de CCR con componente hereditario (4,11,12) (Figura 2). Desde otro punto de vista, los pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas del colon y aquellos con historia personal de adenomas o CCR tienen un riesgo aumentado de desarrollo de CCR y requieren una vigilancia adecuada en función de dicho riesgo(2,13-15).

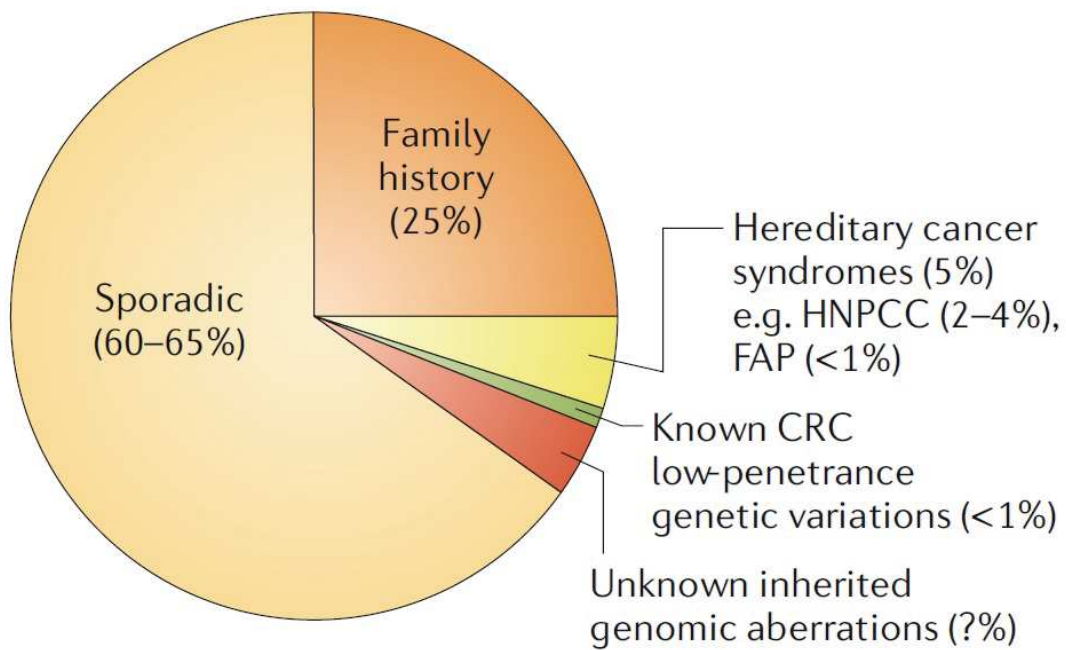


Fig2: Proporción de CCR asociados a factores esporádicos y hereditarios(4). HNPCC: Hereditary non-polyposis colorectal cancer; FAP: Familial adenomatous polyposis; CRC: colorectal cancer

Existen muchos factores de riesgo ambientales modificables que aumentan el riesgo de desarrollo de CCR como son el tabaco (16), el consumo excesivo de alcohol(17), el sobrepeso-obesidad (18)y el consumo en la dieta de carne roja y/o procesada(19). Aunque la diabetes mellitus tipo 2 y el CCR tienen factores de riesgo comunes para su desarrollo (como la obesidad

y la inactividad física), los individuos con DM tipo 2 mantienen un aumento del riesgo de desarrollo de CCR tras corregir el riesgo por esos factores comunes a ambas patologías (20). Estudios de la microbiota cólica sugieren que la presencia de ciertas especies bacterianas como *Fusobacterium nucleatum* y *Bacteroides fragilis*, pueden aumentar el riesgo de desarrollo de CCR(2,21-24) (Figura 3).

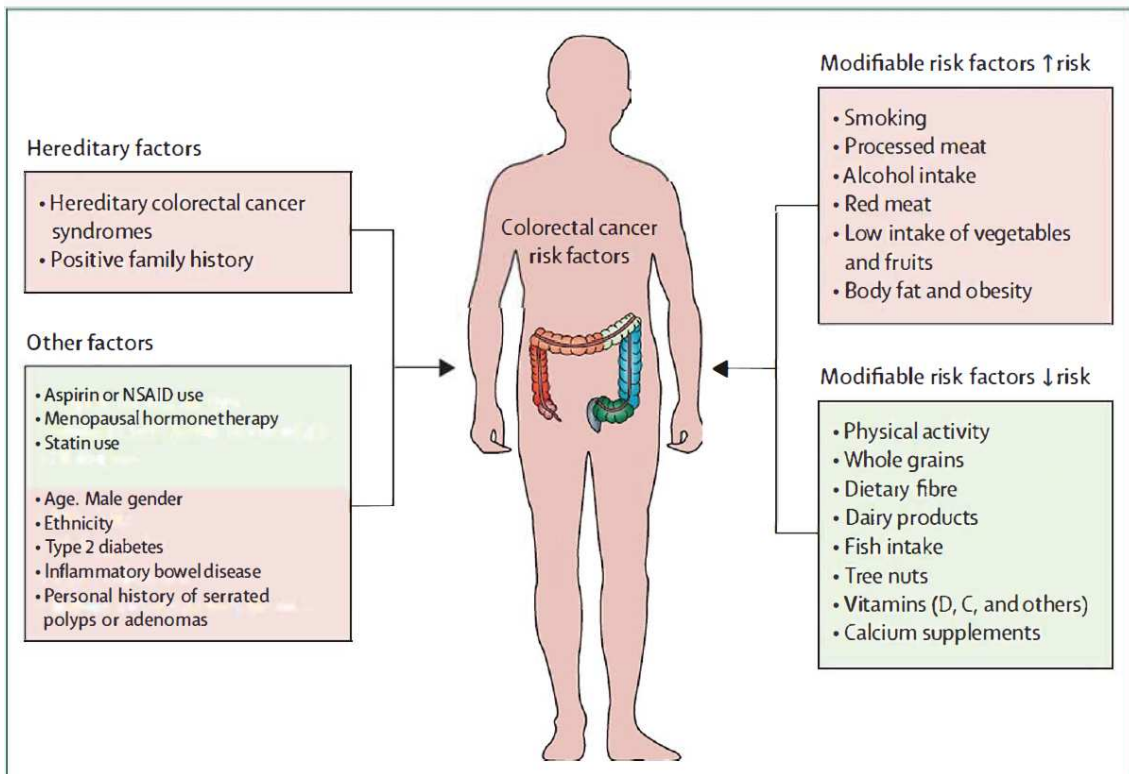


Fig 3: Factores de riesgo modificables y no modificables que aumentan o disminuyen el riesgo de desarrollo de CCR. Modificado de (2).

### 1.1.3.PATOGÉNESIS DEL CÁNCER COLORECTAL

#### 1.1.3.1. PRECURSORES

La mayoría de los CCR provienen de la degeneración de una lesión precursora previa en forma de pólipo. Este proceso comienza con el desarrollo de focos de criptas aberrantes glandulares en el seno de la lesión precursora, y un porcentaje de casos termina por desarrollar un CCR con el paso de un período de entre 10 a 15 años. La célula que se considera originaria del desarrollo de la mayoría de CCR es una célula madre o una célula que se comporta como tal(25,26). Estas

células madre cancerígenas son el resultado de un acúmulo de mutaciones genéticas y epigenéticas que inactivan genes supresores de tumores o activan oncogenes. Las células madre cancerígenas se encuentran en la base de las criptas cólicas y son esenciales para la iniciación y el mantenimiento del tumor (2,25,26).

Los pólipos adenomatosos (adenomas) y los pólipos serrados son los subtipos más frecuentes de lesiones precursoras de CCR (27). Los adenomas representan el subtipo clásico de desarrollo de CCR porque aproximadamente el 85-90% de los CCR esporádicos provienen de dichas lesiones precursoras (27). A pesar de ello, menos del 10% de los adenomas progresan a CCR (27). Los adenomas avanzados ( $\geq 1$  cm de diámetro mayor, con componente vellosos o con displasia de alto grado), con o sin multiplicidad ( $\geq 3$  adenomas) poseen un riesgo superior de desarrollo de CCR (30–50%) comparados con los adenomas no avanzados (1%)(27). El riesgo de desarrollo de CCR en una lesión adenomatosa avanzada es mayor cuanto mayor es la edad a la que se detecta dicha lesión (28).

Los pólipos serrados (PSs) representan un grupo heterogéneo de lesiones (pólipos hiperplásicos (PHs), adenomas serrados tradicionales (ASTs), adenomas serrados sesiles (ASS/Ps) y polipos mixtos) que combinan la apariencia morfológica en “dientes de sierra” de los pólipos hiperplásicos y las características displásicas de los adenomas. Estos pólipos son los precursores de aproximadamente el 10-15% de los CCR (27). Un subgrupo de polipos serrados (especialmente grandes y/o localizados en el colon proximal) pueden progresar a CCR como parte de la vía serrada a través de la degeneración de las lesiones precursoras tipo ASTs o ASS/Ps (4,29,30).

#### 1.1.3.2. VÍAS DE CARCINOGENESIS

El cáncer colorectal es una enfermedad muy heterogénea desde el punto de vista del desarrollo tumoral, así como en su comportamiento posterior. Debido a la presencia o ausencia de varias alteraciones genéticas y epigenéticas, cada CCR posee un perfil molecular tumoral único (31). Hasta hace poco, los adenomas parecían ser las únicas lesiones precursoras del CCR, generándose a través de la vía tradicional de desarrollo del CCR adenoma-carcinoma, la cual presenta una sucesión de mutaciones genéticas consecutivas ya descritas por Fearon y Vogelstein en 1990(32-34).

Actualmente existen varias vías descritas que culminan con el desarrollo del CCR. De entre ellas, la vía de la inestabilidad cromosómica (INC), la vía de inestabilidad de microsatélites (IMS) y la vía de metilación de las islas CpG (CpG island methylator pathway (CIMP)), también conocida como la vía serrada, son las más conocidas y estudiadas(34-36) (Figura 4).

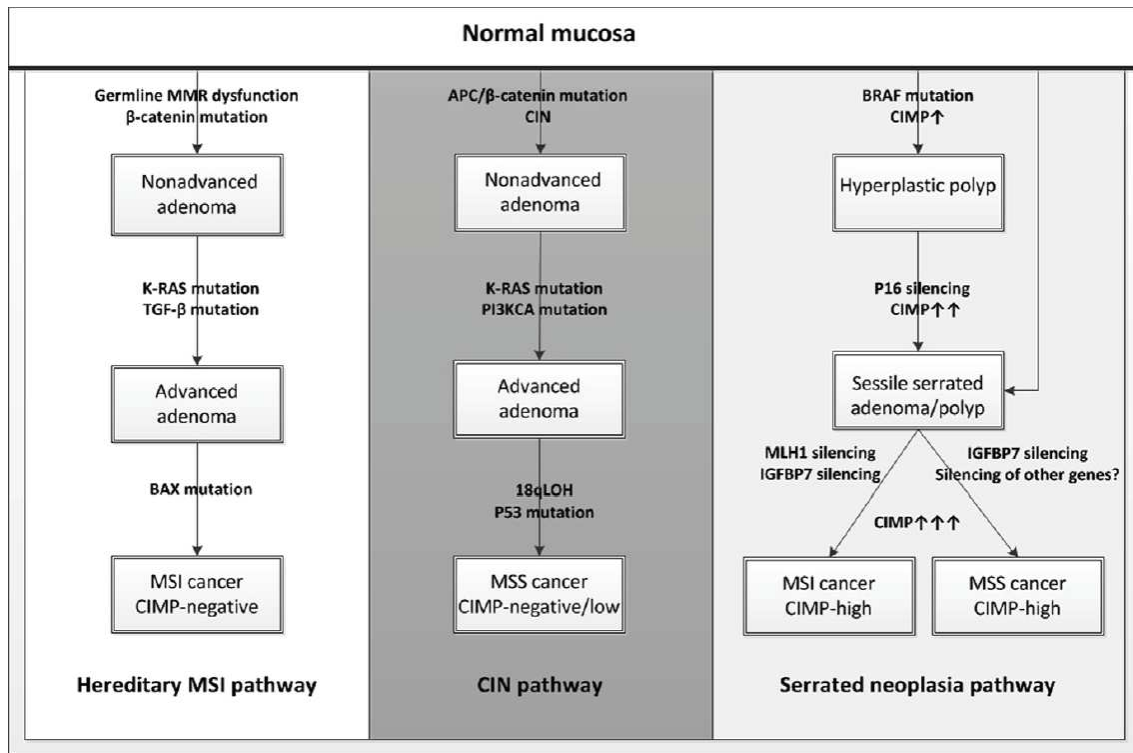


Fig 4: Modelo de las vías oncológicas de desarrollo de CCR más estudiadas.(34) MMR: Mismatch repair;TGF: Transforming Growth Factor; MSI: Microsatellite Instability; CIMP: CpG island methylator pathway; CIN: Chromosomal Instability; MSS: Microsatellite stability.

El proceso de oncogénesis que se genera a través de estas vías puede, sin embargo, no estar completamente separado y producirse superposiciones o cruces entre las mismas.

### **Vía de la inestabilidad cromosómica (INC)**

La vía de la INC es la vía mas conocida y mejor categorizada como vía de desarrollo del CCR y se basa en la degeneración neoplásica de adenomas cólicos. Se estima que aproximadamente el 70% de los CCR se desarrollan a través de esta vía (37,38). La vía de la INC hace referencia a cambios numéricos por pérdida o ganancia de cromosomas que resultan en un cariotipo celular

anómalo (aneuploidía) y consecuentemente pérdida de la heterocigosidad de los genes (39). El tiempo total para el desarrollo tumoral mediante la vía de INC se calcula en torno a unos 10 o 15 años (34,40).

El punto de inicio del desarrollo de CCR a través de la vía de INC se considera en la mutación con pérdida de función (inactivación) del gen supresor tumoral *APC*, cuya consecuencia es la sobreactivación de la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, desencadenándose una proliferación celular anómala y el consecuente desarrollo de adenomas cólicos (41). Posteriormente mutaciones en el oncogen *KRAS* promueven el crecimiento del adenoma cólico y la mutación del gen supresor tumoral *P53* contribuye a la progresión hacia CCR (4,42)(Figura 5).

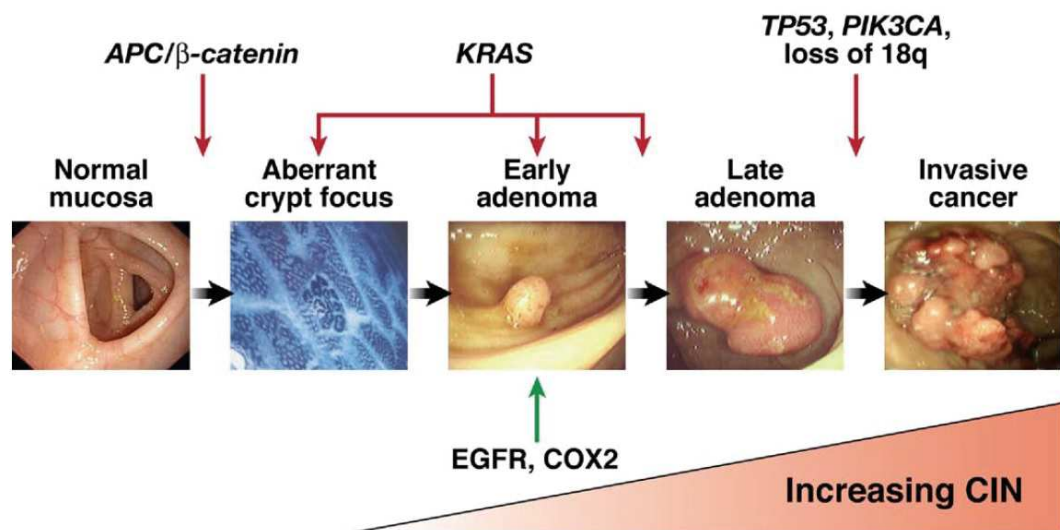


Fig 5: Modelo de INC para el desarrollo de CCR a través de la secuencia consecutiva de mutaciones genéticas descritas en la vía clásica (37). EGFR: Epidermal growth factor receptor; COX2: Cyclooxygenase2; CIN: Chromosomal Instability.

### Vía de la inestabilidad de microsatélites (IMS)

La segunda vía de desarrollo de CCR más estudiada es la vía de IMS. Alrededor del 15% de los CCR presentan IMS (38). De estos tumores, aproximadamente el 20% tiene una causa hereditaria y asientan en pacientes con una mutación germinal en uno de los genes reparadores del ADN,

el síndrome de Lynch(43). El otro 80% de los casos de CCR con IMS se debe a una hipermetilación en la zona promotor del gen *human MutL homologue (hMLH) 1* , un gen que forma parte del grupo de genes reparadores del ADN(36).Esta hipermetilación se debe a una alteración epigenética esporádica la cual es la base del desarrollo de lo que actualmente se conoce como la vía serrada de carcinogenesis del CCR (34) (Figura 6).

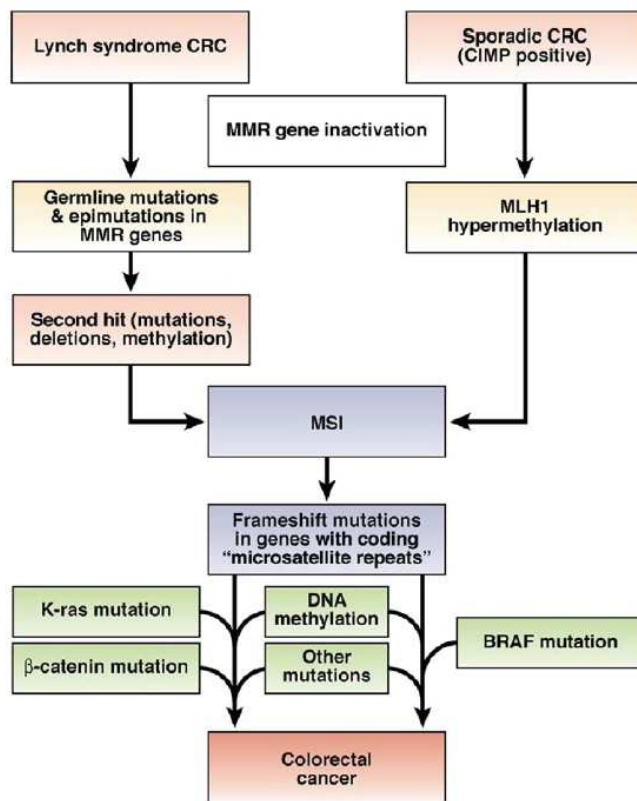


Fig 6: Vías moleculares de desarrollo de CCR asociadas a la IMS(36).CRC: colorectal cáncer; MMR: Mismatch repair; MSI: Microsatellite Instability; DNA: deoxyribonucleic acid; CIMP: CpG island methylator pathway.

La clasificación molecular del CCR influye en el pronóstico y tratamiento de los pacientes con CCR. Existe evidencia que sugiere que los pacientes con IMS alta, a pesar de tener una histología desfavorable (como por ejemplo ser tumores peor diferenciados y con componente mucinoso), tienen un pronóstico mejor que los pacientes con CCR que no presentan IMS alta (RR de mortalidad por cualquier causa: 0.60, 95% CI 0.53–0.69)(36,44). Aunque los pacientes con IMS alto pueden no responder a la quimioterapia adyuvante basada 5 fluoracilo (44), se consideran muy buenos candidatos para la inmunoterapia con moléculas dirigidas a puntos diana de células

del sistema inmunitario (como PD-1 (*programmed cell death protein 1*) o CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4*))(4,45).

### **Vía serrada de desarrollo del CCR (CIMP (*CpG island methylator*))**

Los PSs se dividen en PHs, ASS/Ps y ASTs (46). Parece que los ASS/Ps son los principales precursores del desarrollo de CCR a través de la vía serrada, responsable de aproximadamente el 15-30% de los CCR (38,47,48). Los ASTs también se consideran premalignos y tienen una oncogénesis similar pero son lesiones muy raras en cohortes de pacientes asintomáticos(49,50). Muchos estudios han comparado el perfil molecular de los adenomas tradicionales, PSs y CCRs y han detectado una alta correlación entre los PSs y un subtipo concreto de CCRs (51-53). Este hecho ha derivado en la propuesta de una vía de desarrollo de CCR a través de una secuencia multi-paso en la que se parte de una zona de mucosa cólica normal, pasando por los polipos microvesiculares hiperplásicos (PMVH), ASS/Ps sin displasia, ASS/PSs con displasia y finalmente al desarrollo de CCR (54). En esta vía, todavía no está claro si los ASS/Ps se pueden formar directamente desde la mucosa cólica normal sin el paso intermedio de PMVH. Se propone una temporalidad desde el origen del ASS/Ps hasta hasta el desarrollo de CCR de alrededor de 15 años, basado en estudios transversales que usan algoritmos informáticos (55).

El punto principal para el desarrollo oncogénico en la vía serrada es la hipermetilación de las islas CpG en la region promotor de los genes supresores de tumores lo que supone una silenciación de los mismos (56). El grado de metilación es una manera de describir el estado de una lesión de tal forma que puede haber lesiones con un fenotipo CIMP-alto, bajo o negativo (57). La hipermetilación y subsecuente silanciación del gen de reparación del ADN hMLH1 es un paso principal en la secuencia de oncogénesis de los tumores CIMP-alto que conlleva una disfunción de los genes reparadores del ADN e inestabilidad de microsatélites, comparable a lo que ocurre cuando existe una mutación germinal de hMLH1 en el síndrome de Lynch (58). El silenciamiento de MLH1 es un evento importante, aunque no imprescindible en la oncogénesis del CCR a través de la vía serrada. Se ha demostrado que la mutación del oncogen BRAF es otro punto clave en la genesis de la vía serrada del CCR (59). El oncogene BRAF forma parte de la cascada molecular del MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) y está regulado por la actividad del K-RAS. La mutación del BRAF supone una alteración similar a la que se produce con la mutación del K-RAS en la vía clásica de generación de CCR a través de los adenomas cólicos, de tal forma que se produce una proliferación celular incontrolada(60). Otras alteraciones moleculares descritas en la vía serrada son por ejemplo la silenciación de los genes supresores tumorales p16 y IGFB7 (34,61,62) (Figura 7).



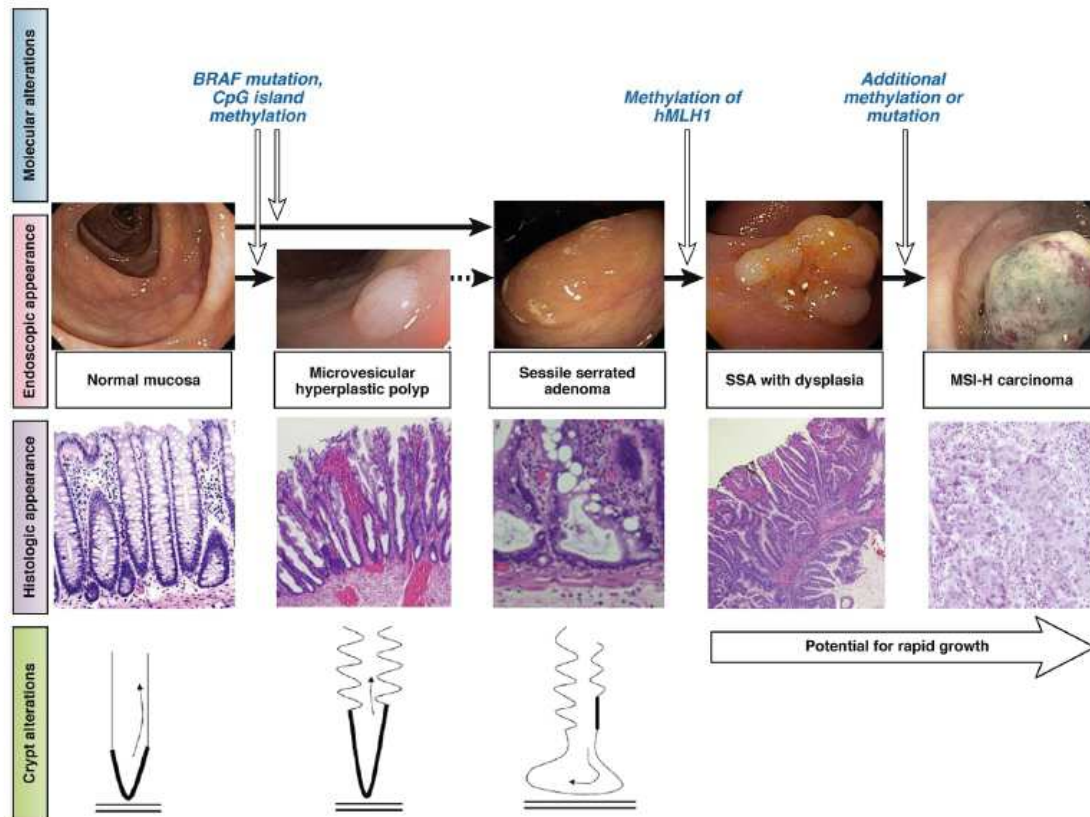


Fig 7. Representación esquemática del desarrollo de CCR CIMP-alto con IMS a través de la vía serrada de oncogénesis con metilación del gen MLH1 (63).

### 1.1.3.3. COLON IZQUIERDO Vs COLON DERECHO

Tradicionalmente, los subtipos de CCR se han definido por su localización anatómica en tres segmentos: Colon proximal (ciego, colon ascendente, ángulo hepático y colon transversal), colon distal (ángulo esplénico, colon descendente y colon sigmoide) y recto.(64). Las diferencias que pueden existir entre los CCR en función de su localización pueden ser debidas, en parte al menos, a las variaciones en la microbiota y en el huésped a lo largo de la longitud del colon, ya que, desde el colon proximal hasta el recto, de manera progresiva, existe un incremento en el pH, en la carga microbiana y en la cantidad de ácidos grasos de cadena corta (principalmente derivados del metabolismo microbiano) y esto podría tener distintas implicaciones en la génesis del CCR en función de su localización (65). El cáncer de colon proximal es más prevalente en mujeres

que en hombres (34% versus 25%, respectivamente, en una cohorte prospectiva europea de CCR)(66) y esta proporción aumenta con la edad (35% para <60 años hasta 60% para ≥70 años en EEUU)(67). De igual forma, los subtipos moleculares de CCR difieren en función de la localización del mismo (68). Los subtipos moleculares IMS – alta CIMP-alta son más frecuentes en colon proximal, mientras que los subtipos INC son predominantes en colon distal y el recto (4,68).

La localización anatómica del CCR también tiene importancia en el CCR metastásico ya que es un predictor de respuesta a la terapia con fármacos anti-EGFR (2,69)(Figura 8).

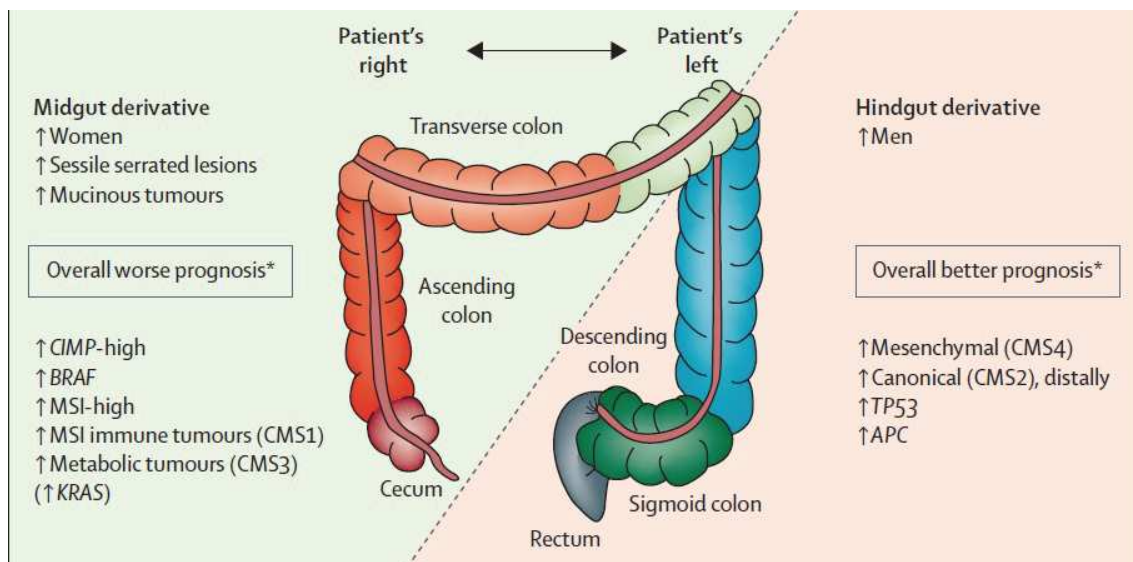


Fig 8: Diferencias entre el CCR en función de su localización anatómica(2). CIMP: CpG island methylator pathway; MSI: Microsatellite Instability; CMS: consensus molecular subtypes.

#### 1.1.3.4. CONSENSUS MOLECULAR SUBTYPES (CMS)

Existen varias clasificaciones propuestas para definir los subtipos moleculares del CCR. En 2007, Jass propuso una clasificación con 5 subtipos moleculares de CCR en función de la combinación del estatus IMS, CIMP y la presencia de mutaciones en BRAF o K-RAS(38). En 2015, el *Colorectal Cancer Subtyping Consortium* presentó 4 subtipos moleculares de CCR catalogados como *consensus molecular subtypes* (CMS) basados en la expresión genética de esta neoplasia(4,70).

El subtipo IMS\_BRAF de la vía serrada del desarrollo de CCR se corresponde plenamente con la expresión genética del subtipo CMS1 o subtipo inmune. En este grupo, los tumores presentan un extenso infiltrado inflamatorio y son tumores con IMS, CIMP y presencia de mutación en BRAF, concretamente la mutación BRAFV600E. Por el contrario, el mayor porcentaje de CCR (70%) con mutaciones en los genes APC, TP53 y K-RAS y con la presencia de INC ha sido dividido en 3 CMS diferentes: El CMS2 o subtipo canónico es aquel que representa la vía clásica de genesis del CCR con INC y activación de la vía de señalización WNT (33); el CMS3 o subtipo metabólico presenta con mucha frecuencia mutaciones en el gen K-RAS lo que supone una disregulación de procesos metabólicos. Estos tumores son generalmente CIMP-bajos; el CMS4 o subtipo mesenquinal, presenta una proporción elevada de células estromales y activación de procesos de transición epitelio-mesenquinal (*epithelial– mesenchymal transition (EMT)*), angiogenesis, activación del factor de crecimiento transformante beta (*transforming growth factor-b (TGFB)*) y remodelaje dela matriz extracelular (70,71)(Tabla 1).

Tabla 1: *Consensus molecular subtypes (CMS) del CCR.*

	<b>CMS1</b>	<b>CMS2</b>	<b>CMS3</b>	<b>CMS4</b>
Frequency	14%	37%	13%	23%
Tumour location	proximal	distal	proximal or distal	distal
Precursor polyp	sessile serrated	adenomatous	serrated or adenomatous	adenomatous
DNA sequence stability	MSI	MSS	MSS or MSI	MSS
DNA methylation	CIMP-H	no CIMP	CIMP-L	no CIMP
Chromosome number	stable	CIN	stable or CIN	CIN
Mutated genes	BRAF	APC, TP53	KRAS	
Pathway signature	immune activation	WNT and MYC	metabolic deregulation	TGF- $\beta$ , mesenchymal

CMS: Consensus molecular subtypes;DNA: deoxyribonucleic acid; MSI: Microsatellite Instability; CIMP: CpG island methylator pathway (H:High/L:Low); MSS: Microsatellite stability; CIN: Chromosomal Instability; TGFb: transforming growth factor-b(72).

Cabe destacar que a pesar de la clasificacion anterior un 13% de los CCR esporádicos no pueden ser clasificados como ninguno de los subtipos CMS descritos debido a que presentan características combinadas de los mismos (72).

Esta clasificación CMS ha sido evaluada como factor pronóstico o predictivo en el CCR con la esperanza de encontrar diferencias que puedan justificar el uso de diferentes tratamientos en

función del subtipo molecular (2). En este contexto, el subtipo molecular CMS4 se ha detectado como un subtipo de CCR más resistente al anticuerpo monoclonal Cetuximab, un tratamiento anti- EGFR usado en el estadio metastásico del CCR, de tal forma que los pacientes con subtipo de CCR CMS4 no se beneficiarían del tratamiento con anti-EGFR independientemente del estado mutacional del K-RAS (71,73). A pesar de lo anteriormente comentado, una revisión sistemática publicada en 2018 concluyó que el valor pronóstico y la aplicabilidad de la clasificación CMS del CCR no era lo suficientemente óptima como para que fuese implementada en la práctica clínica real de manera rutinaria (4,74).

#### 1.1.4. DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER COLORECTAL

##### 1.1.4.1. DIAGNÓSTICO EN PACIENTES ASINTOMÁTICOS

###### 1.1.4.1.1. *SCREENING* DEL CCR EN POBLACIÓN GENERAL-RIESGO MEDIO

El objetivo del cribado del CCR es identificar lesiones preneoplásicas y neoplásicas precoces para realizar un tratamiento temprano de la enfermedad y de esta forma mejorar el pronóstico de la misma. Los pacientes asintomáticos con cáncer de colon frecuentemente presentan pérdidas ocultas de sangre procedentes de la lesión cólica, pérdidas que aumentan con el tamaño del tumor y el grado de ulceración del mismo(24).

El test de sangre oculta en heces inmunológico (SOHi) está diseñado para detectar hemoglobina humana en heces y no se afecta por la dieta o medicaciones concomitantes (24,75-78). El SOHi es un test cuantitativo y el punto de corte se establece en función de cada programa de cribado local y la disponibilidad de procedimientos endoscópicos (79,80).

La última guía clínica publicada por la Asociación Española de Gastroenterología (AEG) aconseja en nuestro medio y en consonancia con las directrices establecidas, realizar el cribado poblacional del CCR con el test de SOHi cuantitativo de manera bienal a la población sin factores de riesgo entre los 50 y los 75 años de edad. Se aconseja obtener una cobertura universal de la población de riesgo medio. En caso de resultado positivo en el test de SOHi, se realizará una colonoscopia como método de cribado definitivo, cumpliendo con los estándares de calidad (limpieza adecuada, intubación cecal y tiempo de retirada no inferior a los 6-8 min)(8).

###### 1.1.4.1.2. *SCREENING* DEL CCR EN POBLACIÓN DE ALTO RIESGO

Existen grupos de pacientes con un riesgo mayor de desarrollo de CCR (Cuadro 1). Este grupo de pacientes precisa, en la mayoría de ocasiones, una colonoscopia de cribado como prueba de

elección, siendo el uso de SOHi limitado a casos concretos. De igual forma, de manera general, el cribado se realiza a una edad más temprana que en la población de riesgo medio y con unos intervalos de seguimiento más estrechos entre colonoscopias (Tabla 2) (24).

Cuadro 1: Categorías de riesgo para el desarrollo de CCR

<p><b>Increased Risk</b>          Personal history of CRC          Personal history of adenoma*          Family history of sporadic CRC†          Family history of sporadic adenoma†</p> <p><b>High Risk</b>          Hereditary nonpolyposis CRC (Lynch syndrome)          Polyposis syndromes:              Familial adenomatous polyposis (FAP)              Attenuated FAP              MYH-associated polyposis              Peutz-Jeghers syndrome              Turcot's syndrome              Muir-Torre syndrome              Juvenile polyposis syndrome              Hyperplastic polyposis syndrome          IBD (UC, Crohn's disease)‡</p>
---

CRC: colorectal cáncer; IBD: Inflammatory bowel disease; UC: Ulcerative colitis.

Tabla 2: Resumen de las guías de cribado de CCR para **población de riesgo alto**.

Risk Category	Time or Age to Begin Surveillance	Recommended Test(s)	Comment
<b>Persons at High Risk</b>			
Genetic diagnosis of FAP or suspected FAP without genetic testing evidence	Age 10 to 12 yr	Annual FSIG to determine if the patient is expressing the genetic abnormality and counseling to consider genetic testing	If the genetic test is positive, colectomy should be considered
Genetic or clinical diagnosis of Lynch syndrome or persons at increased risk of Lynch syndrome	Age 20 to 25 yr or 10 yr before the youngest case in the immediate family	Colonoscopy every 1 to 2 yr and counseling to consider genetic testing (see Chapter 126)	Genetic testing for Lynch syndrome should be offered to first-degree relatives of persons with a known inherited DNA MMR gene mutation; it should also be offered when the family mutation is not known but when 1 or more of the first 3 of the modified Bethesda Criteria (see Box 127-3) is present
IBD (UC and Crohn's colitis)	8 yr after the onset of pancolitis or 12-15 yr after the onset of left-sided colitis	Colonoscopy with biopsies for dysplasia (see Chapters 115 and 116)	Every 1-2 yr

FAP: familial adenomatous polyposis; IBD: Inflammatory bowel disease; UC: Ulcerative colitis; FSIG: flexible sigmoidoscopy; DNA: deoxyribonucleic acid; MMR: mismatch repair (24,81).

Recientemente, en nuestro ámbito nacional, existen cambios en la descripción del concepto de **CCR familiar** todavía no plenamente establecidos en la práctica clínica habitual. El CCR familiar engloba un subgrupo de pacientes con antecedentes familiares de CCR y/o adenoma avanzado que por su edad de presentación o relación interpersonal tienen un riesgo incrementado de desarrollo de CCR. En la actualidad debería considerarse bajo el concepto de CCR familiar a los pacientes con antecedentes familiares de 1º grado de CCR y/o adenoma avanzado, en número de al menos dos, independientemente de la edad de los mismos. Estos pacientes deben comenzar el cribado de CCR a los 40 años o 10 años antes del familiar afecto más joven, mediante colonoscopia de cribado con una periodicidad de 5 años. Fuera de este supuesto, el resto de pacientes con antecedentes familiares de CCR y/o adenomas actualmente deberían entrar a formar parte de la categoría de grupo de riesgo medio iniciando el cribado poblacional de CCR con SOHi bienal a la edad de 50 años (8).

El riesgo de desarrollo de CCR en función de la **historia personal de adenomas cólicos** varía en función del tamaño, las histología y el número de lesiones (82,83)(Figura 9).

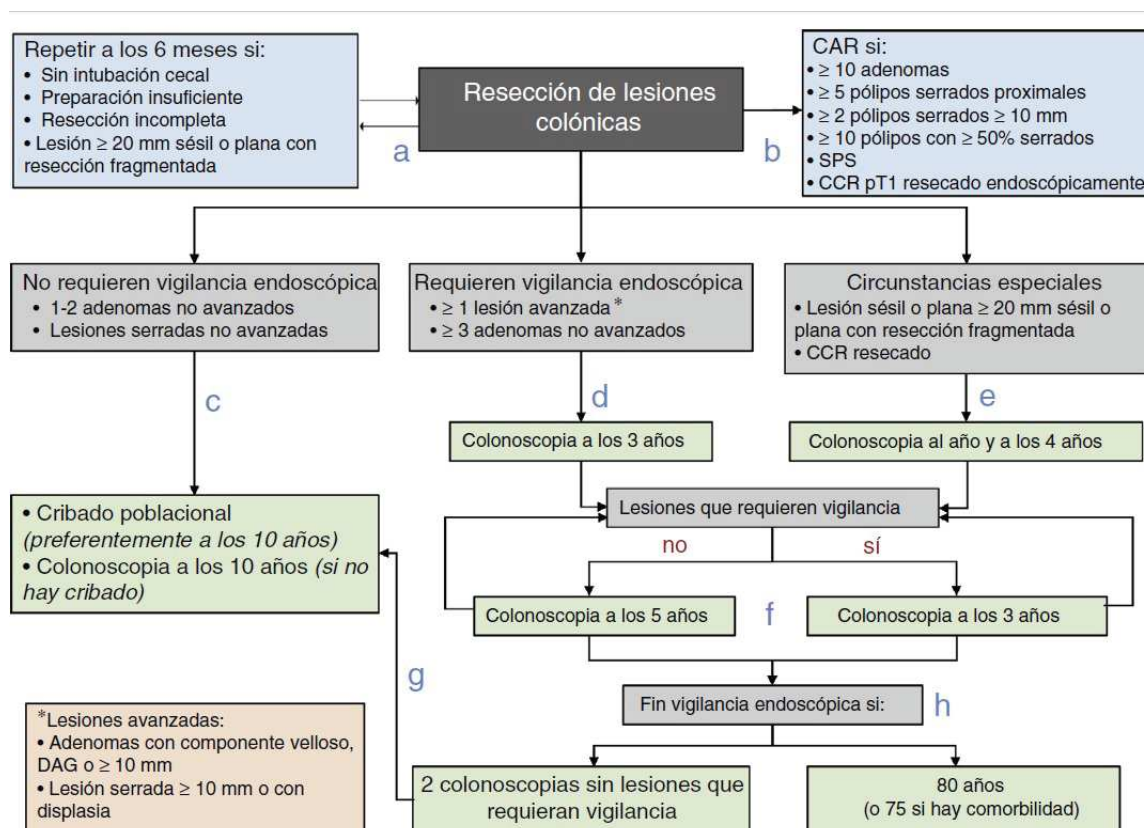


Fig 9: Seguimiento post-polipectomía (82,83). CAR: consulta de alto riesgo; SPS: síndrome de poliposis serrada; CCR: cáncer colorrectal; DAG: displasia de alto grado.

Durante el año 2020 la guía europea de endoscopia digestiva ha actualizado según la evidencia disponible la indicación de colonoscopia de seguimiento tras resección de pólipos cólicos. Los cambios más relevantes son que actualmente debería realizarse vigilancia endoscópica a los 3 años únicamente a lesiones adenomatosas mayores o iguales a 10 mm o con DAG o reseçadas en número de 5 o más. El componente vellosa de los adenomas ya no se considera de riesgo en estas lesiones. El resto de adenomas que no cumplan estas características deben ir a cribado poblacional. Respecto a los pólipos serrados las recomendaciones no han cambiado en relación a la evidencia disponible (84).

#### 1.1.4.2. DIAGNÓSTICO EN PACIENTES SINTOMÁTICOS

El CCR crece lentamente y puede estar presente desde 5 años o más antes de que los síntomas aparezcan. Los síntomas dependen en gran medida de la localización del tumor primario. Los cánceres de colon proximal por norma general tienen un diámetro cólico mayor donde crecer y es por ello que son tumores de mayor tamaño al diagnóstico. La anemia ferropénica y su sintomatología derivada (disnea, angina, astenia...) también se han descrito como parte de un cuadro típico de presentación de tumores de lado derecho del colon, siendo menos frecuente la presencia de hematoquecia como expresión objetiva del sangrado. Conforme el tumor crece, puede producir dolor abdominal sordo, discomfort abdominal o masa palpable. La obstrucción cólica no es un síndrome frecuente en cánceres del lado derecho del colon, debido a su mayor diámetro en dicha localización, aunque los cánceres de ciego, si engloban la válvula ileo-cecal pueden causar síntomas de obstrucción de intestino delgado. En el colon izquierdo, la luz cólica tiene un diámetro menor y es por ello que frecuentemente los cánceres de colon descendente y sigma producen síntomas obstructivos al englobar toda la circunferencia cólica. Los pacientes se presentan con mucha frecuencia con síntomas como dolor cólico post-ingesta y cambios en el ritmo deposicional. El estreñimiento se puede alternar con deposiciones diarreicas de escasa cantidad 2º a la obstrucción cólica. La hematoquecia es más frecuente que en los cánceres del lado derecho del colon y la rectorragia también puede verse en cánceres de colon izquierdo y sobre todo rectales. El cáncer rectal es frecuente que cause obstrucción y cambios en el ritmo deposicional, así como tenesmo rectal. De igual forma, pueden invadir órganos próximos como la vejiga de la orina, la pared vaginal o los tejidos nerviosos adyacentes, produciendo, por lo último, un dolor perineal o sacro que suele presentarse en estadios avanzados. La astenia, anorexia y pérdida de peso (al menos el 10% del peso total en los últimos 6 meses) conocidos en conjunto como síndrome paraneoplásico, son síntomas secundarios al aumento de catabolismo y pueden ser comunes al CCR en cualquiera de sus localizaciones(24).

#### 1.1.4.3. HALLAZGOS ENDOSCOPICOS

Aunque la distribución anatómica del CCR varía considerablemente según las series, en un estudio realizado en nuestro medio(85) la mayoría de los CCRs se localizaron en recto (37%) y sigma (31%), siendo menos frecuentes en colon ascendente (9%), ciego (8%), colon descendente (5%), colon transverso (4%), ángulo hepático (4%) y ángulo esplénico (2%) (86).

La colonoscopia se considera el “*gold standar*” para el diagnóstico de CCR. La detección mediante colonoscopia de lesiones neoplásicas avanzadas es relativamente sencilla, pero detectar el CCR precoz es más complejo, debido a que puede aparecer como lesiones mucosas que pasan desapercibidas. Para asegurar la detección de las lesiones precoces, se requiere una correcta y cuidadosa inspección de toda la mucosa cólica y por tanto una correcta preparación del colon. Estos, y otros factores, como la tasa de detección de adenomas por endoscopista, se asocian con el riesgo de aparición de CCR post-colonoscopia y son usados como marcadores de calidad (2,87-89).

La morfología macroscópica del CCR depende del segmento del colon donde se desarrolle. Los cánceres de colon proximal, particularmente los localizados en ciego y colon ascendente, tienden a ser lesiones grandes y voluminosas de tal forma que en ocasiones superan su propia capacidad de irrigación sanguínea y sufren necrosis espontáneas. Las lesiones localizadas en colon distal y recto con frecuencia abarcan toda la circunferencia del colon y producen una obstrucción de la luz. Estos tumores pueden, de igual manera, ulcerarse, y ocasionalmente tienen una apariencia plana con una mayor extensión lesional a lo largo de la profundidad de la pared del colon(24) (Figura 10).

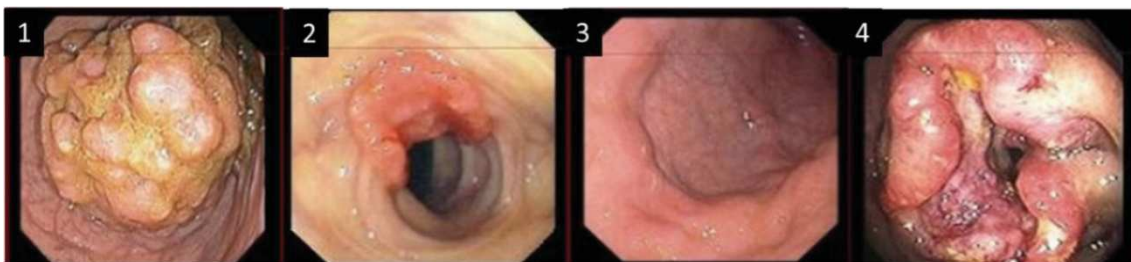


Fig 10: Variables macroscópicas del CCR: la visión por endoscopia. 1) CCR exofítico o polipoideo; la neoplasia crece hacia la luz intestinal 2) CCR endofítico o ulcerado; la neoplasia crece fundamentalmente en el espesor de la pared intestinal 3) CCR infiltrante difuso (linitis plástica); la neoplasia presenta un crecimiento predominantemente intramural 4) CCR anular; hay afectación de toda la pared intestinal y constricción de la luz intestinal(86).



#### 1.1.4.4. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO

La histología sigue siendo la base para el estadiaje y manejo del CCR. Además, la clasificación TNM, el subtipo histológico, el grado de diferenciación celular, y la valoración histológica de la invasión linfática, perineural o venosa, asociado a una nueva batería de marcadores tumorales, forma parte de la la práctica clínica habitual (2,90-93).

La pared del colon está formada por las siguientes capas superpuestas: mucosa, submucosa, muscular propia y serosa. A su vez, la mucosa está formada por tres capas: epitelio, lámina propia y una fina capa de músculo liso llamada "*muscularis mucosa*" que separa la mucosa de la submucosa. El epitelio del colon es un epitelio cilíndrico simple que se organiza formando las denominadas criptas de Lieberkühn (Figura 11). Dichas criptas son glándulas tubulares simples constituidas principalmente por células absortivas cilíndricas, células caliciformes encargadas de secretar moco que lubrica el tránsito del contenido intestinal y, en menor medida, por células neuroendocrinas. El epitelio asienta sobre la membrana basal la cual lo separa de la lámina propia. Esta última está constituida por un tejido conectivo laxo que contiene capilares, vasos linfáticos, linfocitos, macrófagos y finas estructuras nerviosas que irrigan e inervan el epitelio (86).

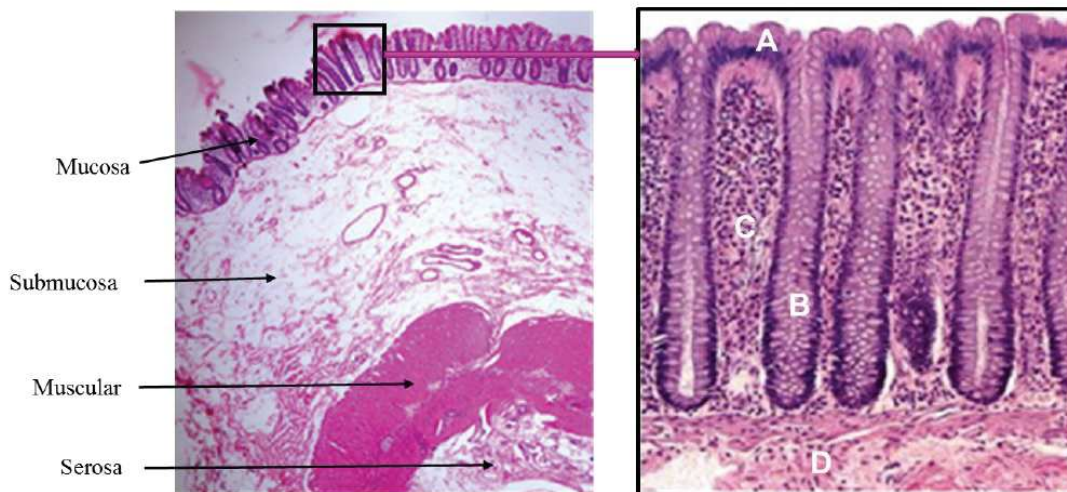


Fig 11: Imagen izquierda: Estructura de la pared del colon. Imagen derecha: Estructura de la mucosa cólica. A: Epitelio, B: Cripta de Lieberkühn, C: Lámina propia, D: "*Muscularis mucosa*"(86).

Los carcinomas del colon son característicamente adenocarcinomas moderadamente o bien diferenciados que secretan cantidades variables de mucina (24). Según el porcentaje de estructuras glandulares que contenga el adenocarcinoma se subclasifica en:

- a) *Bien diferenciado*, cuando más del 95% de la neoplasia está formado por estructuras glandulares(G1).
- b) *Moderadamente diferenciado*, cuando el porcentaje de estructuras glandulares representa el 50 – 95% de la neoplasia(G2).
- c) *Pobrementemente diferenciado*, cuando el porcentaje queda comprendido entre el 5 y el 50% de la neoplasia (G3).
- d) *Indiferenciado*, cuando el componente glandular es inferior al 5%(G4).

Los adenocarcinomas colorrectales que contienen más de un 50% de estructuras glandulares (bien moderadamente diferenciados) son denominados adenocarcinomas de bajo grado (G1-G2) mientras que aquellos con un porcentaje de estructuras glandulares inferior al 50% (poco diferenciados e indiferenciados) son considerados como adenocarcinomas de alto grado (G3-G4)(86,90).

Las células en “anillo de sello” donde habitualmente el núcleo celular está desplazado por una vacuola de mucina citoplasmática son características de ciertos subtipos celulares agresivos de CCR. Los carcinomas de colon del subtipo histológico no adenocarcinoma son raros, y suponen menos del 5% del total de CCR. Los tumores que asientan en la unión ano-rectal incluyen tumores de extirpe escamosa, tumores de estirpe transicional (cloaca fetal) y melanomas. Los linfomas primarios del colon y los tumores carcinoides del colon aportan menos del 0.1% de las neoplasias a este nivel (24).

#### 1.1.5.HISTORIA NATURAL Y ESTADIAJE DEL CÁNCER COLORECTAL

Los cánceres colorectales surgen como lesiones intramucosas, generalmente sobre lesiones polipoideas degeneradas. Conforme el CCR crece, se convierte en una lesión invasiva, atraviesa la “*muscularis mucosae*” del tubo digestivo e invade los linfáticos y vasos sanguíneos, para con posterioridad anidar en los ganglios linfáticos loco-regionales, estructuras anatómicas adyacentes y órganos a distancia. El mecanismo de diseminación tumoral depende del segmento del colon donde asiente la lesión, así como de la irrigación linfática y sanguínea del mismo.

Los cánceres de recto, invaden de manera local con una invasión en profundidad progresiva en la pared rectal. La invasión linfovascular y sanguínea es muy rara sino se ha producido una afectación tumoral en profundidad más allá de la “*muscularis mucosae*” salvo en tumores pobremente diferenciados muy agresivos. Debido a que el recto es un segmento del intestino relativamente inmóvil y no dispone de serosa, los cánceres de recto tienden a diseminarse por contigüidad. De igual modo, debido a que el tercio inferior del recto tiene una doble vascularización de origen portal y sistémica, los tumores que asientan en esta localización pueden metastatizar de manera hematológica a través de la vena hemorroidal superior y del sistema portal al hígado o, a través de la vena hemorroidal media y la vena cava, a los pulmones, los huesos o el cerebro.

Los cánceres de colon tienen un comportamiento de invasión transmural y afectan con preferencia los ganglios linfáticos loco-regionales, para con posterioridad invadir ganglios a distancia. El hígado, es el sitio más frecuente de diseminación hematológica (a través del sistema venoso portal), y desde dicha localización la enfermedad puede afectar de igual manera a los pulmones(24).

La “*American Joint Committee on Cancer*” (AJCC) introdujo el sistema TNM de estadiaje del CCR, el cual clasifica la enfermedad en función de la extensión del tumor primario (T), el estado de afectación linfática (N) y la presencia o ausencia de metástasis (M)(24,94)(Tabla 3-4).

Tabla 3: Clasificación TNM del CCR.

TNM Clinical Classification	
<b>T—Primary tumour</b>	
TX	Primary tumour cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : invasion of lamina propria <sup>a</sup>
T1	Tumour invades submucosa
T2	Tumour invades muscularis propria
T3	Tumour invades subserosa or into non-peritonealised pericolic or perirectal tissues
T4	Tumour directly invades other organs or structures <sup>b,c,d</sup> and/or perforates visceral peritoneum
T4a	Tumour perforates visceral peritoneum
T4b	Tumour directly invades other organs or structures
<b>N—Regional lymph nodes</b>	
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node metastasis
N1	Metastasis in 1–3 regional lymph nodes
N1a	Metastasis in 1 regional lymph node
N1b	Metastasis in 2–3 regional lymph nodes
N1c	Tumour deposit(s), i.e. satellites, <sup>e</sup> in the subserosa, or in non-peritonealised pericolic or perirectal soft tissue <i>without</i> regional lymph node metastasis
N2	Metastasis in 4 or more regional lymph nodes
N2a	Metastasis in 4–6 regional lymph nodes
N2b	Metastasis in 7 or more regional lymph nodes
<b>M—Distant metastasis</b>	
M0	No distant metastasis
M1	Distant metastasis
M1a	Metastasis confined to one organ (liver, lung, ovary, non-regional lymph node(s)) without peritoneal metastases
M1b	Metastasis in more than one organ
M1c	Metastasis to the peritoneum with or without other organ involvement

Estadaje TNM AJCC-UICC. 8º edición. 2017 (94).

Tabla 4: Estadaje del CCR.

Stage	T	N	M
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1, T2	N0	M0
Stage II	T3, T4	N0	M0
Stage IIA	T3	N0	M0
Stage IIB	T4a	N0	M0
Stage IIC	T4b	N0	M0
Stage III	Any T	N1, N2	M0
Stage IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stage IIIB	T1, T2	N2b	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
Stage IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stage IV	Any T	Any N	M1
Stage IVA	Any T	Any N	M1a
Stage IVB	Any T	Any N	M1b
Stage IVC	Any T	Any N	M1c

Estadaje TNM AJCC-UICC. 8º edición. 2017(94).

La clasificación TNM es el indicador, considerado de manera aislada, más importante en el manejo del cáncer colorectal y se considera imprescindible para evaluar el pronóstico en estos pacientes y por tanto decidir su tratamiento, pero no es el único factor a tener en cuenta en la evaluación global de esta enfermedad(24) (Tabla 5).

Tabla 5: Factores anatomopatológicos, moleculares y clínicos relacionados con el pronóstico del CCR (24).

Feature or Marker	Effect on Prognosis	Feature or Marker	Effect on Prognosis
<b>Pathologic</b>		<b>Molecular</b>	
<i>Surgical-Pathologic Stage</i>			
Depth of colon wall penetration	Increased penetration diminishes prognosis	Loss of heterozygosity at chromosome 18q ( <i>DCC</i> , <i>DPC4</i> )	Diminishes prognosis
Number of regional nodes involved by tumor	Greater number of involved nodes diminishes prognosis	Loss of heterozygosity at chromosome 17p ( <i>TP53</i> )	Diminishes prognosis
Positive circumferential resection margin	Diminishes prognosis	Loss of heterozygosity at chromosome 8p	Diminishes prognosis
Residual tumor after resection	Diminishes prognosis	Increased labeling index for p21WAF/CIP1 protein	Improves prognosis
Isolated microscopic tumor cells in regional lymph nodes	May diminish prognosis	Microsatellite instability	Improves prognosis
<i>Tumor Morphology and Histology</i>		Mutation in <i>BAX</i> gene	Diminishes prognosis
Degree of differentiation	Well-differentiated tumors have a better prognosis than poorly differentiated lesions	Mutation in <i>K-ras</i> codon 12 or 13	Lack of response to anti-EGFR therapy
Mucinous (colloid) or signet ring cell histology	Diminishes prognosis	<b>Clinical</b>	
Scirrhous histology	Diminishes prognosis	Diagnosis in asymptomatic patients	May improve prognosis
<i>Invasion</i>		Duration of symptoms	No demonstrated effect
Venous	Diminishes prognosis	Rectal bleeding as a presenting symptom	Improves prognosis
Lymphatic	Diminishes prognosis	Colon obstruction	Diminishes prognosis
Perineural	Diminishes prognosis	Colon perforation	Diminishes prognosis
<i>Other Features</i>		Tumor location	Prognosis may be better for colonic than for rectal tumors
Local inflammation and immunologic reaction	Improves prognosis		Prognosis may be better for left colonic than right colonic tumors
Tumor morphology	Polypoid or exophytic tumors have a better prognosis than ulcerating or infiltrating lesions	Age < 30 yr	Diminishes prognosis
Tumor DNA content	Increased DNA content (aneuploidy) diminishes prognosis	High preoperative CEA level	Diminishes prognosis
Tumor size	No effect in most studies	Distant metastases	Markedly diminishes prognosis
		Tumor regression grade	Complete eradication of tumor after preoperative therapy may improve prognosis

### 1.1.6.MANEJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DEL CÁNCER COLORECTAL

#### 1.1.6.1. PREMISAS SOBRE EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORECTAL. RESECCIÓN ENDOSCÓPICA. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO. EVALUACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA

El adenocarcinoma precoz se define como aquel que afecta a la mucosa y la submucosa. Cuando afecta a la submucosa, el riesgo de invasión linfática se sitúa en torno al 6,8-17,8% de los casos (95,96) riesgo que está relacionado con la profundidad de invasión en la submucosa (82). Algunos cánceres precoces pueden ser tratados de manera local exclusivamente. La incidencia

del CCR precoz se ha visto incrementada gracias a los programas de cribado. Tras el diagnóstico, los pólipos degenerados hacia CCR pueden researse endoscópicamente y de esta manera permitir una mejor evaluación de los signos relacionados con el pronóstico (invasión submucosa en profundidad, grado de diferenciación celular, invasión linfo-vascular y tumor “*budding*”) así como la presencia o no de invasión tumoral de los márgenes de resección laterales y en profundidad (2). En las lesiones neoplásicas con afectación de la submucosa reseadas mediante tratamiento local, el riesgo de invasión linfática cuando se cumplen los criterios de buen pronóstico es del 1,9% (Cuadro 2). A la hora de tomar decisiones se tiene que equilibrar este riesgo con el de la mortalidad asociada a la intervención quirúrgica, que se sitúa en el 0,5%. Esto implica que, si se cumplen los criterios de buen pronóstico el número necesario a intervenir para prevenir una muerte por CCR es de 208, por lo que el beneficio de una intervención quirúrgica en este contexto, es residual (82,97) (Figura 12).

Cuadro 2: Criterios histológicos de buen pronóstico en adenocarcinomas sobre pólipos con invasión de la submucosa: posibilidad de tratamiento local con RME, DSE, fullthickness, TEM, TAMIS en función de cada caso (morfología, tamaño, resecciones previas o no, localización).

*Extirpación en bloque*  
*Grado de diferenciación: bueno/moderado*  
*Ausencia de invasión linfática o vascular*  
*Distancia al margen de resección  $\geq 1$  mm del carcinoma*  
*Ausencia de budding (nidios tumorales)*  
*Grado de infiltración de la submucosa*  
*En pólipos planos y sésiles, infiltración de la submucosa  $\leq 1.000 \mu\text{m}$  (1 mm)*  
*En pólipos pediculados, clasificación de Haggitt 1 o 2 o con infiltración de la submucosa  $< 3$  mm*

Técnicas de resección local endoscópicas: RME=Resección mucosa endoscópica. DSE=Disección submucosa endoscópica. Fullthickness=Resección transmural endoscópica. Técnicas de resección local quirúrgicas: TEM=Microcirugía endoscópica transanal, TAMIS= Cirugía transanal mínimamente invasiva, técnica laparoscópica de puerto único transanal (82).

Pólipo resecado endoscópicamente con adenocarcinoma infiltrante			
Resección completa			Resección incompleta
			<ul style="list-style-type: none"> <li>– En caso de margen profundo afecto se recomienda CIRUGÍA</li> <li>– En caso de margen lateral afecto se puede valorar SEGUIMIENTO</li> </ul>
Bajo riesgo LMN	Riesgo medio LMN	Riesgo alto LMN	
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Bien/moderadamente diferenciado</li> <li>– Sésiles/planos: infiltración sm igual o menor a 1 mm</li> <li>– Pediculados: Haggitt 1-2 o invasión sm menor de 3 mm</li> <li>– No invasión linfática/vascular</li> <li>– Ausencia de Budding</li> <li>– Margen profundo mayor o igual a 1 mm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Sésiles/planos: infiltración sm entre 1001 y 2000 um</li> <li>– Pediculados: Haggitt 3 o invasión sm mayor de 3 mm</li> <li>– Budding de bajo grado</li> <li>– Margen profundo no valorable</li> <li>– Tamaño del CCR menor de 4 mm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Alto grado/pobremente diferenciado</li> <li>– Sésiles/planos: infiltración sm mayor de 2 mm</li> <li>– Pediculados: Haggitt 4 o invasión sm mayor de 3 mm</li> <li>– Invasión linfática/vascular</li> <li>– Budding de alto grado</li> <li>– Margen profundo menos de 1 mm</li> <li>– Tamaño del CCR mayor de 4 mm</li> </ul>	
	Comité multidisciplinar		
Vigilancia	Vigilancia o cirugía		

Fig 12. Manejo del CCR precoz con afectación de la submucosa. Escenarios de riesgo de afectación ganglionar en función de criterios anatomopatológicos. Sm: Submucosa(82,98).

La cirugía es el tratamiento considerado como curativo en el CCR. El objetivo de la cirugía es la resección amplia del segmento de colon afectado, incluyendo todos los ganglios linfáticos de drenaje de la zona. La extensión de la cirugía viene determinada por la distribución vascular del colon y por la distribución del drenaje linfático. La resección debe incluir un segmento de colon de al menos 5 cm de tejido sano a ambos lados del tumor, aunque a veces, son necesarios márgenes más amplios debido a la distribución de la ramificación vascular cólica. El número de ganglios linfáticos recuperados en la pieza quirúrgica resecada es un marcador de calidad de la cirugía oncológica a este nivel. La “AJCC “ y la “American College of Pathologists” recomiendan un mínimo de 12 ganglios sin afectación tumoral en la pieza quirúrgica para asegurar que se trata de un estadio II de CCR ( ausencia de afectación ganglionar)(24,94). Sigue existiendo controversia acerca de lo extensa que debe ser la linfadenectomía en estos pacientes, porque no existe evidencia clara de que una linfadenectomía más extensa (D3) sea superior a una linfadenectomía más conservadora (D2) en términos de supervivencia oncológica y, sin embargo, puede suponer mayor morbilidad(2,99). La laparoscopia se ha convertido en la técnica estándar para el tratamiento quirúrgico del CCR en la mayoría de países, con beneficios probados a corto plazo en ensayos clínicos controlados randomizados y en estudios poblacionales. De igual modo, no afecta a la supervivencia a largo plazo (2).

La cirugía del cáncer de recto es más compleja a nivel técnico debido a la dificultad de acceso a la zona. La escisión mesorectal total (*total mesorectal excision* ó TME) es la técnica oncológica estándar para el cáncer de recto y la extensión depende de si existe afectación de estructuras adyacentes, así como de los esfínteres (2). La TME consiste en la extirpación del mesorrecto intacto mediante disección en el plano avascular existente entre la fascia presacra y la fascia del propio recto (fascia mesorectal, *mesorectal fascia* ó MRF), una fina lámina que constituye el margen de resección circunferencial (*circumferential resection margin* ó CRM) (100).

Los CCR que provocan obstrucción pueden ser tratados en una o dos etapas. Los procedimientos en dos etapas incluyen una colostomía y una resección cólica (Cirugía de Hartmann), y en un segundo tiempo se procede al cierre de la ostomía y una anastomosis. La alternativa es un procedimiento único de colectomía subtotal y anastomosis ileo-rectal (pacientes con valvula ileo-cecal competente) o, en casos seleccionados, resecciones segmentarias de colon con anastomosis. El hecho de colocar una protesis cólica en neoplasias obstructivas de recto-sigma como terapia puente de la cirugía, puede permitir un mayor número de procedimientos en una sola etapa (101).

Dentro de la evaluación anatómo-patológica de la pieza quirúrgica, el estándar de evaluación debe incluir:

- La descripción morfológica macroscópica de la pieza.
- Procedimiento quirúrgico llevado a cabo.
- Definición de la localización tumoral y el tamaño.
- Descripción de la presencia o ausencia de perforación tumoral macroscópica.
- Tipo histológico y grado de diferenciación celular.
- Extensión del tumor en la profundidad de la pared intestinal y afectación o no de órganos adyacentes (Estadio T).
- Distancia desde el tumor a los márgenes de resección (proximal, distal y radial).
- Presencia o ausencia de depósitos tumorales.
- Presencia o ausencia de invasión linfocelular y/o perineural.
- Presencia o ausencia de "budding" tumoral.
- Localización y número de los ganglios linfáticos resecados y presencia o no de infiltración tumoral de los mismos (Estadio N).
- Describir si existe o no afectación tumoral de órganos a distancia en caso de resección o biopsia de los mismos (Estadio M) (101,102).



El cirujano, tiene la obligación de hacer referencia a la calidad de la resección tumoral y posteriormente debe ser clasificada mediante el sistema “R” en la evaluación de los márgenes de resección quirúrgica, siendo R0 resección sin ningún tipo de neoplasia residual micro ni macroscópica, R1 neoplasia residual microscópica y R2 neoplasia residual macroscópica(90,103).

El prefijo “c” del TNM hace referencia al estadiaje clínico, entendiendo como éste el estadiaje resultado del estudio inicial, y usando éste término frecuentemente en comparación frente al estadiaje anatomopatológico “p”. Como normal general los prefijos “p” e “yp” usados junto al TNM hacen referencia, respectivamente, al estadiaje anatomopatológico convencional en la pieza quirúrgica y al estadiaje anatomopatológico tras tratamiento neoadyuvante en pieza quirúrgica. La presencia de afectación linfática en la pieza quirúrgica se representa como L1, la afectación vascular como V1, y la afectación perineural como Pn1 (90,103).

#### 1.1.6.2. CÁNCER DE RECTO NO METASTÁSICO

Los tumores que se localizan a 15 cm o menos desde el margen anal se consideran tumores rectales, y los que se localizan a más de 15 cm desde el margen anal, cólicos. Los cánceres de recto bajos son aquellos localizados en el tercio inferior (hasta los 5 cm desde el margen anal), los de recto medio se localizan a mas de 5 y menos de 10 cm de margen anal y los de recto alto a mas de 10 cm y menos de 15 cm de margen anal (104).

Históricamente en el cáncer de recto, las tasas de recidiva local, tras resección con intención curativa, han sido del 9-32%. La TMEy la introducción de la quimiorradioterapia preoperatoria han conseguido reducir significativamente la recurrencia local. Son muchos los factores que impactan en dicha recurrencia, varios de los cuales de igual modo afectan a la supervivencia global, destacando el TNM anatomopatológico, el “subestadiaje” T3, la afectación o no del CRM, la cantidad de ganglios afectos, la presencia o no de depósitos extraganglionares, el grado de diferenciación tumoral, la presencia o no de invasión linfovascular y perineural, la presencia o no de extensión extracapsular y la presencia o no de invasión vascular extramural (*Extramural venous invasion* ó EMVI)(104).

#### 1.1.6.2.1. ESTUDIO DE EXTENSIÓN INICIAL

Tras el diagnóstico del cáncer de recto mediante endoscopia y biopsias de la lesión se debe realizar un estudio de extensión. Se debe realizar una analítica sanguínea con al menos, hemograma, función hepática y renal y antígeno carcino-embriionario (CEA). Se realizará de igual modo una TC de tórax y abdominal para valorar la presencia o no de metastasis a distancia. En caso de lesiones tumorales obstructivas, la realización de una colonoscopia virtual por colono-TC es importante para descartar la presencia de lesiones sincrónicas; si no se ha podido realizar una colono-TC previo a la cirugía en estos casos, se debe realizar una colonoscopia post-intervención en un máximo de 6 meses, por el mismo motivo. La realización de ecoendoscopia (EUS) transanal puede definir u orientar la elección de un tratamiento u otro en tumores precoces de recto, fundamentalmente para valorar si existe afectación o no de la submucosa y en tal caso valorar si es posible o no una resección local de la lesión (105). El valor de la EUS en cánceres de recto avanzados es mucho más limitado y está superado por el uso habitual de resonancia magnética (RMI) pélvica. La RMI es la prueba más precisa para definir la afectación loco-regional en los cánceres de recto. La RMI puede valorar la presencia de EMVI y determinar el subestadiaje T3, así como la distancia al CRM y de esta forma predecir el riesgo de recurrencia local, así como la probabilidad o no de metástasis a distancia sincrónicas o metacrónicas. La RMI se utilizará también para seleccionar los pacientes candidatos a cirugía curativa o no, así como para valorar la extensión de la misma. La realización de una tomografía por emisión de positrones (PET-TAC) puede proporcionar información adicional de afectación extra-pelviana en ciertos casos, sin embargo, su uso rutinario no está recomendado. Deberá realizarse en pacientes de alto riesgo de metástasis, como son, por ejemplo, la presencia de una extensa EMVI en la RMI o la presencia de altos niveles de CEA en los análisis. La realización de pruebas para valorar si existen o no metástasis oseas o cerebrales sólo se llevarán a cabo en presencia de síntomas sugestivos de afectación (104).

#### 1.1.6.2.2. ESQUEMA DE TRATAMIENTO SEGÚN RIESGO DE RECIDIVA LOCAL

El tratamiento del cáncer de recto no metastásico es complejo y requiere un abordaje multidisciplinar (Tabla 6) (Figura 13), siendo las opciones a evaluar las siguientes:

-Carcinoma precoz de recto cT1N0, de bajo grado (G1/G2). Los procedimientos de resección local como el TEM pueden ser suficientes como modalidad de tratamiento único en tumores

rectales c T1N0, p T1sm1, siempre y cuando en la pieza de resección se demuestre que no existen datos de mal pronóstico (106,107). Con las técnicas de resección local se consiguen unos resultados similares al TME para estos pacientes, y además no existe el riesgo de compromiso de la función esfinteriana (108). En caso de que exista un análisis anatomopatológico desfavorable p TNM tras la resección local, se realizará una TME posteriormente (104).

-Carcinoma precoz de recto no candidato a resección local: [cT1–cT2; cT3a/b en recto medio o alto, cN0 (o incluso c N1 si recto alto), MRF no afectada, no EMVI]. El tratamiento estándar es una TME (104).

-Carcinoma rectal en grado intermedio: [cT3a/b recto bajo, musculos elevadores del ano sin afectación, MRF sin afectación ó cT3a/b recto medio-alto, cN1-2 (sin depósitos extranodales), sin EMVI]. La administración rutinaria de radioterapia (RT) preoperatoria, ya sea en forma de quimioradioterapia (QRT) o en forma de RT de ciclo corto (*short course preoperative radiotherapy* ó SCPRT) en todos los pacientes con cN+ es controvertido, debido a la poca precisión diagnóstica de la afectación ganglionar exclusivamente a través del tamaño de los ganglios linfáticos en la RMI pélvica y de la poca relación que se ha demostrado de la afectación ganglionar con el riesgo de recurrencia local, especialmente si la TME se realiza con una técnica cuidadosa (109,110). Si no es posible asegurar una correcta TME con la resección de todos los posibles ganglios del mesorecto, estos pacientes deberían ser tratados como pacientes de la categoría de riesgo superior(104).

-Carcinoma rectal localmente avanzado (*locally advanced rectal cancer* ó LARC) [>cT3b, cN1-2 (extranodal= cN1c) y EMVI+]. Para el tratamiento de los pacientes con LARC se debe tener muy en cuenta los criterios pronósticos de la RMI pélvica para valorar el riesgo de recurrencia local y/o predicción de afectación metastásica sincrónica o metacrónica (CRM < o igual a 1 mm de la neoplasia, EMVI y T3c/T3d)(111,112). El uso de QRT o SCPRT tiene, en este escenario, unos resultados similares. En caso de uso de QRT, la quimioterapia (QT) se usa como radiosensibilizador. A este respecto, varios meta-análisis, basados en los principales 7 ensayos clínicos controlados randomizados(113), demuestran que no está claro que el uso de oxaliplatino pueda ayudar a la terapia convencional radiosensibilizante con fluoropirimidinas en el control de la enfermedad, y además, puede provocar efectos secundarios relevantes, por lo que no se añade para el tratamiento estándar en estos pacientes (104).

-Carcinomas rectales con margen de resección comprometido (irresecables/ “borderline”); generalmente cT4, MRF “en riesgo” o afectada, músculos elevadores del ano afectados, presencia de ganglios pélvicos patológicos fuera del área de resección quirúrgica) Se trata de situaciones de difícil valoración, pero generalmente se consideran tumores que son susceptibles de una resección curativa sin resección multivisceral, ya sea porque el tumor colinda o rompe la MRF o porque hay un tumor macroscópico fuera de la MRF con extensión local a la pared lateral pélvica y el sacro o, en términos de afectación ganglionar, existe afectación ganglionar en la pelvis fuera del área de resección quirúrgica. En estos pacientes se debe administrar QRT neoadyuvante, ya que la RT aislada es inferior en términos de tasas de resección quirúrgica R0. Tras la administración del tratamiento neoadyuvante, se valorará si es posible realizar una cirugía con posterioridad o no(104,114).

Es interesante destacar que independientemente de su TNM, los cánceres de recto altos (>12cm desde el margen anal), los cuales se encuentran por encima de la reflexión peritoneal, no se benefician de un tratamiento neoadyuvante de ningún tipo y deben tratarse como si fuesen cánceres de colon (104).

Tabla 6: Subestadiaje T3 del cáncer de recto

	<b>Depth of invasion beyond the muscularis propria (in mm)</b>
T3a <sup>a</sup>	< 1
T3b	1–5
T3c	6–15
T3d	> 15

mm: milímetros (94,104).

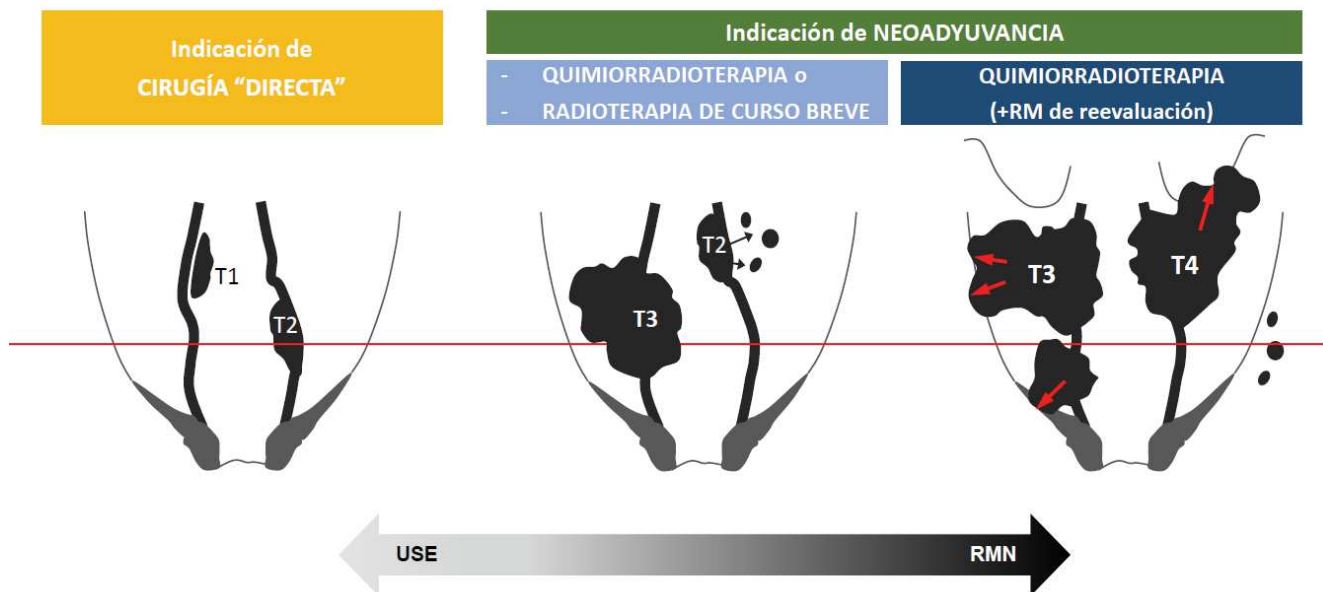


Fig 13: Tratamiento del cáncer de recto en función del estadiaje loco-regional. Esquema cedido por el Dr Sergio López Durán (Servicio de aparato digestivo. Hospital Universitario "Ramón y Cajal" de Madrid).

#### 1.1.6.2.3. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

A partir del estadio de LARC, es importante realizar una evaluación post-tratamiento neoadyuvante de la neoplasia rectal mediante RMI pélvica para valorar el tumor primario y el CRM y asegurar un margen quirúrgico óptimo (115,116). El re-estadiaje post-neoadyuvancia a nivel toraco-abdominal no está indicado de rutina, pero en pacientes c T4, CRM "amenazado" y presencia de EMVI se debe re-estadiar la zona toraco-abdominal durante los 3 meses posteriores al estadiaje inicial, para asegurar que no existen metástasis previo a la cirugía rectal (104).

Una respuesta anatomopatológica completa (*pathological complete response* pCR) después del tratamiento neoadyuvante se asocia con muy bajas tasas de recurrencia local y a distancia. Debería existir una definición estandarizada de esta situación para un manejo correcto (117). Como mínimo, se debe categorizar la respuesta al tratamiento neoadyuvante como completa, parcial o no respuesta. Otros hallazgos histológicos como por ejemplo, el porcentaje de necrosis, la regresión del EMVI o la mejoría del estadio T y N también tienen relación con un mejor pronóstico oncológico(104).

#### 1.1.6.2.4. NECESIDAD DE TRATAMIENTO ADYUVANTE

##### Quimioradioterapia post-quirúrgica

La administración de QRT neoadyuvante o de SCPRT tiene mejores resultados oncológicos que su administración post-cirugía(118,119). De manera tradicional se administraba QRT post-cirugía a todos los cánceres de recto sin tratamiento oncológico previo con estadio pT3-4 o pN+ además de añadir 4 meses de QT exclusiva adyuvante con bolos de 5-fluoracilo. En la actualidad, si la TME se ha realizado con meticulosidad y cumple estándares de calidad, las indicaciones se han reducido considerablemente, de tal forma que la QRT post-cirugía debe seleccionarse como tratamiento en pacientes con hallazgos histológicos inesperados tras la cirugía primaria del cáncer rectal (104) (Tabla 7).

Tabla 7: Necesidad de QRT post-quirúrgica en pacientes que no han recibido tratamiento neoadyuvante.

<b>Sufficient and necessary</b>	<b>Insufficient and unnecessary</b>
CRM $\leq$ 1 mm	pT1/pT2
pT4b	pT3
pN2 extracapsular spread close to MRF	CRM > 2 mm
Extranodal deposits (N1c)	pT4a above peritoneal reflection
pN2 if poor mesorectal quality/defects	pN1 If good quality smooth intact mesorectum

CRM, circumferential resection margin. Existen multitud de situaciones intermedias no reflejadas en esta tabla que deben evaluarse de manera individualizada (104).

##### Quimioterapia post-quirúrgica

Extrapolando la rutina de trabajo en el cancer de colon, en el cancer de recto debería de igual forma administrarse quimioterapia post-cirugía en aquellos pacientes que han recibido QRT o SCPRT neoadyuvante y que presentan yp estadio II de alto riesgo y estadio III. El nivel de evidencia para esta recomendación es mucho menor al conocido para el cancer de colon y

probablemente sólo se limite a la mejoría oncológica en términos de supervivencia libre de enfermedad (*disease-free survival* ó DFS), y no tanto a la supervivencia global (*overall survival* ó OS) por lo que la decisión se debe basar en la valoración de riesgo-beneficio de cada paciente y se deben tener muy en cuenta los efectos secundarios del tratamiento(104).

### 1.1.6.3. CÁNCER DE COLON NO METASTÁSICO

#### 1.1.6.3.1. ESTUDIO DE EXTENSIÓN INICIAL

Una vez que se ha diagnosticado un cancer de colon, se debe realizar un protocolo de exámenes de laboratorio y una búsqueda activa de enfermedad metastásica secundaria, generalmente mediante una TC abdominal, el cual, además de estadiar la enfermedad puede ser útil en la detección de complicaciones a nivel local (perforación, fístula, obstrucción...). La sensibilidad del TC para el diagnóstico de implantes peritoneales, sin embargo, es bastante baja, por lo que en ocasiones es un hallazgo intraoperatorio. El beneficio clínico de realizar de manera sistemática una TC de tórax es controvertido y no está recomendado de manera generalizada. De manera similar, la realización de un PET no está recomendada en el momento de diagnóstico inicial ya que su utilización no modifica el planteamiento terapéutico en la mayoría de los pacientes (120).La evaluación preoperatoria del CEA sérico es útil como marcador de recidiva en la evolución, en caso de estar elevado al diagnóstico(121). La realización de una ultrasonografía intraoperatoria es una prueba que aporta fiabilidad diagnóstica en la valoración de las metástasis hepáticas no detectadas durante otras pruebas de imagen en el pre-operatorio, de hecho, aproximadamente el 15% de los pacientes las presentan, y de ellas, el 5% suelen ser solitarias y de fácil abordaje quirúrgico en el mismo acto(101).

#### 1.1.6.3.2. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO Y NECESIDAD DE TRATAMIENTO ADYUVANTE

El tratamiento quirúrgico del cáncer de colon ya ha sido explicado en el apartado correspondiente de esta tesis: “premisas sobre el tratamiento del cáncer colorectal”. En este apartado se profundiza en determinar qué pacientes son candidatos a un tratamiento adyuvante posterior.

El primer paso para valorar la necesidad de tratamiento adyuvante en el cáncer de colon es definir el riesgo. La supervivencia a 5 años después de una resección quirúrgica aislada, según el estadio inicial, es: Estadio I: 85-95%, estadio II: 60-80%, estadio III: 30-60% (101). La QT basada

en fluoropirimidinas mejora la supervivencia de los pacientes operados de CCR en estadio III y en estadio II de “alto riesgo” (2).

Los pacientes estadio II de “alto riesgo” se definen como aquellos que presentan p T4, número de ganglios examinados en la pieza quirúrgica menor de 12, perforación u obstrucción del tumor primario, grado de diferenciación celular “pobremamente diferenciado” o “indiferenciado”, y tumores *microsatellite-stable* (MSS). Los pacientes estadio II de “muy alto riesgo” son aquellos pacientes p T4, MSS o que presentan más de 1 factor de alto riesgo conocido, en los cuales, se debe considerar la adición de oxaliplatino a la QT estándar con fluoropirimidinas (101,122).

En el caso de los pacientes con CCR estadio III, la adición de QT post-quirúrgica consistente en la combinación de fluoropirimidinas y oxaliplatino es el procedimiento estándar (101,122).

Durante años, la duración estándar del tratamiento QT adyuvante era de 6 meses, pero en la actualidad, se conoce que una duración de 3 meses puede mejorar el perfil de efectos secundarios (principalmente neuropatía por oxaliplatino) sin perjudicar la eficacia a nivel oncológico, siempre y cuando se trate de pacientes que no presenten p T4 o p N2, en los cuales se sigue recomendando 6 meses de duración del tratamiento adyuvante(2,123).

Por el momento, no existe la indicación del uso de agentes moleculares dirigidos a dianas terapéuticas asociados a la QT estándar del cáncer colorectal no metastásico (101) (Figura 14).

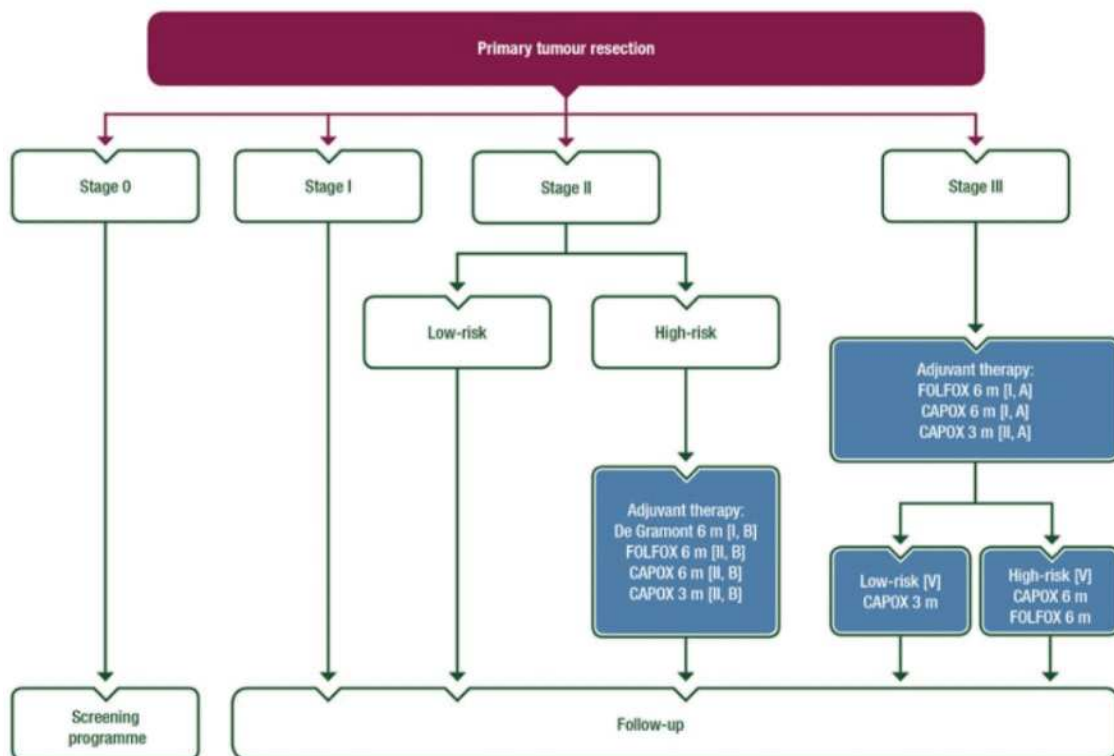




Fig 14: Tratamiento adyuvante del cáncer de colon según estadio en la pieza quirúrgica. CAPOX: Capecitabina/oxaliplatino. FOLFOX: leucovorina cálcica (ácido folínico), fluorouracilo y oxaliplatino. m: meses (122).

#### 1.1.6.4. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD METASTÁSICA

##### 1.1.6.4.1. TRATAMIENTO LOCAL DE LA ENFERMEDAD METASTÁSICA

Uno de los desarrollos terapéuticos más importantes en el CCR metastásico es la posibilidad de tratamiento local de las metastasis, el cual incrementa las posibilidades de curación oncológica (2).

La cirugía hepática ha evolucionado hacia una cirugía de bajo riesgo, incluso en pacientes con enfermedad metastásica extensa. La resección de las metástasis hepáticas actualmente forma parte de un abordaje multidisciplinar asociado a la administración de tratamiento sistémico concomitante e incluso técnicas ablativas (124). La ablación por radiofrecuencia sigue siendo el tratamiento local ablativo por excelencia. Para lesiones metastásicas hepáticas de gran tamaño o próximas a estructuras vasculares, la ablación por micro-ondas o la radioterapia estereotáctica pueden ser buenas alternativas (2).

El tratamiento local de la enfermedad metastásica pulmonares más controvertido, siendo posible un abordaje quirúrgico, ablación por radiofrecuencia o radioterapia estereotáctica(2).

Las metástasis peritoneales, de manera clásica, se han considerado parte de una enfermedad irresecable. La cirugía citoreductora asociada a la QT intraperitoneal hipertérmica han mejorado la OS de pacientes con carcinomatosis peritoneal en los cuales existía una enfermedad limitada en extensión (125), aunque el papel de esta modalidad de QT asociada a la cirugía citoreductora, no está del todo dilucidado (2).

##### 1.1.6.4.2. TRATAMIENTO SISTÉMICO DE LA ENFERMEDAD METASTÁSICA

En este apartado se describe una aproximación inicial al tratamiento sistémico del CCR metastásico, con especial énfasis al tratamiento de 1º línea en este tipo de pacientes.

Decidir si la terapia sistémica administrada tiene una intención curativa o paliativa es crucial. En el caso de un objetivo curativo, en los pacientes con una enfermedad oligometastásica, existe posibilidad de resección quirúrgica primaria de las lesiones y curación. Sin embargo, en

pacientes con enfermedad metastásica más extensa, el objetivo de la terapia sistémica puede ser, por ejemplo, reducir la carga tumoral y valorar la posibilidad de una resección quirúrgica en un segundo tiempo, algo que cada vez ocurre en mayor número de pacientes en la práctica clínica habitual. En los casos de tratamiento sistémico con intención paliativa el objetivo no es una cirugía, sino el control de la carga de enfermedad o de los síntomas secundarios(2,126).

La terapia sistémica para el tratamiento del CCR, típicamente incluye una combinación de QT estándar y un fármaco biológico. Las fluoropirimidinas, oxaliplatino e irinotecan son la base de la QT estándar y se usan en combinaciones de 2 o 3 fármacos. Los agentes biológicos (anticuerpos anti-vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) o anti-Epidermal growth factor receptor (anti-EGFR)) se añaden a la QT estándar dependiendo de diversos factores relacionados con el paciente o con el tumor (2).

Bevacizumab, un anticuerpo monoclonal anti-VEGF fué el primer agente biológico aprobado para el tratamiento del CCR metastásico y demostró que era beneficioso para cualquier tipo de CCR en este estadio (127). La adición de este fármaco a la QT convencional ha demostrado una mejoría de la supervivencia libre de progresión (*progression free survival* ó PFS) pero no de la OS (128,129). Otros fármacos biológicos anti-VEGF aprobados para esta indicación son el aflibercept y el ramucirumab (2,130,131).

Los CCR localizados en el lado derecho del colon, no se benefician de terapias biológicas anti-EGFR como tratamiento de 1º línea de la enfermedad metastásica (132). Los pacientes con CCR del lado izquierdo deben disponer de un estudio extendido de mutaciones en la vía del RAS y RAF (KRAS, NRAS y BRAF) antes de considerar el uso de tratamientos biológicos anti-EGFR. En caso de análisis mutacional negativo (es decir, presencia de variables “salvajes” o “wild-type”) como primera línea de tratamiento en los pacientes con CCR metastásico del lado izquierdo del colon se pueden administrar agentes anti-VEGF (bevacizumab) o anti-EGFR (cetuximab o panitumumab) (133,134). En la práctica clínica, si el objetivo del tratamiento sistémico es una posible reducción de la carga tumoral para una intervención quirúrgica curativa posterior, se prefiere el tratamiento biológico con fármacos anti –EGFR para los CCR metastásicos de colon izquierdo RAS y RAF “wild type” (2,133).

La identificación de la variable mutacional *BRAF-V600E* del CCR es de gran importancia debido a que los resultados oncológicos son mucho peores en este subgrupo de tumores (135). Estos

tumores no responde bien a la QT convencional y el tratamiento de elección es una triple terapia con QT convencional, asociada a bevacizumab (2) (Figura 15).

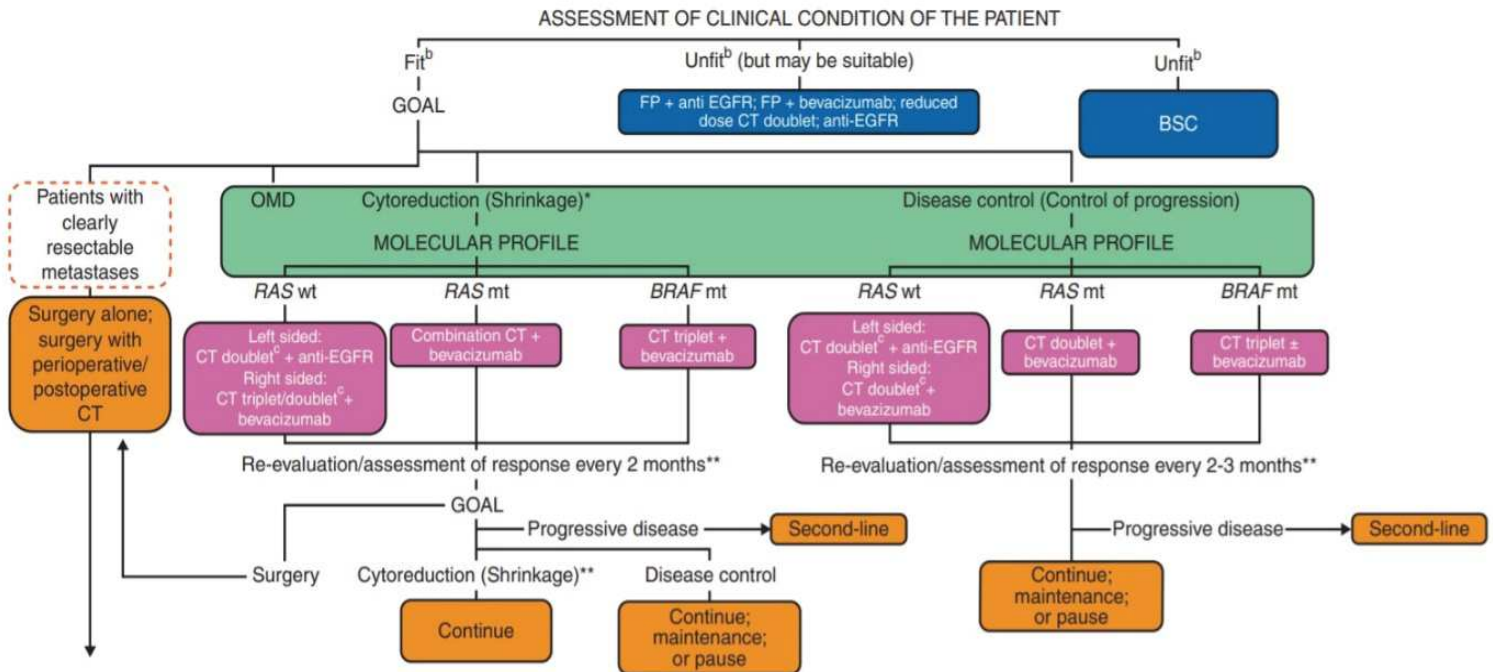


Fig 15: Tratamiento del CCR metastásico. BSC, best supportive care; CT, chemotherapy; EGFR, epidermal growth factor receptor; FP, fluoropyrimidine; mt, mutant; NED, no evidence of disease; OMD, oligometastatic disease; wt, wild-type; (136).

En el 4-5% de los CCR que tienen un patrón molecular de alta inestabilidad de microsatélites (*microsatellite instability-high* (MSI-H)), los agentes biológicos anti-*programmed cell death receptor-1* (anti-PD-1; nivolumab o pembrolizumab), constituyen una elección muy eficaz como fármacos de inmunoterapia, y en la actualidad forman parte del tratamiento sistémico de segunda línea en el CCR metastásico (91,137,138). El efecto de este tratamiento es muy relevante, duradero e incluso posiblemente curativo. Se está explorando su uso como tratamiento adyuvante o neoadyuvante fuera del ámbito del CCR metastásico (2,139,140).

### 1.1.7.SEGUIMIENTO TRAS EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORECTAL CON INTENCIÓN CURATIVA

A pesar de un correcto manejo quirúrgico con o sin terapia adyuvante posterior, aproximadamente el 30-50% de los pacientes con CCR recidivan, y la mayoría de estos pacientes morirán por esta enfermedad. La mejoría de la OS en este escenario, se relaciona con una detección precoz de la enfermedad recurrente, sobretodo en casos de recidiva loco-regional(101).

No existe un seguimiento estándar para cada tipo de cáncer (colon o recto), pero la mayoría de las guías recomiendan unos estándares mínimos para el control ambulatorio de estos pacientes:

#### 1) Cáncer de recto(104):

- Visita médica: cada 6 meses en los primeros 2 años.
- Completar la colonoscopia diagnóstica si no ha sido así previo a la intervención quirúrgica.
- Un mínimo de dos TC de torax, abdomen y pelvis en los primeros 3 años de seguimiento y determinación regular de CEA sérico (al menos cada 6 meses en los primeros 3 años).
- En los pacientes de alto riesgo (CRM+) se debe realizar un seguimiento proactivo en búsqueda de signos de recidiva loco-regional.

#### 2) Cáncer de colon (101,141):

- Visita con determinación sérica de CEA cada 3-6 meses durante los 3 primeros años de seguimiento y cada 6-12 meses hasta completar los 5 años de seguimiento.
- Completar la colonoscopia diagnóstica si no ha sido así previo a la intervención quirúrgica.
- TAC de tórax y abdomen cada 6-12 meses durante los primeros 3 años de seguimiento, principalmente en paciente de alto riesgo de recurrencia.
- Otras pruebas de laboratorio o radiológicas no están demostradas como beneficiosas en este contexto y por tanto no deben realizarse salvo sospecha clínica.

Recientemente se ha publicado una guía de la sociedad europea de endoscopia digestiva que auna el seguimiento mediante colonoscopia de los pacientes con neoplasias colorectales tras tratamiento con intención curativa (Figura 16) (142).

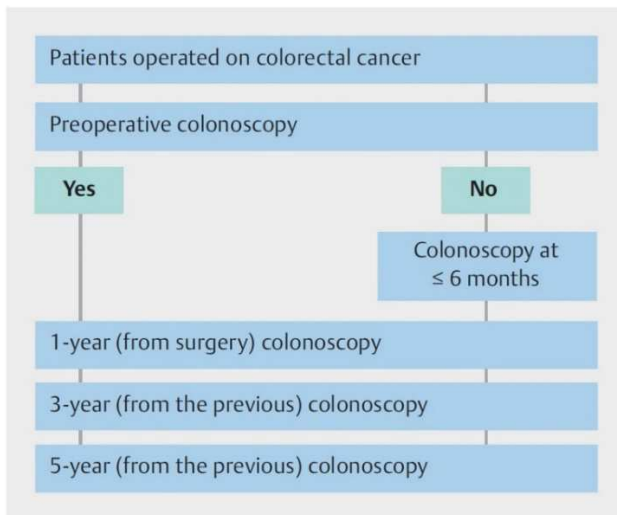


Fig 16: Seguimiento endoscópico del cáncer colorectal tras tratamiento con intención curativa (142).

## 1.2 INTRODUCCIÓN A LA INMUNOBIOLOGÍA

### 1.2.1 INFLAMACIÓN Y CÁNCER

La carcinogénesis es el resultado de una interacción compleja entre factores celulares intrínsecos y extrínsecos que promueven la proliferación celular, la resistencia a la apoptosis, la reprogramación y reorganización del microambiente tumoral y la inestabilidad genómica. La inflamación, aunque es necesaria para la reparación del daño celular y la activación de la inmunidad del huésped para enfrentarse a patógenos y células transformadas, puede influir en todos estos procesos para promover el desarrollo de cáncer (143,144) .

Aunque los mecanismos moleculares a través de los que la inflamación promueve el desarrollo del cáncer se están descubriendo poco a poco (145,146), la exposición a especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species* ó ROS), mediadores lipídicos producidos por ciclo-oxigenasas como la prostaglandina E2 (PGE2) y múltiples citoquinas pro-inflamatorias como la IL-6, IL-5, IL-22, IL-17, TNF- $\alpha$  y IL-1 $\beta$  se han relacionado con el desarrollo del CCR. Todos estos factores contribuyen a la transformación tumoral y a su progresión a través de la activación de factores de transcripción como NF- $\kappa$ B o pSTAT3, así como de vías genéticas y de señalización como Wnt,  $\beta$ -catenina o K-ras(145,147-150).

Poco se sabe de los mecanismos moleculares a través de los que el sistema inmune regula la producción de los factores pro-inflamatorios descritos, tanto en las enfermedades relacionadas con la inflamación intestinal como en el CCR (Figura 17).

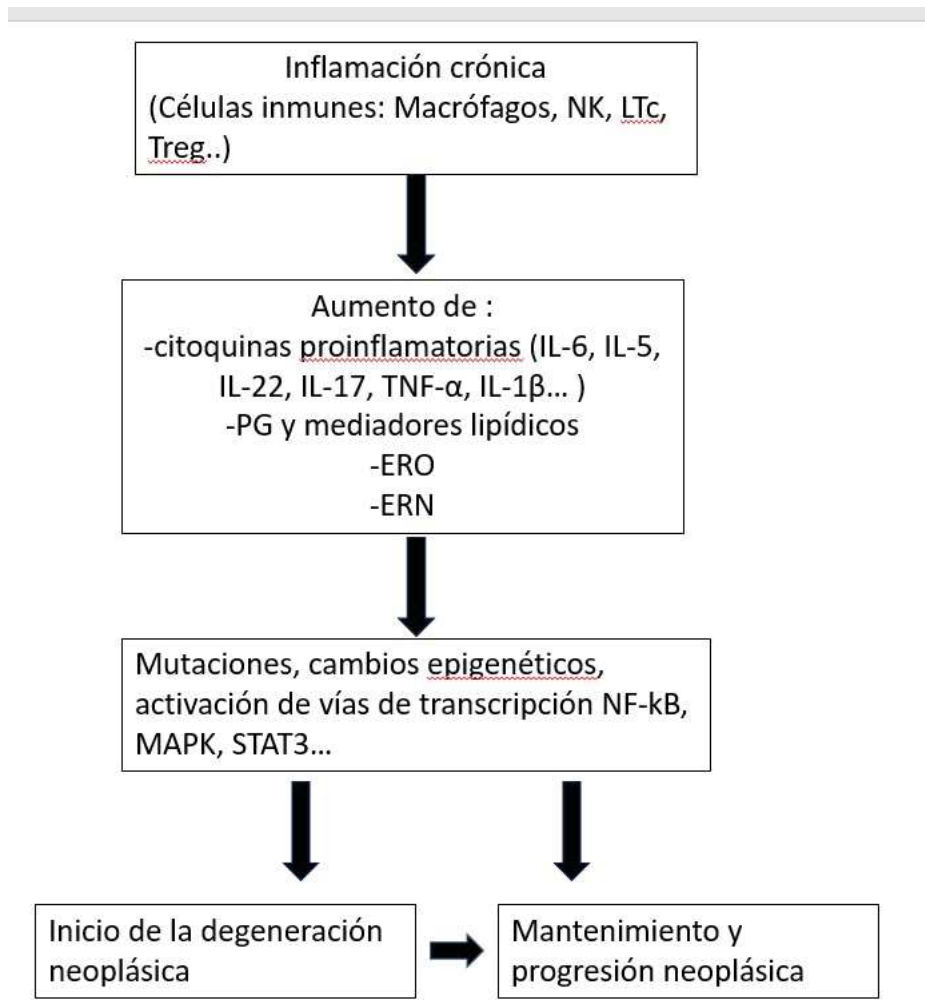


Fig 17. Esquema general de cómo la inflamación crónica promueve la iniciación, promoción y progresión del CCR. NK: Natural Killer; LTc: Linfocito T citotóxico; Treg: Linfocito T regulador; IL: Interleucina; TNF: Factor de necrosis tumoral; PG: Prostaglandinas; ERO: Especies reactivas de oxígeno; ERN: Especies reactivas de nitrógeno.

La transición epitelio-mesénquima (*epithelial-mesenchymal transition* ó EMT) es un proceso que se ha relacionado con la iniciación de la formación de metástasis y con la resistencia a tratamientos oncológicos en múltiples órganos, incluido el CCR (151,152). Existe una relación recíproca entre el proceso de EMT y las células madres cancerígenas (*cancer stem cell* ó CSCs), en el que las CSCs en ocasiones presentan marcadores típicos de EMT y a la par el proceso de EMT puede degenerar a la formación de CSCs(151,153,154). El proceso de EMT consiste en la transdiferenciación de células epiteliales en células mesenquimales, la cual es fisiológica durante el desarrollo embrionario y se realiza de una manera coordinada y organizada, permitiendo a las células epiteliales adquirir las características de movilidad e invasión típicas de las células

mesenquimales. A diferencia del proceso de EMT embriológico, el proceso relacionado con la enfermedad oncológica es un proceso disregulado y la pérdida de las características epiteliales puede ser parcial (EMT incompleto) o total (EMT completo), lo que supone un amplio abanico en la expresión de marcadores celulares específicos, así como de marcadores de comportamiento migratorio (151,155-157). Los procesos moleculares subyacentes a la EMT y relacionados con el cancer son complejos y todavía están parcialmente estudiados y comprendidos (158).

## 1.2.2 FAMILIA DE LAS SERÍN-PROTEASAS: GRANZIMAS

### 1.2.2.1 GENERALIDADES

El sistema immune ha desarrollado multitud de mecanismos para proteger al huésped de los patógenos y células cancerígenas mientras mantiene un equilibrio con el huésped, tolerando sus propias células y evitando procesos autoinmunes y otros trastornos inflamatorios. Entre estos mecanismos destacan las células “asesinas naturales” o “*Natural Killer*” (NK) y los linfocitos T citotóxicos (LTc) (incluyendo las células  $\alpha\beta$  CD8+ T,  $\gamma\delta$  CD8+ T, y  $\gamma\delta$  CD8 - T), los cuales son claves en el reconocimiento de células infectadas y células tumorales (159,160). Hay que tener en cuenta, sin embargo, que si hay una activación incontrolada de los LTc y NK, éstas pueden contribuir al desarrollo de procesos inflamatorios y autoinmunes, y esto, paradójicamente, termina con la posibilidad de inicio o progresión del cáncer (161,162).

Los LTc y las NK utilizan dos mecanismos fundamentales para destruir células cancerígenas: Ligandos mortales o “*death ligands*” y la vía de exocitosis de gránulos citoplasmáticos (159). Esta última, esta llevada a cabo de manera sinérgica por las proteínas formadoras de poros, perforinas (PRF1) y la familia de serin-proteasas plasmáticas, las granzimas (GZMs). Las GZMs fueron originariamente identificadas en los gránulos citotóxicos de los LTc y NK. Desde entonces, diferentes miembros de la familia de granzimas, incluyendo las más abundantes y mejor caracterizadas, la granzima A (GZMA) y la granzima B (GZMB) se han encontrado en multitud de células inmunes y no inmunes (162) (Tabla 8).

Tabla 8: Células inmunológicas y no inmunes, donde se expresan las granzimas.

Enzyme	Species <sup>b</sup>	Enzyme-like activity <sup>c</sup>	Cell type <sup>d</sup>
GZMA	h, m	Tryptase	Hematopoietic cells
			Tc, Treg, NK, NKT, GMC
			Non-hematopoietic cells
			Type II pneumocytes (h)
GZMB	h, m	ASPase	Hematopoietic cells
			Tc, Treg, NK, NKT, MC, MDSC (h), Bas (h), Mac (h), DC, GMC, B cell (h)
			Non-hematopoietic cells
			Ser (h), Ker (h,m), type II pneumocytes (h)
GZMC	m	Chymase	NK
GZMD	m	Chymase	GMC
GZME	m	Chymase	GMC
GZMF	m	Chymase	GMC
GZMG	m	Chymase	GMC
GZMH	h	Chymase	NK
GZMK	h, m	Tryptase	Tc cells, NKT (h), NK (h, CD56 <sup>Bright</sup> subset)
GZML	m	?	?
GZMM	h, m	METase	NK, NKT, $\gamma\delta$ T cells
GZMN	m	?	Sper

Bas, basophil; DC, dendritic cell; GMC, granulated metrial gland cells; Ker, keratinocyte; Mac, macrophage; MC, mast cell; MDSC, myeloid-derived suppressor cell; NK, natural killer cell; NKT, natural killer T cell; Ser, sertoli cell; Sper, spermatocyte; Tc, cytotoxic T cell ( $\alpha\beta$  CD8+ T,  $\gamma\delta$  CD8+ T and  $\gamma\delta$  CD8- T cells); Treg, CD4+ T regulatory cell. Species in which a specific GZM has been identified (h, human; m, mouse) (162).



#### 1.2.2.2. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE RELACIONADAS CON LA FAMILIA DE GRANZIMAS

Las **células NK** se desarrollan en la médula ósea a partir de la célula progenitora linfoide común, y circulan en la sangre. La mayoría de fuentes consultadas las consideran parte de la inmunidad innata, si bien recientemente se les han atribuido algunas funciones relacionadas con el sistema inmune adaptativo como la memoria inmunológica, denominándose una subpoblación de células NK como células NK adaptativas (163). Son de mayor tamaño que los linfocitos T y B, tienen gránulos citoplásmicos distintivos, y se identificaron desde el punto de vista funcional por su capacidad para destruir ciertas líneas celulares de tumor linfoide *in vitro* sin la necesidad de inmunización o activación previa. Los linfocitos NK se activan en respuesta a interferones o citocinas derivadas de macrófago y sirven para contener infecciones, principalmente víricas, o transformación celular, mientras la respuesta inmunitaria adaptativa está generando células T citotóxicas específicas para antígeno que pueden eliminar la infección o el tumor que exprese dicho antígeno (164).

A diferencia de los linfocitos T citotóxicos que reconocen células que expresan antígenos presentados por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (*Major Histocompatibility Complex* ó MHC) tipo I, la activación de las células NK depende del balance global del conjunto de señales estimuladoras o inhibitorias recibidas desde la célula diana. Este es el modo por el que los linfocitos NK defiendan al individuo contra infecciones por virus y otros microorganismos patógenos, y así distinguir entre células infectadas y no infectadas.

La célula NK se activa por una combinación de reconocimiento directo de cambios en glucoproteínas de superficie celular inducidos por agresión metabólica, como transformación maligna o infección vírica o bacteriana, lo que estimula su activación junto con un reconocimiento de “lo propio alterado”, que comprende cambios de la expresión del MHC-I molécula que inhibe a las células NK (164). De ese modo si una célula reduce o pierde la expresión de MHC-I, será reconocida y eliminada por las células NK dado que ésta recibirá menos estímulos inhibitorios.

Existe un mecanismo especial de activación de las células NK; la destrucción de células diana cubiertas con anticuerpos por linfocitos NK. Este mecanismo se denomina citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (*Antibody-dependent cellular cytotoxicity* ó ADCC) y se activa cuando anticuerpos unidos a la superficie de una célula interactúan con sus receptores Fc sobre

el linfocito NK. Éstos expresan el receptor Fc $\gamma$ RIII (CD16), que reconoce las subclases IgG1 e IgG3. Mediante este mecanismo los anticuerpos pueden dirigir un ataque específico de antígeno mediante una célula efectora que en sí carece de especificidad para dicho antígeno (164) (Figura 18).

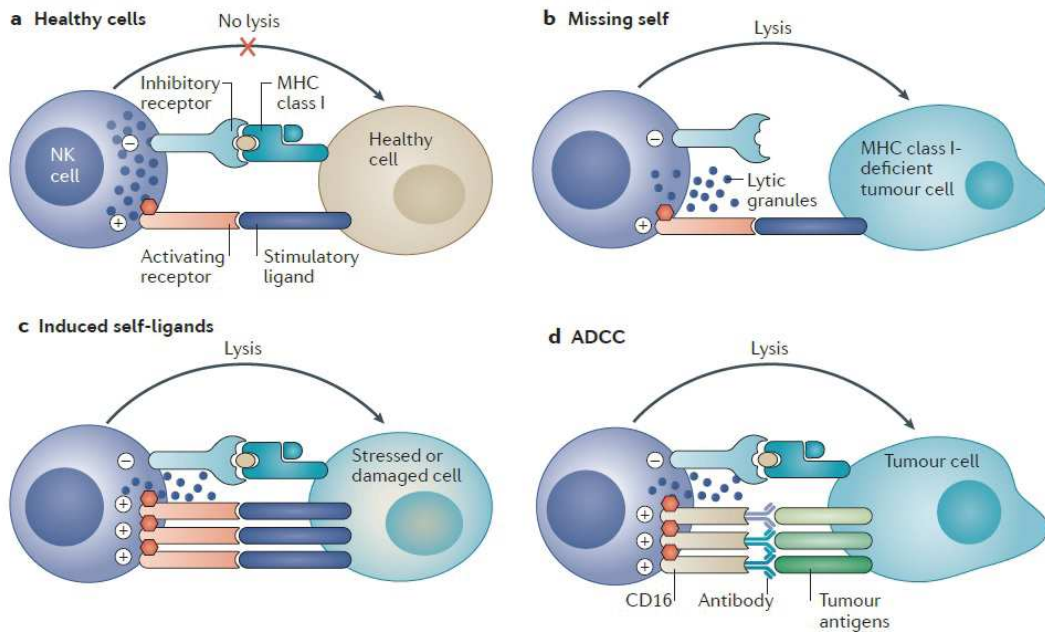


Fig 18.: Mecanismos de acción de las células NK. A) Un correcto balance de señales inhibitorias y activadoras entre la célula NK y la célula sana consigue que ésta no sea destruida. B) Cuando las células NK detectan una pérdida en la expresión del MHC tipo I en las células tumorales actúan lisando dichas células, ya que han perdido el estímulo inhibitorio que las protegía frente al ataque de las NK. C) Cuando las células NK detectan una sobre-expresión de péptidos tumorales que son reconocidos por los receptores activadores de NK, lisan las células que expresan dichos péptidos, ya que existe un desbalance a favor de los estímulos positivos al ataque. D) La citotoxicidad mediada por anticuerpos es un mecanismo minoritario de las células NK, pero éstas son capaces de reconocer, mediante su receptor CD16, la fracción Fc de las Ig G dirigidas específicamente frente a antígenos en la superficie tumoral celular y tras esto ello, lisan las células tumorales que expresan dichos antígenos (165).

El mecanismo principal de ataque de las células NK es el mismo que usan las células LTC generadas en una respuesta inmunitaria adaptativa; se liberan gránulos citotóxicos hacia la superficie de la célula diana unida, y las proteínas efectoras que penetran en la membrana celular inducen muerte celular programada en la célula diana (164).

Otro mecanismo de acción de las células NK es aquel mediado por interleucinas/interferones, moléculas que son capaces de activar a las células NK. La IL-12, al actuar en sinergia con el TNF- $\alpha$ , también puede estimular a los linfocitos NK a secretar grandes cantidades de IFN- $\gamma$ , lo cual es crucial para controlar algunas infecciones antes de que quede disponible el IFN- $\gamma$  producido por células T citotóxicas CD8 activadas. Esta producción temprana de IFN- $\gamma$  por linfocitos NK también influye sobre la respuesta de células T CD4 a agentes infecciosos, al inducir células T CD4 activadas para que se diferencien hacia células TH1 inflamatorias (164).

Un tercer mecanismo es la expresión en su superficie de proteínas que son capaces de activar la muerte celular en las células diana, tras unirse a receptores específicos, los denominados ligandos mortales, entre los que se encuentran FAL y TRAIL. La unión de FasL y TRAIL a sus receptores celulares Fas y TRAIL-R, entre otras consecuencias, activa la denominada vía extrínseca de apoptosis, que conlleva la muerte de la célula infectada o transformada (164).

Las **células T CD8 citotóxicas efectoras** son un subtipo de linfocitos T esenciales en la defensa del hospedador contra patógenos intracelulares o frente a tumores. Son capaces de reconocer antígenos exógenos, precipitando la destrucción de la célula que lo expresa en su superficie y, de igual forma, reconocen moléculas propias expresadas en la superficie celular controlando el daño a células propias del individuo. Estos linfocitos pueden destruir cualquier célula que porte patógenos al reconocer péptidos ajenos o antígenos que se transportan a la superficie celular unidos a moléculas del MHC de clase I. Las células T CD8 citotóxicas realizan su función destructiva de modo similar al explicado para las células NK (164).

Los **Linfocitos T CD4 reguladores** son subgrupos de células T CD4 que restringen la inmunorreacción produciendo citocinas inhibitoras, con lo que evitan daños colaterales a tejidos circundantes a la zona de ataque, que no deben ser dañados. Constituyen un grupo heterogéneo que incluye varios subgrupos de células T con diferentes fenotipos, propiedades y condiciones que favorecen su diferenciación. Un subgrupo de estas células T reguladoras adaptativas, llamado TH3, suelen originarse de forma predominante en las mucosas y activarse por la presentación de antígeno en las mismas. Otra de sus funciones es suprimir o controlar inmunorreacciones en las mucosas, que constituyen barreras contra un mundo cargado de bacterias, como ocurre en el tracto gastrointestinal (164).

Las **células T gamma-delta** son linfocitos T frecuentes en epitelios, cuyos receptores de antígeno están compuestos de una cadena  $\gamma$  y una cadena  $\delta$ , en lugar de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  que constituyen los receptores de antígeno en el subgrupo mayoritario de células T comprendido en la inmunidad adaptativa. Las células T  $\gamma:\delta$  en general no reconocen a antígenos como péptidos presentados por moléculas del MHC; en lugar de eso, reconocen entre otros, glicolípidos unidos a la molécula CD1 y también pueden reconocer moléculas de estrés celular similares a las células NK. De este modo pueden reconocer, y responder con rapidez a moléculas expresadas por muchos tipos de células. El reconocimiento de moléculas expresadas como consecuencia de infección, más que el reconocimiento de antígenos específicos para patógenos en sí, distingue a las células T  $\gamma\delta$  intraepiteliales de otros linfocitos T (164) (Figura 19).

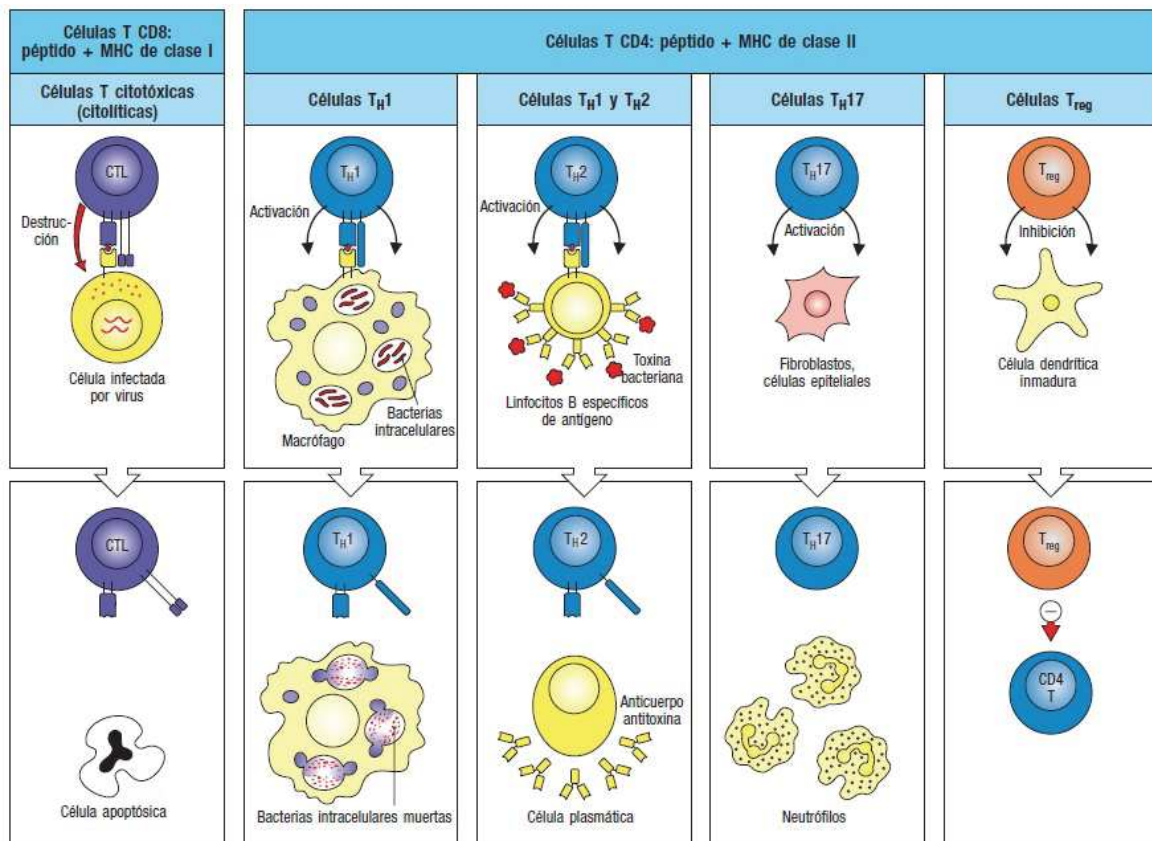


Fig 19: Subpoblaciones más relevantes de linfocitos T y respuestas efectoras principales de cada una de ellas. MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad. CTL: Linfocito T citotóxico(164).

### 1.2.2.3 SUBTIPOS DE GRANZIMAS E INMUNOMODULACIÓN

Las GZMs son una familia de serin-proteasas (166,167) originariamente identificadas en los gránulos citosólicos de los LTc y NK (168-172). Los humanos expresan 5 tipos de GZMs (A, B, H, K, y M) codificadas por diferentes genes. Se han identificado diversos subtipos de GZMs en

células hematopoyéticas y no hematopoyéticas, siendo la GZMB el miembro de la familia más ubicuo(173). Las proteínas PRF1(174) , GZMA, y GZMB son los elementos constituyentes principales en los gránulos de las células líticas inmunes. La actividad proteolítica de las GZMs esta regulada por miembros de la familia de las Serpinas(inhibidores de serin-proteasas) los cuales previenen el daño tisular propio tras la liberación de las enzimas proteolíticas sobre la célula diana(175).

En la mayoría de los casos las PRF1 y GZMs son liberadas desde los gránulos citotóxicos celulares al espacio intercelular tras una interacción entre el receptor immune de la celula efectora y el ligando de la célula diana (176). LaPRF1 forma poros en la membrana celular de la célula diana y de esta forma permite la entrada de las granzimas al citosol de la célula diana (177,178). Sin embargo, existen modelos explicativos diferentes para entender el mecanismo de acción de estas proteínas. Se postula que las GZMs liberadas pueden ser endocitadas por la célula diana a través de endosomas, así como la PRF1, la cual sufriría el mismo proceso tras su liberación (179). En el citosol de la célula diana, las GZMs ejercerían sus efectos biológicos interactuando con sustratos celulares intracitoplasmáticos controladores de la muerte celular(166,173), la replicación viral (180) o la inflamación (181).De manera alternativa, algunas GZMs pueden ser liberadas el medio extracelular (por ejemplo desde células efectoras que no co-expresen PRF1, como los mastocitos(182,183)), donde se unirían a proteínas del medio extracelular (*extracellular matrix* ó ECM), uniones celulares y proteínas de superficie celular que controlan procesos relacionados con la angiogenesis, la integridad o permeabilidad vascular, la trans migración celular, las funciones de barrera, la inflamación o el envejecimiento de la piel (184-187). No está del todo claro que GZMs activan la inflamación, la muerte celular o ambas (162) (Figura 20).

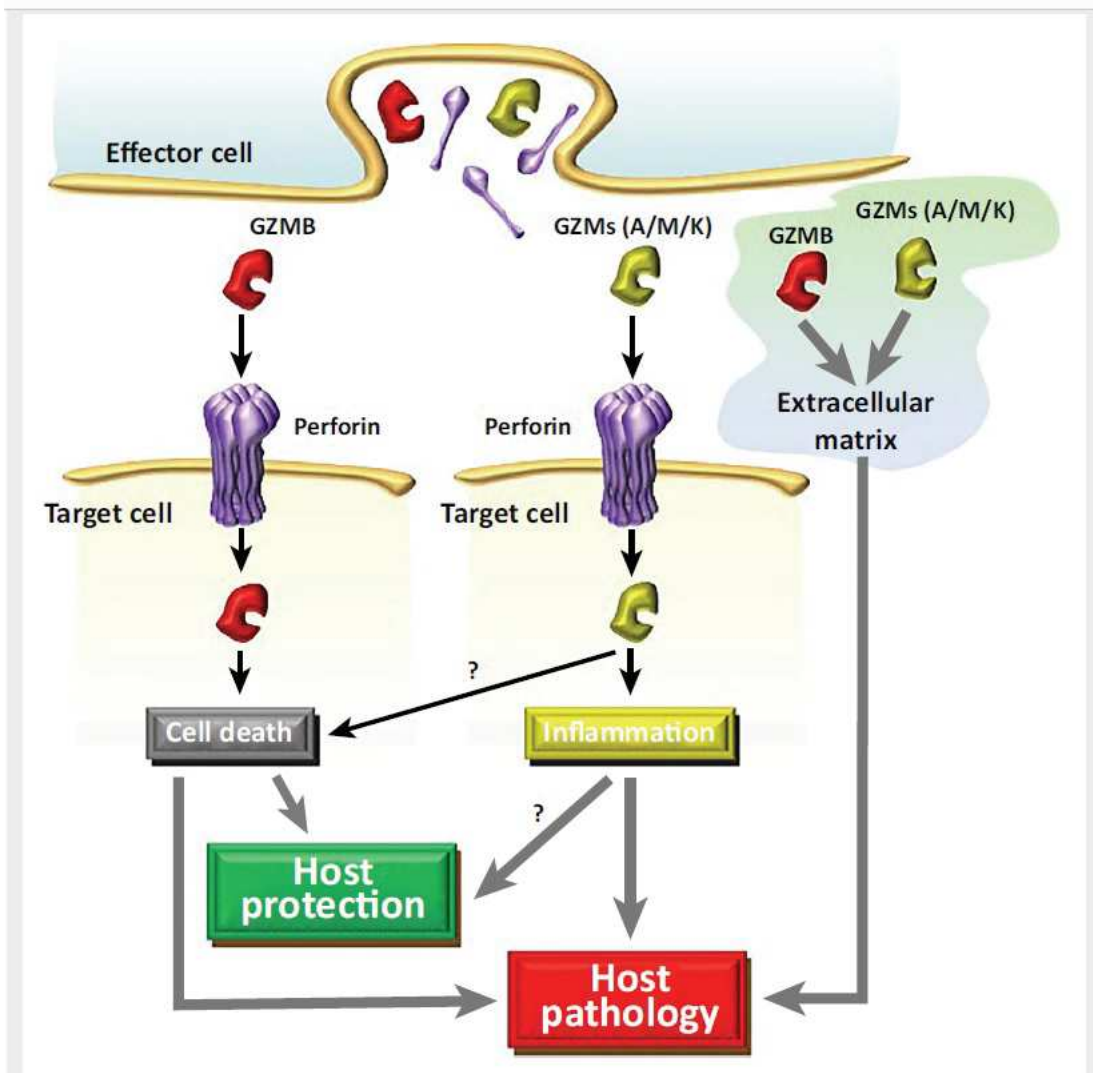


Fig 20: Mecanismos de acción perforina dependientes e independientes de la familia de GZMs. Relación con el desarrollo de inmunoprotección o inmunopatología en el huésped (162).

Como se ha mencionado previamente, la expresión de GZMs no solo está restringida a los LTC o NK. Existen otras células que las expresan de igual forma como son los linfocitos CD4+T reguladores (Treg), las células supresoras derivadas de la estirpe mieloide (*Myeloid-derived suppressor cells* ó MDSCs) y las células dendríticas (*Dendritic cells* ó DCs), quienes además de estar relacionadas con el control inmunitario del cáncer, también participan en procesos de homeostasis de la actividad proinflamatoria mediada por las células T [Ej. Linfocitos CD4 Th1, Th17 u otros subconjuntos de LTC], previniendo procesos autoinmunes y reacciones inflamatorias no controladas. Estos subtipos celulares emplean diversos mecanismos para

inducir una regulación a la baja del ataque inmunológico y se conocen como puntos de control inmunes inhibitorios o “*inhibitory immune checkpoints*”(188). La mucosa gastrointestinal posee tal cantidad de microbios comensales, que es uno de los mejores ejemplos para valorar la importancia de estos mecanismos regulatorios (189). Las células tumorales, manipulan los mecanismos inmunológicos del huésped para favorecer la supervivencia de las células cancerígenas y su progresión, de tal forma que el tracto gastrointestinal, al ser un medio muy inmunotolerante, es uno de los tejidos con mayor facilidad para inhibir el efecto anti-tumoral de las células LTc y NK (162,190).

#### 1.2.2.3.1 GRANZIMA B y MICROAMBIENTE TUMORAL

Algunos estudios han demostrado que las MDSCs y DCs expresan GZMB (191). Sin embargo, los resultados más conocidos hacen referencia al papel que ejerce la GZMB de las Treg en la promoción de la progresión tumoral en modelos de ratones con CCR. En modelos de sulfato de sodio dextrano/azoximetano (*dextran sulfate sodium/azoxymethane* ó DSS/AOM) en ratones para la inducción de CCR los tumores se desarrollan a una velocidad superior en los animales que no expresan GZMB (GZMB “*knock out*” (KO)) en relación a los que expresan GZMB con normalidad (GZMB “*wild type*” (WT)) sugiriendo un efecto protector de la GZMB en este tipo de cáncer. Existen de igual forma estudios previos en humanos que relacionan cómo una baja expresión de GZMB se correlaciona con un aumento de metastasis en el CCR(192), y que la infiltración de células de memoria T CD8+ que expresan GZMB es un marcador de buen pronóstico (193). Estos resultados aparentemente contradictorios pueden explicarse gracias a recientes datos publicados, indicando que una ratio alta de CD8+T/Treg es un marcador de buen pronóstico en varias neoplasias sólidas y hematológicas(194-196). Esto es debido a que la GZMB puede tener un efecto contrario en función de la abundancia de células que lo expresan (CD8+ LTc/NK o Treg) en el microambiente tumoral de tal manera que altos niveles Treg expresando GZMB pueden ser perjudiciales, mientras que altos niveles de CD8+ LTc/NK expresando GZMB pueden promover la eliminación tumoral(162).

Un subgrupo de células B humanas con funciones reguladoras, las Bregs, también expresan GZMB. Estas células B, son capaces de transferir GZMB al citosol de las células T, in vitro, en ausencia de PRF1, inhibiendo las respuestas mediadas por las células T. Las células B que expresan GZMB también son capaces de destruir células cancerígenas in vitro, independientemente de la PRF1 (197). De manera paralela a lo observado en las células T, la

abundancia relativa de células B citotóxicas expresando GZMB frente a la abundancia de Bregs expresando GZMB, puede dictaminar un ambiente anti o pro-tumoral respectivamente (162).

Como ocurre con las células B, los mastocitos también expresan GZMB en ausencia de PRF1 (182,183). Los mastocitos son células importantes en el conjunto del microambiente tumoral y también se les asigna un efecto contrapuesto en función del subgrupo celular que exprese GZMB (198). Algunos estudios han sugerido que la GZMB derivada de los mastocitos puede provocar un aumento de la permeabilidad vascular a través de su adhesión a cadherinas y/o a su vez, puede tener un efecto anti-VEGF porque su liberación a la ECM disminuye la cantidad de esta sustancia (162,182-184,199).

El microambiente tumoral es un medio rico en serin-proteasas producidas por células estromales y cancerígenas, las cuales se adhieren a proteínas del ECM modulando los procesos de angiogenesis y metastasis. De entre las nuevas funciones que se relacionan con las granzimas descubiertas en los últimos 10 años, el remodelaje de la ECM ha emergido como un foco de gran interés, porque se ha visto involucrado en multitud de procesos como el envejecimiento de la piel (200,201), la cicatrización de las heridas (185,201) y las enfermedades cardiovasculares(186). Algunos de estos procesos regulados por GZMs tienen un mecanismo común con el desarrollo de cáncer(202) y en ellos participan moléculas ligadas con la acción de GZMB (203). La unión de GZMB a la proteína Decorina del ECM puede facilitar la supervivencia tumoral y el desarrollo de metástasis. Es más, se ha visto que la adhesión a la Decorina por parte de la GZMB, libera TGF- $\beta$ 1 ECM (203) , incrementándose la actividad de las citoquinas libres y favoreciendo el proceso de EMT y progresión tumoral(204). Otro sustrato de la GZMB en el ECM relacionado con la progresión tumoral es la fibronectina (205,206). La adhesión a la fibronectina por parte de la GZMB puede afectar al desarrollo tumoral a diferentes niveles en relación a la angiogénesis(205-207) y debido a que la GZMB puede liberar fragmentos pro-inflamatorios de la fibronectina, se favorece la proliferación celular y la supervivencia tumoral (162,208) (Figura 21).



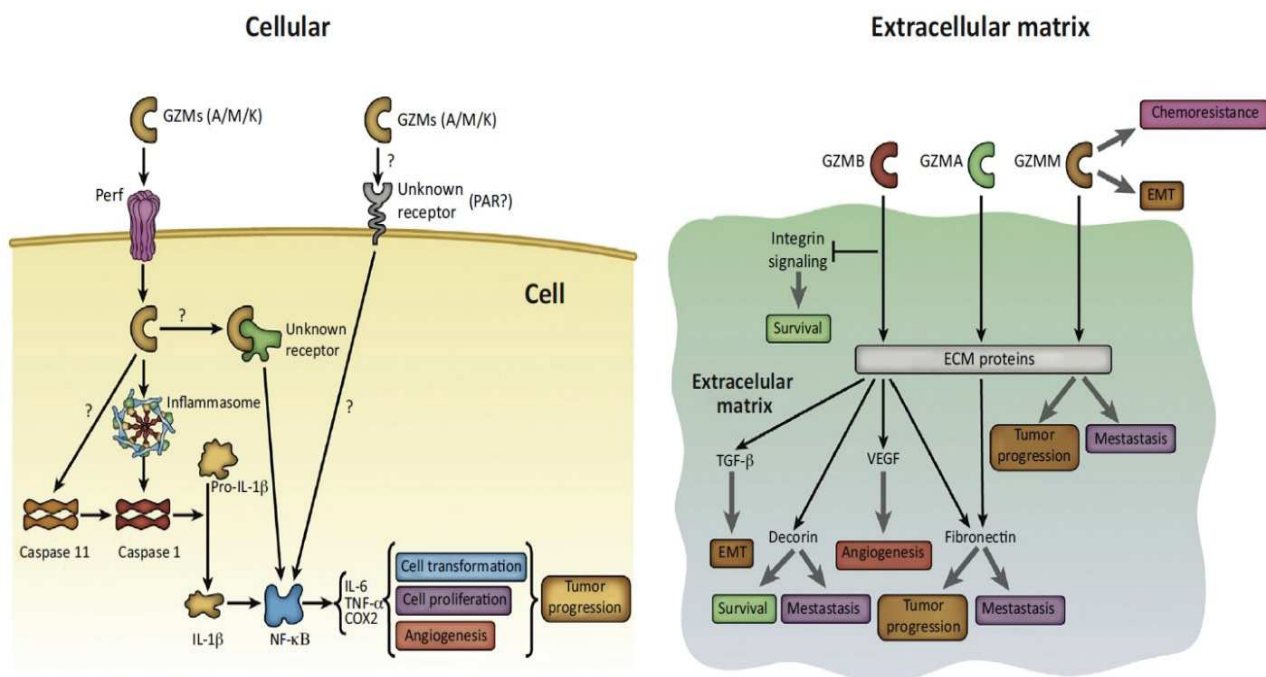


Fig 21: Mecanismos de acción de las granzimas relacionados con la tumorigénesis: Medio intracelular y medio extracelular. Perf, perforin; EMT, epithelial–mesenchymal transition; ECM, extracellular matrix (162).

#### 1.2.2.3.2 GRANZIMA A Y MECANISMOS PRINCIPALES DE ACTUACIÓN

Como se ha indicado con anterioridad, las GZMs se han considerado como las ejecutoras de la muerte celular mediada por perforina (167). Sin embargo, las GZMs están emergiendo como reguladores clave en procesos relacionados con la inflamación, y entre otros, aquellos que pueden promover la iniciación y progresión tumoral (145). Aunque existen varias GZMs, incluyendo GZMA humana y murina, GZMM, GZMB, o GZMK que son capaces de modular procesos pro-inflamatorios en diferentes tipos celulares (monocitos, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales y fibroblastos) “*in vitro*”(209-216) y “*in vivo*”(184,211,217,218), la mayoría de evidencia científica sugiere que la GZMA es la que tiene la mayor capacidad de acción proinflamatoria (162).

La GZMA humana y murina induce una reacción pro-inflamatoria mediada por citocinas en los macrófagos. Los ratones GZMA KO son más resistentes al shock séptico mediado por lipopolisacáridos (LPS) que los ratones GZMA WT(213). El papel biológico de la GZMA en varios

desordenes inflamatorios/inmunológicos como la sepsis bacteriana (217) y la artritis reumatoide (218,219) se ha confirmado recientemente. En todos estos modelos, la protección frente a la enfermedad se relaciona con una regulación a la baja de la producción de citocinas pro-inflamatorias TNF- $\alpha$ , IL-1a/b, o IL-6, secundariamente a la inhibición de la producción de GZMA. El mecanismo a través del cual la GZMA regula la producción de citocinas pro-inflamatorias en estas enfermedades no ha sido del todo dilucidado (162). Hasta el momento, el mecanismo principal por el que se pensaba que la GZMA induce un aumento de citoquinas proinflamatorias era a través de su acción intracelular mediada por perforina, con la consecuente activación de factores de transcripción y activación de vías de señalización que derivan en un aumento de marcadores inflamatorios como IL6, TNF $\alpha$  o COX2 (162) (Figura 21). Recientemente, se le ha dado una importancia mayor al efecto de la GZMA liberada al medio extracelular y su acción perforina independiente, similar al ya descrito con GZMB, con un efecto directo sobre la ECM y EMT. Se ha demostrado cómo este mecanismo se lleva a cabo fundamentalmente a través de la estimulación de los macrófagos mediada por la GZMA liberada al ECM, y, consecuentemente por la secreción por parte de los mismos de citoquinas proinflamatorias como la IL6 y el TNF $\alpha$ , entre otras. En este mecanismo interviene la vía transcripcional de NF-kB y se ha demostrado, al contrario de lo que se creía, que es un mecanismo independiente de la acción de caspasa-1 y COX2. Como consecuencia de lo anteriormente descrito se abre una nueva vía de acción de la GZMA con potencial relación con las patologías inflamatorias y el cáncer (220).

### 1.2.3 GRANZIMA A

#### 1.2.3.1 RELACIÓN CON PROCESOS INFLAMATORIOS SISTEMICOS E INFECCIONES

Los LTc CD8 + y las NK usan ligandos mortales, granulos liberados por exocitosis y citoquinas proinflamatorias para combatir la presencia de patógenos intracelulares y células cancerígenas (221,222). Habitualmente, los ligandos mortales y los granulos citotóxicos ejercen su función provocando la muerte celular de la célula diana, mientras que, las citoquinas proinflamatorias, incluyendo IFN  $\gamma$  y TNF $\alpha$  entre otras, participan en el proceso inflamatorio modulando las respuestas de macrófagos y células dendríticas. Los ratones deficientes en GZMA o GZMM resisten a la inducción de un shock séptico mediado por LPS (181,213), sugiriendo que estas enzimas pueden contribuir a la patogenia de la sepsis bacteriana. La sepsis bacteriana se ha relacionado con una producción incontrolada de citoquinas pro-inflamatorias (IL6, TNF $\alpha$ , and IL1b) secretadas por los macrófagos (223). Aunque los macrófagos son una de las células principales en la patogenia del desarrollo del shock séptico, los LTc y las NK también contribuyen

en su génesis (224). Diversos estudios han demostrado la correlación existente entre la gravedad de la sepsis y la expresión de GZMA y GZMB en los linfocitos (225,226). El patógeno *B. microti*, una bacteria gram negativa que afecta a los ratones, ha sido utilizado para analizar la capacidad de los LTc y NK para controlar la infección bacteriana así como su participación en el desarrollo de sepsis en este contexto; los ratones WT que presentan expresión de GZMB en sus LTc, participan en el control de la infección por *B. microti* “*in vivo*” e “*in vitro*” con la ayuda de la producción de perforina y GZMB. De manera contraria, la GZMA en este contexto, contribuye al aumento de las citoquinas pro-inflamatorias y promueve la sepsis bacteriana, un proceso que depende en gran medida de la presencia de células NK. De lo anteriormente explicado se deduce que, si se bloquea la acción de GZMA, es posible mejorar la evolución de la sepsis bacteriana sin afectar la capacidad del sistema inmune para controlar la infección (217).

La GZMA contribuye al desarrollo de inflamación en la artritis reumatoide (*reumatoid arthritis* ó RA) “*in vivo*” mediante un mecanismo independiente de la presencia de perforina. Se cree que el mecanismo de daño tiene que ver con la capacidad de GZMA para estimular la formación de los osteoclastos (OC) mediada por citoquinas pro-inflamatorias como el TNF $\alpha$  (218). La GZMA se secreta a la sinovial de las articulaciones durante las respuestas innatas y adaptativas del sistema inmune y en dicha localización, la GZMA activa a los monocitos y precursores de OC para que secreten TNF- $\alpha$ , incrementando la destrucción inflamatoria de los huesos, típica de la RA. El nivel de IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-6 y TNF $\alpha$  están aumentados en los ratones con poliartritis en los estadios precoces y avanzados de la enfermedad. En todos los casos, el nivel de citoquinas disminuyó en los ratones con poliartritis KO para GZMA. Este estudio, llevado a cabo en ratones a los que se les ha provocado una poliartritis inducida por colágeno, ha sido confirmado en otro estudio de poliartritis mediada por el virus Chikungunya (219).

Independientemente del mecanismo por el que la GZMA promueve la RA o la sepsis “*in vivo*” y a la luz de los hallazgos que indican que la ausencia de GZMA no influye significativamente en el desarrollo de patología tumoral o en el control de patógenos intracelulares (167,181,227), el desarrollo de inhibidores de GZMA podría tener un efecto terapéutico sobre los pacientes con RA y, de hecho, dicho efecto se llevaría a cabo de una manera mucho más selectiva que con otros fármacos anti-inflamatorios, como los corticosteroides o los anti-TNF  $\alpha$  (218).

### 1.2.3.2 GRANZIMAS Y CÁNCER COLORECTAL

Los pacientes con colitis ulcerosa (*ulcerative colitis* ó UC) tienen un riesgo superior que la población general para el desarrollo de CCR, especialmente en pacientes con un incorrecto tratamiento de la enfermedad. Estos pacientes tienen altos niveles de linfocitos que expresan GZMA. Además, los pacientes que expresan altos niveles de GZMA en sus linfocitos CD4+ integrinaE+ tienen una mejor respuesta al tratamiento anti-inflamatorio con el biológico etrolizumab (un anticuerpo monoclonal contra la subunidad b7 integrina), y dicha respuesta se relaciona con un descenso de los niveles de expresión de GZMA en sus células CD4+ integrinaE+ (228).

Si empleamos el modelo murino de DSS/AOM para inducir un proceso inflamatorio en el colon, los ratones KO en GZMA son más resistentes al desarrollo de UC que los WT, y la incidencia de CCR está reducida en el subgrupo KO GZMA (220). Además, la inhibición de GZMA con una diana específica, reduce el número y tamaño de los CCR en los ratones WT en GZMA (220). Al contrario que con GZMA, los animales KO para GZMB fallecen pronto cuando los CCR se desarrollan en este modelo animal, indicando que la GZMB ejerce un rol protector en este modelo, confirmando la relación positiva descrita entre la expresión de GZMB y el pronóstico en los pacientes con CCR (162,192,193). La acción de GZMA en el CCR puede explicarse a través de su mecanismo perforina-independiente en el ECM, modulando mecanismos relacionados con la EMT en los momentos más iniciales del desarrollo del CCR (mutaciones de beta-catenina y desarrollo de focos de criptas aberrantes). Este efecto ha sido verificado en humanos mediante técnicas de expresión genómica en tejido de CCR para todos los subtipos de CMS, pero especialmente para el tipo 4 (220).

El conocimiento acumulado sobre la relación entre células inmunomoduladoras y cancer, tanto en su inicio, como en su progresión, ha permitido el desarrollo de diversas inmunoterapias efectivas. La inmunoterapia consiste en anticuerpos que bloquean los “*inhibitory immune checkpoints*” (i.e., PD1/PDL1, CTLA4, or TIM3) y de esta forma mejoran la respuesta inmune anti-cancerígena. Son fármacos con un futuro prometedor, actualmente muy utilizados en cánceres como el pulmonar o el melanoma (229). Aunque estas terapias tienen una eficacia muy alta y un espectro pequeño de efectos secundarios en relación a otros tratamientos para este mismo fin como la quimioterapia u otros fármacos anti-inflamatorios, existen efectos secundarios relacionados con el sistema inmunológico que deben tenerse en cuenta, ya que

algunos pueden ser graves y afectar a la morbi-mortalidad del paciente. De hecho, alterar el delicado equilibrio entre la protección del huésped contra el cáncer y las reacciones autoinmunes/inflamatorias es el principal problema de estas nuevas terapias (162).

Los resultados en humanos y en ratones sugieren que la GZMB, pero no la GZMA, está involucrada en el control del CCR (192,193). Por tanto, la evidencia experimental indica que la contribución de GZMB a la inmunovigilancia e inmunoterapia del cáncer podría estar relacionada con el tipo de tumor o, más concretamente, con el equilibrio entre la presencia de células Treg que expresan GZMB o células LTcCD8 +/ NK que igualmente la expresen. Por lo tanto, en base a la solidez de los datos experimentales, GZMA está emergiendo como la opción terapéutica más viable dentro de la familia GZM para prevenir y / o tratar el cáncer, especialmente los cánceres en los que la inflamación juega un papel clave, como en el CCR. La inhibición de GZMA ofrece muchas ventajas sobre los enfoques convencionales de tratamiento dirigidos a citoquinas inflamatorias, ya que, el bloqueo de citocinas inflamatorias como el TNF- $\alpha$  o IL-6 aumenta la susceptibilidad a infecciones bacterianas, virales y fúngicas (es decir, tuberculosis, toxoplasmosis, candidiasis, aspergilosis, VIH y hepatitis) y el desarrollo del cáncer (230,231), algo que no se espera con el bloqueo de GZMA (162,232-234). La inhibición de la inflamación mediada por GZMA podría ser beneficiosa a diferentes niveles, incluida la prevención del desarrollo del cáncer, la progresión del cáncer (es decir, el desarrollo de metástasis) y la mejora de la eficacia de otros medicamentos que se conoce que pueden ser afectados por el microambiente inflamatorio (162).

Con todo lo anteriormente descrito consideramos que es muy probable que la proteína inflamatoria GZMA a través de un mecanismo predominantemente PRF1 independiente y mediante la modificación de proteínas del ECM, influyendo en los procesos de EMT, pueda inducir una peor evolución de los procesos tumorales inflamación-dependientes como es el CCR. Su expresión puede verse influida por parámetros dependientes del diagnóstico (localización del CCR, estadio, marcadores histológicos pronósticos en la pieza quirúrgica...), por parámetros dependientes del tratamiento, entendido como influencia de la expresión de GZMA en la respuesta al mismo o como modificación de su expresión en función del mismo y por parámetros pronósticos del CCR en términos de DFS, PFS, OS y supervivencia por CCR. Su inhibición, como queda claro después de los datos aportados, parece que no influye en el desarrollo de otras neoplasias o procesos infecciosos graves, por lo que podría ser una diana terapéutica aparentemente segura para modificar la evolución de los pacientes con CCR. Sobre estas premisas hemos elaborado la hipótesis y objetivos de esta tesis.

## **2. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La GZMA es una proteína proinflamatoria expresada principalmente por los LTc y las células NK en el microambiente tumoral del CCR y su expresión se puede relacionar con un peor pronóstico en estos pacientes. Debido a lo anterior, esta proteína podría ser una potencial diana terapéutica en un futuro para esta enfermedad.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVOS PRIMARIOS**

- 1) Analizar la presencia de GZMA en la mucosa cólica tumoral, en el margen invasivo peritumoral y en la mucosa sana más alejada de la zona del tumor en pacientes con CCR y determinar si existe alguna relación, respecto a la tinción de GZMA, entre las zonas estudiadas.
- 2) Determinar si los niveles tisulares de GZMA se relacionan con el diagnóstico (principalmente estadio tumoral y marcadores histológicos en pieza quirúrgica), tratamiento (respuesta al mismo y relación con el tipo de tratamiento recibido) y pronóstico (DFS,PFS, OS) de los pacientes con CCR.

#### **3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- 1) Desarrollar y optimizar la técnica de IHQ para la detección de GZMA en tejido cólico de pacientes con CCR.
- 2) Ampliar el conocimiento sobre el papel de la GZMA en la génesis y desarrollo del CCR en humanos en la práctica clínica habitual con técnicas estándar como la IHQ.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio de centro único, retrospectivo, de cohortes. Se seleccionaron pacientes diagnosticados de CCR mediante colonoscopia entre noviembre de 2006 y junio de 2012 en el Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” (HCULB) de Zaragoza con seguimiento hasta junio de 2017 asegurando para todos los pacientes al menos 5 años de seguimiento.

Los pacientes se seleccionaron a partir de una base de datos propia de pacientes diagnosticados de CCR del servicio de aparato digestivo del HCULB. Los datos de los pacientes se recogieron a partir de revisión de historias clínicas del HCULB e historia clínica electrónica de Aragón, bases de datos de familiares de pacientes con CCR del servicio de digestivo del HCULB y registros oficiales de la comunidad autónoma (registro de mortalidad de Aragón).

### **4.2. POBLACIÓN A ESTUDIO**

Pacientes procedentes del HCULB de Zaragoza diagnosticados de CCR mediante colonoscopia en el período comprendido entre noviembre de 2006 y junio de 2012, candidatos a cirugía cólica por cualquier motivo relacionado con su CCR (curativo/paliativo/cirugía urgente) y de los que se dispone de pieza quirúrgica.

Se ha realizado un seguimiento de los pacientes desde la fecha de la colonoscopia diagnóstica del CCR motivo de inclusión en el estudio (Fecha de inclusión) hasta la fecha fin de seguimiento (30/06/2017) teniendo todos los pacientes al menos 5 años de seguimiento.

#### 4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes mayores de 18 años.
- CCR con posibilidad de estadiaje.
- CCR intervenido quirúrgicamente con pieza quirúrgica disponible en el servicio de anatomía patológica del HCULB.
- Existencia en el momento de realización de la colonoscopia diagnóstica únicamente de una patología neoplásica activa, el CCR.

#### 4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes con CCR, pero sin posibilidad de estadiaje completo de su enfermedad.
- Pacientes con CCR no subsidiarios a intervención quirúrgica de su neoplasia.
- Pacientes con CCR operados en un centro distinto al HCULB.



- Pacientes con CCR de los que no se dispone de pieza de intervención quirúrgica en el servicio de anatomía patológica del HCULB.
- Cánceres diferentes al CCR diagnosticados mediante colonoscopia.
- Cánceres activos extra-colónicos en el momento del diagnóstico de CCR.
- Lesiones premalignas de colon.
- Pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.
- Pacientes con historia conocida o sospechada de cáncer colorectal hereditario.

#### **4.3. REGISTRO DE LA INFORMACIÓN Y FUENTES DE DATOS**

La selección de la población a estudio se realizó a través de una base de datos propia de pacientes con CCR diagnosticados mediante colonoscopia del servicio de aparato digestivo del HCULB. La recogida de información de cada paciente se realizó desde las fuentes de datos de intranet del HCULB, el acceso a la historia clínica electrónica unificada de Aragón, el acceso a la base de datos de familiares de pacientes con CCR del servicio de aparato digestivo del HCULB y la información del registro oficial de la mortalidad de Aragón. Se detalla a continuación el tratamiento de los datos en cada una de las fuentes de datos utilizada.

##### **4.3.1. REGISTRO DE PACIENTES CON CCR DE LA UNIDAD DE ENDOSCOPIAS DEL HCULB**

Desde el año 2006 hasta el año 2014 una enfermera especializada en investigación clínica (P.R.) perteneciente a la plantilla del servicio de Aparato Digestivo ha realizado una recopilación prospectiva en un registro específico de todos los pacientes diagnosticados de CCR mediante colonoscopia durante dicho período. Esta actividad se recogía de manera sistemática dentro del proceso hospitalario del cáncer de colon. La enfermera, registraba todos los pacientes a los que se les realizaba una colonoscopia diagnóstica y como hallazgo el médico endoscopista sospechaba la presencia de una neoplasia colorectal, motivo por el cual se avisaba a la enfermera responsable, se registraba el paciente y posteriormente se contactaba con el mismo para informarle y recabar su consentimiento para poder utilizar de manera anónima sus datos y muestras biológicas para su posterior uso si era preciso. Este registro ha sido la fuente de datos de donde se han extraído los candidatos al estudio y sobre los que se han valorado los criterios de inclusión y exclusión.

Asimismo, el servicio de aparato digestivo del HCULB dispone de un registro propio realizado en gran parte durante el período que nos ocupa gracias al trabajo de una enfermera de investigación (Y.M.) con datos de interés, entre otros, respecto a los antecedentes familiares de

CCR u otras neoplasias, de pacientes diagnosticados de CCR en nuestro servicio. El registro dispone de datos desde 1988 hasta 2012, tiene formato digital y existen datos de tres grandes grupos diferenciados que engloban pacientes con síndromes polipósicos, CCRHNP y el resto de pacientes sin síndromes genéticos conocidos. Esta información ha sido utilizada para completar los datos acerca de los antecedentes familiares de CCR en el grupo de pacientes seleccionados para este estudio.

#### 4.3.2. DATOS DE HISTORIA CLÍNICA ELECTRÓNICA INTRAHOSPITALARIA

En un primer momento, se obtuvieron todos los datos demográficos, clínicos, diagnósticos, de estadiaje, de tratamiento, de evolución y mortalidad intrahospitalaria a través de la INTRANET del HCULB. INTRANET consiste es una plataforma electrónica de datos médicos de pacientes correspondiente al HCULB con acceso a todos los informes clínicos realizados desde consultas externas, pruebas de imagen, endoscopia, anatomía patológica, protocolos quirúrgicos, informes de hospitalización e informes de éxitus intrahospitalarios de los pacientes que han acudido por el motivo que sea a dicho hospital. Con la implementación de la historia clínica electrónica unificada de Aragón con acceso a datos de otros centros hospitalarios de la comunidad y datos de interés de atención primaria, se han completado y corroborado los datos de los pacientes incluidos en este estudio, haciendo especial hincapié en datos sobre tratamiento oncológico recibido, seguimiento clínico, y mortalidad (éxitus extrahospitalarios).

#### 4.3.3. REGISTRO DE MORTALIDAD DE ARAGÓN

Los datos acerca de la mortalidad intra y extrahospitalaria de los pacientes del estudio se han obtenido a través del registro de la mortalidad de Aragón mediante un documento cifrado con las fechas de defunción, así como a través de la utilización de los datos obtenidos mediante la historia clínica electrónica, donde de igual forma se especifica dicha fecha de defunción.

#### 4.3.4. BASE DE DATOS EPICOLON

Durante el período de realización de este estudio, se han registrado los datos de los pacientes incluidos, de manera paralela a la base creada para el estudio, en una base de datos auspiciada por la AEG, "EPICOLON". Dicha base de datos es un registro multicéntrico nacional de todos los pacientes con CCR diagnosticados en los centros participantes en el territorio español. Abarca

pacientes con CCR esporádico, CCR familiar, CCRHNP y poliposis hereditarias. Se trata de un registro online, gestionado desde el Hospital Clinic de Barcelona, abierto desde 1999 hasta la actualidad, que sigue vigente y que ha tenido varias versiones, siendo la actual EPICOLON III (Anexo I). Este registro ha sido la base de multitud de comunicaciones científicas nacionales e internacionales y de él se han derivado artículos científicos de reconocido prestigio.

#### **4.4. VARIABLES A ESTUDIO**

##### 4.4.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS RELACIONADAS CON EL PACIENTE

- Edad al diagnóstico del CCR: Variable cuantitativa discreta. Edad del paciente en años en el momento de la colonoscopia diagnóstica del CCR motivo de inclusión en el estudio. Se calcula como la diferencia entre la fecha de nacimiento y la fecha de la colonoscopia diagnóstica (Fecha de inclusión).
- Sexo: Variable cualitativa nominal dicotómica (Hombre/Mujer).
- Peso (kg) al diagnóstico: variable cuantitativa continua.
- Talla (cm) al diagnóstico: variable cuantitativa continua.
- IMC: Índice de Masa Corporal, variable cuantitativa continua calculada como  $\text{peso}(\text{kg})/(\text{talla}(\text{m}))^2$ , recodificada a variable cualitativa ordinal con cuatro categorías siendo: Peso inferior al normal: <18,5. Normal: 18,5 – 24,9. Sobrepeso: 25,0 – 29,9. Obesidad:  $\geq 30,0$ .
- Motivo de la realización de la colonoscopia diagnóstica del CCR. Referida al CCR motivo de inclusión en el estudio: variable cualitativa nominal dicotómica (síntomas, vigilancia/cribado).
  - Síntomas: Rectorragia, anemia ferropénica, cambio de ritmo gastrointestinal, síndrome constitucional, dolor abdominal, hematoquecia, tenesmo rectal, dolor anal, cuadro oclusivo, u otros. Se ha diferenciado la presencia o ausencia de todos los síntomas mencionados de manera independiente. Registrados como variables cualitativas nominales dicotómicas (sí/no).
  - Vigilancia/cribado: Pacientes asintomáticos al diagnóstico. Vigilancia: seguimiento endoscópico por CCR/lesiones premalignas previas. Cribado: colonoscopia directa ó SOH positiva en función del grupo de riesgo de cada paciente según su historia personal y/o familiar.

- Antecedentes familiares de CCR: En el grupo de pacientes de riesgo medio, tiene en cuenta si los pacientes tenían o no antecedentes familiares de CCR, sin especificar el grado de parentesco ni el número de familiares afectados. Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- CCR Familiar: A pesar de que la definición actual de CCR familiar ha cambiado recientemente, debido a que no está plenamente integrada en la práctica clínica habitual, se ha decidido usar la definición anterior a la misma, la cual incluye pacientes con 1 familiar de 1º grado ≤60 años con diagnóstico de CCR o 2 familiares de 1º grado independientemente de la edad al diagnóstico con CCR. Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Muerte por cualquier causa al final del seguimiento: Variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/desconocido). En el caso de desconocido no existen evidencias objetivas de su situación al final del seguimiento consultando las fuentes de información disponibles.
- Estado a fin de seguimiento: Estado del paciente a fecha de 30/06/2017, variable cualitativa nominal policotómica (vivo, fallecido, progresión, recidiva, desconocido).
  - Vivo: Paciente vivo al final del seguimiento sin ninguna evidencia endoscópica y/o por imagen radiológica de recidiva tumoral.
  - Fallecido: Paciente que ha fallecido por cualquier motivo durante el periodo de seguimiento.
  - Progresión: Paciente vivo al final del seguimiento con enfermedad oncológica activa demostrada principalmente por pruebas de imagen candidato a tratamiento con intención paliativa o a no recibir tratamiento, en el momento del final del seguimiento.
  - Recidiva: Paciente vivo al final del seguimiento con evidencia endoscópica y/o por pruebas de imagen de recidiva tumoral con posibilidad de tratamiento con intención curativa en el momento del final del seguimiento.
  - Desconocido: Paciente del que no se conoce su situación al final del seguimiento.
- Recurrencia del CCR: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Nº de recurrencias a lo largo del seguimiento: Variable cuantitativa discreta.
- Progresión del CCR: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Muerte por CCR: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Muerte por otras causas (no CCR): Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).

- Causa de la muerte: Motivo del fallecimiento, variable cualitativa nominal policotómica (CCR, complicaciones post-quirúrgicas, otros cánceres, circulatorio, otras, desconocida):
  - CCR: Enfermedad tumoral no tratable o sin respuesta al tratamiento recibido.
  - Complicaciones post-quirúrgicas: Fallecimiento en el post-operatorio precoz y tardío debido a complicaciones puramente quirúrgicas, médicas 2º al acto quirúrgico o mixtas; todas ellas se han englobado en la misma definición.
  - Otros cánceres: Enfermedades oncológicas distintas al CCR como causa del fallecimiento.
  - Circulatorio (Cardiovascular): Principalmente infarto agudo de miocardio (IAM) y accidentes cerebro-vasculares (ACV) y sus complicaciones a largo plazo.
  - Otras: En su mayoría infecciones graves no relacionadas con el tratamiento oncológico.
  - Desconocida: No existe información objetiva de la causa del fallecimiento en los registros de información consultados.
- Existencia de un 2º tumor sincrónico/metacrónico: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Tumor Sincrónico: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no): CCR diagnosticado en la misma pieza quirúrgica o resecionado en el mismo acto endoscópico (en caso de CCR sobre pólipo degenerado susceptible a tratamiento endoscópico) que el cáncer colorectal motivo de la inclusión en el estudio.
- Tumor Metacrónico: Variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no): CCR diagnosticado en un momento cronológico previo o posterior al CCR motivo de la inclusión en el estudio. Si ambos CCR coinciden en el periodo de estudio, el CCR motivo de la inclusión en el mismo, es siempre el primero que padeció el paciente durante dicho periodo.

#### 4.4.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO Y ESTADIAJE DEL CCR

**En caso de tumores sincrónicos y metacrónicos, estas variables existen para el TUMOR 1 y el TUMOR 2, siendo el TUMOR 1 el CCR motivo de inclusión en el estudio. En caso de tumores metacrónicos si ambos CCR se diagnosticaron durante el periodo de estudio, el TUMOR 1 es el primer CCR diagnosticado durante dicho periodo.**

- Motivo de la realización de la colonoscopia diagnóstica: variable cualitativa nominal dicotómica (síntomas, vigilancia/cribado).
  - Síntomas.
  - Vigilancia/cribado.

- Localización del CCR: Existe una variable cualitativa nominal diferenciando la localización específica (Ciego, Ascendente, Ángulo Hepático, Colon Transverso, Ángulo Esplénico, Colon descendente, Sigma y Recto), otra variable cualitativa nominal con tres categorías diferenciando si se tratan de tumores de colon derecho (incluye Ciego, C. Ascendente, A. hepático, C. transverso), colon izquierdo (incluye A. Esplénico, C. Descendente y Sigma) o recto y una última variable cualitativa nominal dicotómica que distingue entre tumores de colon de cualquier localización y tumores de recto.
- Estadio inicial: Estadio según la clasificación TNM AJCC-UICC TNM *staging* 8ª edición. 2017 (94) en el momento de diagnóstico del CCR (I-IV). Existe una variable de texto libre donde se recoge el estadiaje completo y otra variable cualitativa ordinal de estadiaje numérico con cuatro categorías posibles (I, II, III, IV). Ej. T3N1M1 (ESTADIO IV) frente a únicamente estadio IV.

Como aclaración, destacar que, si en el contexto de un CCR metastásico (Estadio IV) aparece una nueva lesión neoplásica cólica en el seguimiento (CCR metacrónico) como norma general se tiene en cuenta su estadiaje loco-regional, siendo las metástasis presentes consideradas como enfermedad diseminada de la lesión basal ya conocida.

#### 4.4.3. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

- Histología CCR: variable cualitativa nominal policotómica (Adenocarcinoma/neuroendocrino/escamoso/otros).
- Resección R0: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no). Se valora como “sí” (Resección R0) o “no” (Resección R1/R2).
- Tamaño del CCR (cm): variable cuantitativa continua que corresponde con el diámetro mayor del CCR medido en la pieza de colectomía o el diámetro mayor del CCR medido sobre el pólipo degenerado resecado mediante endoscopia.
- Margen de resección (mm). Variable cuantitativa continua. Distancia libre de tumor desde donde termina el CCR hasta el extremo de resección. En caso de piezas quirúrgicas, el CCR está normalmente localizado en la zona central de la pieza de colectomía y el margen de resección termina en los extremos del colon sanos a ambos lados de la pieza de colectomía. En caso de tener dos márgenes de resección a ambos

lados del CCR muy discordantes en tamaño, se toma de referencia el margen de menor tamaño. En caso de polipectomias de pólipos degenerados con CCR, se tiene en cuenta el margen de resección en profundidad.

- Grado de diferenciación celular del CCR: variable cualitativa ordinal con tres categorías (Bien/moderado/mal diferenciado).
- Invasión vascular en la pieza del CCR: variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/desconocido).
- Invasión linfoide en la pieza de CCR: variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/desconocido).
- Tumor mucinoso: variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/desconocido).
- Estudio IHQ de inestabilidad de microsatélites en la pieza de CCR (Defecto en las proteínas reparadoras de ADN: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2): Se ha tenido en cuenta si se ha realizado o no (variable cualitativa nominal dicotómica) y en caso de realizarse, el resultado de la técnica.

#### 4.4.4 VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO DEL CCR

- Tipo de tratamiento resectivo del CCR: variable cualitativa nominal policotómica posibles (Quirúrgico/endoscópico/no tratamiento).
- Tipo de intervención quirúrgica del CCR: variable cualitativa nominal policotómica (Resección anterior alta de recto /Resección anterior baja de recto / Sigmoidectomía/ Resección anterior baja de recto y sigma/ hemicolectomía izquierda/transversectomía/hemicolectomía derecha/hemicolectomía derecha ampliada/colectomía subtotal/ colectomía total/ amputación abdomino-perineal/ otras).
- Administración de tratamiento oncológico neoadyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Administración de QT neoadyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Administración de RT neoadyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Estadio en pieza quirúrgica tras tratamiento neoadyuvante: ypTNM (I-IV). En caso de expresiones en el informe de anatomía patológica como “minima neoplasia residual” no es posible hacer una categorización más exacta del estadiaje post-neoadyuvancia.

- Respuesta en pieza quirúrgica tras tratamiento neoadyuvante (se excluye en este punto la valoración de la respuesta a QT neoadyuvante previo a cirugía resectiva de metástasis hepáticas, dado que la respuesta al tratamiento no se valora en la pieza de colectomía):
  - Respuesta parcial al tratamiento neoadyuvante en la pieza de colectomía: variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/no valorable). La respuesta parcial al tratamiento neoadyuvante consiste en la disminución, al menos de un estadio, entre el estadio inicial y el post-neoadyuvancia en pieza quirúrgica. Los casos no valorables lo son porque, el estadiaje post-neoadyuvancia o el estadiaje inicial no son lo suficientemente precisos para poder hacer la comparación entre ellos.
  - Respuesta completa al tratamiento neoadyuvante en la pieza de colectomía. variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no). Se define la respuesta completa como la ausencia de células neoplásicas en la pieza quirúrgica tras la administración previa de tratamiento neoadyuvante.
- Administración de tratamiento oncológico adyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Administración de QT adyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Administración de RT adyuvante: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Administración de QT paliativa (de inicio o con la evolución): variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).

#### 4.4.5 VARIABLES RELACIONADAS CON LA IHQ DE GRANZIMA A

**Se tratan de las variables principales del estudio y en torno a las cuales se describen los resultados del mismo.**

La valoración de cada zona analizada en los cortes histológicos de la pieza quirúrgica se ha realizado de la siguiente manera:

- ✓ Tejido sano: mucosa-submucosa de vellosidades sanas lo más alejadas posible de la zona tumoral. Presentan a nivel histológico una estructura cólica claramente reconocible e indistinguible de un tejido cólico normal. En ocasiones esta zona histológica se ha evaluado en cortes histológicos independientes del corte de tejido tumoral principal.



- ✓ Tejido del margen invasivo tumoral: áreas de mucosa-submucosa cólica inmediatamente adyacentes al tumor y zonas de tejido conectivo que rodean al tumor o se introducen en forma de ramificaciones que rodean grandes áreas de tejido tumoral. Las zonas de mucosa-submucosa adyacentes al tumor no presentan signos de degeneración neoplásica (atipia celular o alteraciones arquitecturales claras), pero, presentan una característica hiperplasia del tejido cólico con alargamiento de las vellosidades y criptas.
  - ✓ Tejido tumoral: tejido conectivo intratumoral, entre pequeños grupos de células tumorales y el grueso de celularidad tumoral.
- Tinción IHQ de GZMA. Valoración de los resultados de la tinción en cada zona de tejido de la pieza quirúrgica (sano/margen invasivo/tumoral):

Todas las mediciones se han realizado mediante un conteo manual de las células teñidas usando la magnificación del objetivo x40 del microscopio óptico NIKON Modelo CL. No se han utilizado contajes automatizados. Variable cualitativa ordinal con cuatro categorías:

➤ IHQ GZMA “pos++” (MUY POSITIVO):

Se le da esta categoría por el número de células teñidas o por su alta concentración limitada a pequeños espacios de tejido cólico. Las tinciones MUY POSITIVAS suelen darse en zonas de margen invasivo, acompañando a zonas de tejido sano POSITIVO. Tiene que haber diferencias claras en el número de células teñidas entre ambas zonas o a pesar de ser un número similar, la distribución debe estar mucho más concentrada en una u otra zona, para poder otorgarle la categoría de MUY POSITIVO

Ej. Tejido Sano: 30 células GZMA positivas dispersas en una gran zona de tejido sano, se considera POSITIVO. Margen invasivo: Zona de pequeña extensión, el 50% o menos de la sana, con las mismas 30 células GZMA positivas, se considera MUY POSITIVO

Ej. Tejido Sano: 10 células GZMA positivas, se considera POSITIVO. Margen invasivo: 40 células GZMA positivas en la misma longitud o aproximada de tejido, se considera MUY POSITIVO

- IHQ GZMA “pos” (POSITIVO): ≥6 células teñidas
- IHQ GZMA “int” (INTERMEDIO): 1-5 células teñidas

- IHQ GZMA “neg” (NEGATIVO): “Ninguna célula” teñida. Se ha considerado de igual forma hasta 1-2 células GZMA positivas teñidas, principalmente en tumores voluminosos.

Para el total de piezas histológicas de CCR analizadas con tinción de IHQ de GZMA, se han tenido en cuenta los resultados de la tinción en cada zona de tejido descrita (sano/margen invasivo/tumoral) con las categorías estándar (neg, int, pos, pos++) y como combinación de categorías para el análisis de resultados del estudio, generando las siguientes **variables combinadas**:

- IHQ\_CAT: neg, int, (pos+ pos++)
- IHQ\_CAT2: (neg + int), pos, pos++
- IHQ\_CAT3: (neg + int), (pos+ pos++)
- IHQ\_CAT4: neg, (int+pos), pos++
- IHQ\_CAT5: neg, (int+pos+pos++)

#### 4.4.6 VARIABLES RELACIONADAS CON LA EVOLUCIÓN Y EL PRONÓSTICO DEL CCR

- Fecha del CCR metacrónico: Fecha de la colonoscopia diagnóstica del CCR metacrónico.
- Recurrencia del CCR: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Fecha de 1º recurrencia: Fecha en la que se evidencia, tras un periodo previo de seguimiento libre de enfermedad (corroborado con endoscopia y/o pruebas de imagen) la re-aparición de enfermedad oncológica activa que tras ser debidamente re-estudiada puede ser candidata a un tratamiento con intención curativa o a un tratamiento con intención paliativa o a no recibir tratamiento.
- Fecha de 2º recurrencia o sucesivas: Fecha en la que se evidencia, tras un periodo previo de seguimiento libre de enfermedad y tras el tratamiento de la 1º o sucesivas recurrencias con intención curativa (corroborado por endoscopia y/o pruebas de imagen), la re-aparición de enfermedad oncológica activa que tras ser debidamente re-estudiada puede ser candidata a un tratamiento con intención curativa o a un tratamiento con intención paliativa o a no recibir tratamiento.

Puede existir recurrencia tumoral sin progresión posterior debido a los siguientes motivos:

- El paciente ha recibido un tratamiento activo efectivo de su recidiva con respuesta completa a nivel oncológico y sin complicaciones graves.
  - El paciente fallece por complicaciones graves secundarias al tratamiento de su recidiva tumoral.
  - El paciente ha padecido una recurrencia de la enfermedad tan grave que el paciente fallece sin dar tiempo a que la enfermedad progrese o simplemente se decide que no se realizan más controles por imagen para conocer dicha progresión, ya que no se va a hacer ningún tratamiento oncológico activo.
- Progresión del CCR: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
  - Fecha de progresión: Fecha en la que se evidencia una progresión de la carga tumoral en número y/o localización de la misma, evaluado principalmente por pruebas de imagen, partiendo de una recidiva tumoral previa que no es candidata a tratamiento con intención curativa.

Puede existir progresión de la enfermedad tumoral sin recidiva previa en las siguientes situaciones:

- El paciente presenta un estadio de enfermedad irresecable conocido durante el acto quirúrgico (Ej carcinomatosis peritoneal).
- Se ha realizado una resección programada que no cumple criterios R0 y la enfermedad progresa en los primeros meses tras la cirugía.
- Pacientes con estadios IV resecables que se convierten en irresecables porque tras la cirugía del tumor primario sufren complicaciones que impiden un correcto tratamiento oncológico post-quirúrgico y la enfermedad progresa a un estadio irresecable o pacientes estadio IV candidatos a cirugía que al re-estadiar tras el tratamiento neoadyuvante y previo al tratamiento de las metástasis, éstas ya se han convertido en irresecables.
- Estadios irresecables de entrada que se intervienen de urgencia (perforación intestinal) o para control de síntomas (tumores rectales). Se dispone de pieza quirúrgica para este estudio y el paciente progresa sin recidiva tumoral previa ya que estas cirugías no tienen resección R0 de la masa tumoral.

- Muerte al final del seguimiento: variable cualitativa nominal policotómica (sí/no/desconocido).
- Fecha de la muerte.
- Muerte por CCR: variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
- Muerte por otras causas (no CCR): variable cualitativa nominal dicotómica (sí/no).
  
- Variables calculadas, relevantes para la evaluación de la evolución y pronóstico de los pacientes con CCR:
  - Tiempo hasta recurrencia: Periodo de tiempo en meses desde la fecha de inclusión del paciente hasta la fecha de la primera recurrencia.
  - Tiempo hasta la progresión: Periodo de tiempo en meses desde la fecha de la primera recurrencia que no ha podido ser tratada con intención curativa (ultima recurrencia en caso de varias recurrencias previas) hasta la fecha de progresión. En los casos que existe progresión sin recurrencia previa, ya descritos en la metodología, el periodo de tiempo será desde la fecha de intervención quirúrgica (se ha extrapolado a la fecha de inclusión debido a la proximidad de las mismas) hasta la fecha de la progresión.
  - Tiempo desde progresión a muerte: Periodo de tiempo en días desde la fecha de la 1ª progresión del CCR hasta la fecha de muerte por todas las causas.
  - Tiempo hasta muerte: Período de tiempo en meses desde la fecha de inclusión hasta la fecha de muerte por cualquier causa.
  - Tiempo hasta muerte por CCR: Período de tiempo en meses desde la fecha de inclusión hasta la fecha de muerte por CCR.
  - Tiempo hasta muerte por otras causas (no CCR): Período de tiempo en meses desde la fecha de inclusión hasta la fecha de muerte por otra causa (no CCR).

#### **4.5 DESARROLLO DEL ESTUDIO**

##### **4.5.1 RECOGIDA DE INFORMACIÓN**

Los pacientes candidatos al estudio eran seleccionados desde la base de datos del registro de pacientes con CCR del Servicio de Aparato Digestivo del HCULB. Se comprobaba que cumplían los criterios de inclusión y que no presentaban ningún criterio de exclusión. La recogida de información de cada paciente para las variables a estudio se realizó desde las fuentes de datos de intranet del HCULB, el acceso a la historia clínica electrónica unificada de Aragón, el acceso a

la base de datos de familiares de pacientes con CCR del servicio de aparato digestivo del HCULB y la información del registro oficial de la mortalidad de Aragón. Los datos de interés se registraron para su almacenaje en dos bases de datos, EPICOLON, y una base Excel independiente con las variables de interés que no estaban plasmadas en la base online EPICOLON y con los datos correspondientes al estudio de IHQ de GZMA sobre las muestras de CCR. Una vez que todos los datos se recogieron, corrigieron y comprobaron se realizó la exportación de los mismos desde el H. clinic de Barcelona (responsables del registro EPICOLON) con la información de los pacientes registrados en la base EPICOLON correspondientes al HCULB y se fusionaron con los datos del Excel independientes en un registro SPSS que recogía toda la información. A cada paciente se les asignó un código numérico disociado que sólo el investigador principal conoce. Tras la comprobación de los posibles errores secundarios a la fusión de los datos y la corrección de los datos perdidos se procede al análisis estadístico de los mismos.

#### 4.5.2 EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS DEL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y PROCESADO DE LAS MISMAS

Mediante los códigos numéricos de indentificación que están registrados en los informes de anatomía patológica (AP), se localizaron en el almacén de muestras de AP todos los cortes histológicos de las piezas quirúrgicas que fueron evaluadas en su momento para realizar el estadiaje loco-regional de los tumores a estudio. Los cortes histológicos estaban teñidos con hematoxilina-eosina mediante la técnica estándar. Se revisaron todos los cortes histológicos, buscando aquellos cortes de la pieza que, a poder ser, en un mismo portaobjetos, tuviesen una muestra representativa para las tres zonas estudiadas (sana, margen invasivo y tumoral). En ocasiones, ha sido preciso usar dos cortes histológicos distintos de cada pieza de resección quirúrgica para poder tener representadas el máximo número de zonas a estudio. Una vez que se seleccionó el corte/s histológico/s representativo/s, se identificaron la/s muestra/s de parafina desde dónde se habían extraído los cortes histológicos. El paso posterior fue la extracción de todos los bloques de parafina de interés para su posterior tratamiento, corte y generación de una nueva muestra histológica homóloga a la seleccionada por la doctoranda, para su utilización en la realización de la técnica de IHQ para GZMA (Figuras 22-24).



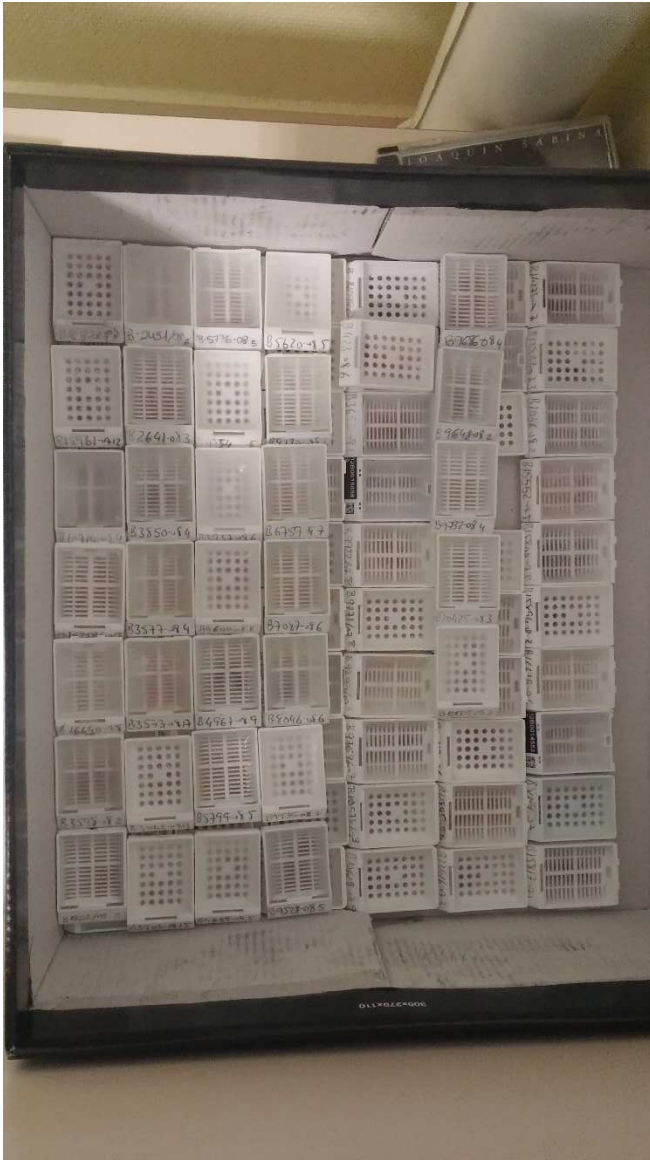


Fig 24: Bloques de parafina de las primeras 100 muestras de colectomía analizadas.

#### 4.5.3 IHQ GRANZIMA: PUESTA A PUNTO DE LA TÉCNICA (PRIMERAS 100 MUESTRAS) Y AMPLIACIÓN POSTERIOR DEL TAMAÑO MUESTRAL

El anticuerpo monoclonal de raton frente a GZMA se obtuvo de la casa comercial Inycom Biotech T001 y T003. Este anticuerpo todavía no se comercializaba en el mercado. La concentración de anticuerpo fue de 5 mg/ml. A continuación, se describe como se realizó la técnica de IHQ de GZMA sobre las muestras de tejido parafinado de CCR que fueron extraídas del servicio de AP del HCULB y trasladadas al servicio científico técnico de Microscopía y Anatomía Patológica del Instituto Aragonés de ciencias de la salud (IACS, perteneciente al IIS Aragón). Este proceso se realizó por personal experto de dicho laboratorio (AG) y el protocolo de actuación fue el siguiente:

- ✓ Tejido parafinado, cortado a 3 micras y montados en porta-objetos especiales tratados con poli-L lisina, secado en estufa a 37°C *over night*.
- ✓ Reactivos utilizados para la Inmunohistoquímica, Envision Flex, casa comercial –Agilent-
- ✓ Recuperación antigénica (RA): Citrato pH6 (k8005), 20 minutos a 96°C, equipo automático PT Link-Dako.
- ✓ Inmunohistoquímica realizada en equipo Autostainer Link 48- Dako.
- ✓ Protocolo:
  - Bloqueo con *bovine serum albumine* (BSA) al 5% a temperatura ambiente *Room Temperature*(RT) 10 minutos. A partir de aquí, lavados con *Wash Buffer* (K8007), tras cada paso.
  - Lavado.
  - Bloqueo peroxidasa endógena (SM801), 5 minutos RT.
  - Lavado.
  - Anticuerpo Granzima A, diluido 1/20, 60 minutos RT. Anticuerpo que se diluye con K8006.
  - Lavado.
  - Sistema de Visualización Amplificado: *Flex +Mouse* (K8021),30 minutos a RT.
  - Lavado.
  - *Flex horseradish peroxidase* (HRP) (SM802), 20 minutos a RT.
  - Lavado.
  - Diaminobencidina (DAB), dilución de substrato (SM8003) + cromógeno (DM827), 1/1000, 10 minutos a RT.
  - Lavado x2.
  - Contraste nuclear con Hematoxilina (K8008), 8 minutos RT.
  - Lavado con agua destilada, deshidratar y montar en medio de montaje permanente.
- ✓ Equipo para deshidratación Leica ST5020 y para el montaje Leica CV5030.
- ✓ El control negativo lo proporciona el mismo kit de IHQ para comprobar su correcto funcionamiento y el control positivo fueron cortes histológicos de amigdalectomías extraídos del servicio de AP del HCULB (Figura 25).



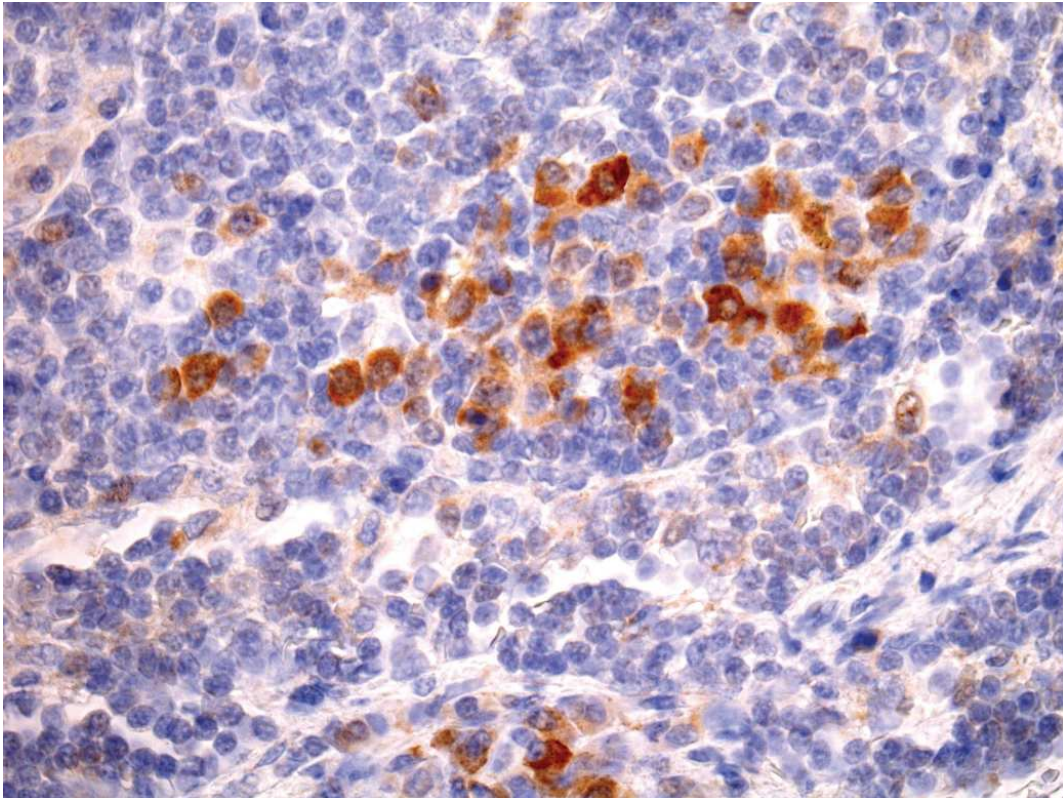


Fig 25: Control positivo de IHQ GZMA en tejido amigdalario. Microscopio óptico. Objetivo x40.

En un primer momento se realizó la IHQ de 100 piezas de colectomía cuyos bloques de parafina se habían seleccionado, y una vez que se confirmó que la técnica era correcta y la visualización de la tinción al microscopio óptico era la necesaria para realizar un correcto conteo de las células positivas, se procedió a la ampliación del tamaño muestral.

#### 4.5.4 IHQ GZMA: ESTUDIO DE CONCORDANCIA INTER-OBSERVADOR (34 muestras)

Para comprobar una correcta concordancia en la valoración por zonas de tejidos (sano/margen invasivo/tumoral) y en el uso de la escala de medida de tinción (pos++/pos/int/neg), se realizó un estudio de concordancia inter-observador entre la doctoranda y un médico adjunto senior especializado en patología gastrointestinal (GM) del servicio de AP del HCULB. La selección de muestras de IHQ a comparar fue ciega para el médico anatomopatólogo. Se seleccionaron muestras histológicas de IHQ de GZMA en CCR correspondientes a 30 pacientes (13,1% del total de pacientes del estudio), de los que se disponía de resultados de IHQ para GZMA de las 3 zonas a estudio en pieza quirúrgica (total 90 zonas a evaluar: 30 tejido sano, 30 margen invasivo peritumoral, 30 tejido tumoral). Consideramos que evaluar más del 10% del total de la muestra de pacientes era suficiente para justificar una correcta concordancia.

Para el estudio de la concordancia inter-observador se calculó el porcentaje de concordancia o acuerdo entre los dos observadores, así como el coeficiente de kappa. Se define como porcentaje de acuerdo el porcentaje de veces que dos observadores están de acuerdo respecto a que una determinada conducta está presente o no. El coeficiente kappa puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Se estima por convención que, para hablar de buena concordancia, debe ser superior a 0,75. Un valor de  $k = 0$  refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar.

El análisis de concordancia tuvo como resultado un porcentaje de concordancia del 88,9% con un coeficiente kappa de 0,761, ambos valores analizados para la comparativa de IHQ\_CAT5 (neg vs (int, pos y pos++)). Tras los resultados anteriores se consideró aceptable proseguir con el desarrollo del estudio planteado.

#### **4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Previo al análisis estadístico se realizó un control de calidad para confirmar la validez de los datos. Tras asegurar que los datos reunían los atributos necesarios, fundamental para asegurar la consistencia de los resultados, se procedió al análisis estadístico de la información.

Se realizó en primer lugar un **análisis descriptivo** de las variables del proyecto (variables demográficas, clínicas, de diagnóstico y estadiaje, tratamiento, IHQ de GZMA, evolución y pronóstico del CCR) considerando paciente o tumor como unidad de estudio según la variable de interés. Para variables cualitativas se aportan frecuencias relativas (%) y absolutas (n). Para variables cuantitativas media  $\pm$  desviación estándar junto con mediana y rango intercuartílico.

Se incluyen además representaciones gráficas que permiten visualizar las características de la distribución de una variable y ayudan también a describir la relación entre dos variables de interés y de este modo se adaptan las representaciones a la naturaleza de los datos.

Para analizar la relación entre las variables a estudio, se realizó un **análisis bivariante**. Se aplicó el test de Chi-Cuadrado para mostrar la relación entre variables cualitativas, y fue sustituido por el test exacto de Fisher cuando no se cumplieron los criterios de aplicación. Para comparar la distribución de una variable cuantitativa entre grupos independientes se utilizó el test U Mann-Whitney para dos grupos y el test de Kruskal Wallis cuando la variable cualitativa tenía más categorías. Para analizar normalidad de las variables cuantitativas se utilizó el Test de

Komolgorov-Smirnov. En ciertos análisis se muestra un bajo número de efectivos en algunos de los grupos por lo que los resultados deberán interpretarse con cautela.

Se ha utilizado el método de Kaplan-Meier para el estudio de las **curvas de supervivencia**. La supervivencia es una medida de tiempo al desarrollo de un determinado evento, se mide como una probabilidad de permanecer “sin evento” durante un tiempo determinado. La observación de cada paciente se inició en el momento del diagnóstico del CCR motivo de inclusión en el estudio y continuó hasta el evento o hasta fin de seguimiento (30/06/2017). Se utilizó el test de Log-Rank para la comparación de las curvas de supervivencia, siendo sustituido por el test de Breslow cuando las curvas de supervivencia se cruzan, evidencia de una divergencia del azar proporcional.

También se han llevado a cabo una serie de modelos predictivos basados en **análisis de regresión de Cox** para modelar los riesgos que afectan a la supervivencia. La fuerza de asociación entre las variables independientes y las variables resultado se mide en términos de Hazard Ratio (HR) junto con sus intervalos de confianza al 95% (IC95%).

En el seguimiento, los pacientes censurados son aquellos pacientes con pérdida de seguimiento o que en el período de estudio no han presentado el evento de interés o en el caso de supervivencia por CCR, aquellos que han fallecido por otro motivo. Se han considerado a fin de estudio (30/06/2017) la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia libre de progresión. Se ha considerado a 1 año, a 5 años y a fin de estudio (30/06/2017) la supervivencia global. Los conceptos utilizados se definen a continuación:

- **Supervivencia libre de enfermedad (DFS: Disease Free Survival):** Proporción de pacientes que sobreviven sin signos de recurrencia de la enfermedad, después de un tratamiento con intención curativa, transcurrido un período de tiempo definido desde la fecha de inclusión del paciente en el estudio.
- **Supervivencia libre de progresión (PFS: progression-free survival):** Proporción de pacientes que sobreviven y permanecen estables en la presencia de carga tumoral no tratable con intención curativa, es decir, se mantienen sin progresión de la enfermedad, ya sea en tamaño o en número de carga tumoral detectada, transcurrido un período de tiempo definido desde la fecha de la última recurrencia tratable con intención curativa (en caso de haber varias) o desde la fecha de inclusión en el estudio (si existe progresión sin recurrencia previa).

- **Supervivencia global (OS: Overall Survival):** Proporción de pacientes que siguen vivos transcurrido un período de tiempo definido desde la fecha de inclusión del paciente en el estudio. Se han realizado además dos estudios adicionales de supervivencia según causa de muerte (1) muerte por CCR (2) muerte por otras causas (no CCR).

Se estableció el nivel de significación estadística para un p valor menor a 0,05. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software IBM SPSS® Statistics versión 26.0 para Windows con licencia de la Universidad de Zaragoza (SPSS Ibérica, Madrid, Spain). También se utilizó R versión 4.1.0, un lenguaje y entorno para la computación estadística (Fundación R para la informática estadística, Viena, Austria).

#### **4.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) (Anexo II). Los datos se han recogido a partir de revisión de historias clínicas del HCULB, acceso a la historia clínica electrónica de Aragón, bases de datos del Servicio de Aparato Digestivo del HCULB y registros oficiales de la comunidad autónoma (registro de mortalidad de Aragón). El acceso a los datos de los pacientes está restringido al personal participante en el estudio. La base de datos está protegida con contraseña, y almacenada en un ordenador del Servicio de Digestivo del HCULB, con clave de acceso al mismo, y que está dentro del sistema informático del hospital con sus sistemas de cortafuegos correspondientes.

Toda la información recopilada de los pacientes incluidos en el estudio se mantendrá de forma estrictamente confidencial, siendo sometida a la normativa legal vigente en España (Ley Orgánica de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales (LO 3/2018) y la Ley 41/2002, de información para el paciente, así como el Real Decreto 223/2004).

De acuerdo con lo establecido en la declaración de Helsinki actualmente vigente (octubre 2008, Seúl), en la investigación en salud en que se utilicen datos humanos identificables, el investigador debe pedir normalmente el consentimiento al sujeto para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización de datos.

Tanto para el acceso y manejo de datos clínicos como para la obtención de muestras biológicas cada paciente firmaba un consentimiento informado genérico, no específico para este estudio (Anexo III), documento oficial del Gobierno de Aragón y del IACS.

## 5 RESULTADOS

Se estimó la incidencia esperada de CCR según nuestra población de referencia en el HCULB y la incidencia observada a partir de la fuente de datos principal del estudio desde donde seleccionamos los pacientes, la base de datos de pacientes con CCR del servicio de aparato digestivo del HCULB (Figura 26).

Desde la base de pacientes del servicio de aparato digestivo del HCULB, se seleccionaron tras comprobar que cumplían los criterios de inclusión y no presentaban criterios de exclusión, los 228 pacientes del estudio (Figura 26).

- Incidencia esperada de CCR en el Sector Sanitario III (HCULB) Zaragoza 2006-2012: 192 casos/año (1)

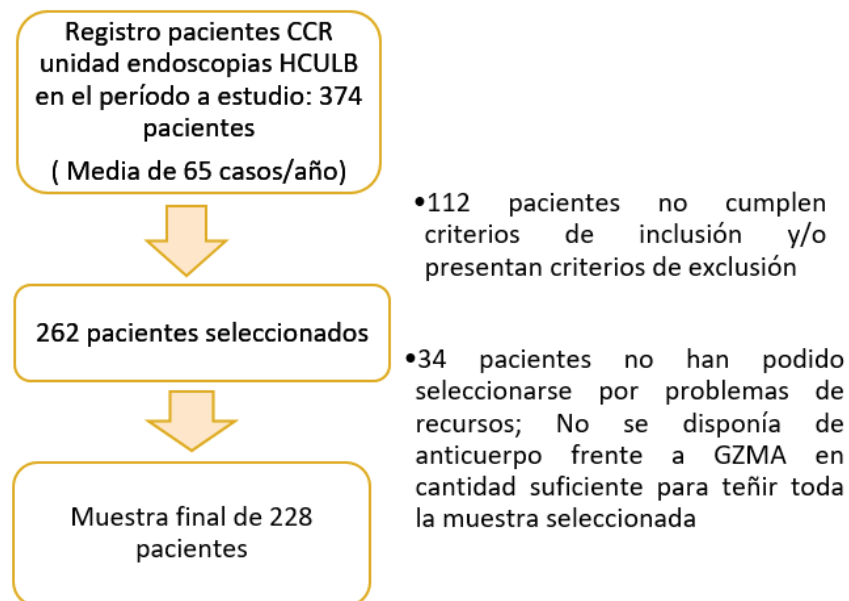


Fig 26: Diagrama de flujo de pacientes del estudio, conformación del grupo de pacientes seleccionados. (1): Datos extrapolados teniendo en cuenta informes oficiales del Registro del Cáncer de Aragón, Servicio General de Salud Pública sobre la incidencia de CCR en Aragón para los años 2002-2006. Las poblaciones de Aragón y de Zaragoza provincia, así como los datos acerca del área de influencia del Sector Sanitario III Aragón (HCULB) se han extraído del padrón

oficial de Aragón y de informes oficiales publicados por la gerencia del Sector Sanitario III (HCULB), respectivamente (230-232).

### **5.1 RESULTADOS DESCRIPTIVOS POR PACIENTE**

Contamos para el estudio con 228 pacientes procedentes del HCULB de Zaragoza diagnosticados de CCR mediante colonoscopia entre noviembre de 2006 y junio de 2012, candidatos a cirugía cólica por cualquier motivo relacionado con su CCR y de los que se dispone de pieza quirúrgica.

Los pacientes tienen una edad media al diagnóstico de 71,3±10,4 años, con un rango de 37-90 años. El 50% de los pacientes tiene 73 años o más (RIQ: 65,3-78,8). El 61,0% son hombres (139/228).

Se obtienen datos del índice de masa corporal (IMC) de un 64,9% de los pacientes (148/228), el valor medio es de 28,9±4,9 con una mediana de 28,1 (RIQ: 25,6-31,6) Kg/m<sup>2</sup>. Sobre los 148 pacientes con datos, un 45,9% presenta sobrepeso y un 34,5% obesidad.

La indicación de la realización de la colonoscopia diagnóstica del CCR motivo de inclusión en el estudio es en el 98,2% de los casos síntomas (Tabla 9). En la Tabla 10 se muestran los síntomas más habituales, siendo rectorragia el más frecuente (43,3%). Un 93,8% de los pacientes presenta únicamente un síntoma y un 6,3% dos (14/224).

Se observan 5 pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CCR familiar (2,2%) y 13 pacientes (5,7%) con antecedentes familiares conocidos de CCR.

**Tabla 9:** Indicación de la realización de la colonoscopia diagnóstica del CCR motivo de inclusión en el estudio.

	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>SÍNTOMAS</b>	224	98,2
<b>CRIBADO-VIGILANCIA*</b>	4	1,7

\*Un cribado SOH poblacional y 3 colonoscopias directas. De las colonoscopias directas, 1 por antecedentes familiares de polipos adenomatosos en dos familiares de 1º grado, 2 por antecedentes familiares de CCR (1º grado >60 años)

**Tabla 10:** Desglose de los síntomas presentados, indicación de la realización de la colonoscopia diagnóstica de CCR motivo de inclusión en el estudio (sobre 224 pacientes con motivo “síntomas”).

	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>RECTORRAGIA</b>	97	43,3
<b>ANEMIA FERROPÉNICA</b>	63	28,1
<b>CAMBIO RITMO DEPOSICIONAL</b>	41	18,3
<b>SÍNDROME CONSTITUCIONAL</b>	14	6,2
<b>DOLOR ABDOMINAL</b>	11	4,9
<b>HEMATOQUECIA</b>	3	1,3
<b>TENESMO RECTAL</b>	3	1,3
<b>DOLOR ANAL</b>	2	0,9
<b>CUADRO OCLUSIVO</b>	2	0,9
<b>Otros*</b>	2	0,9

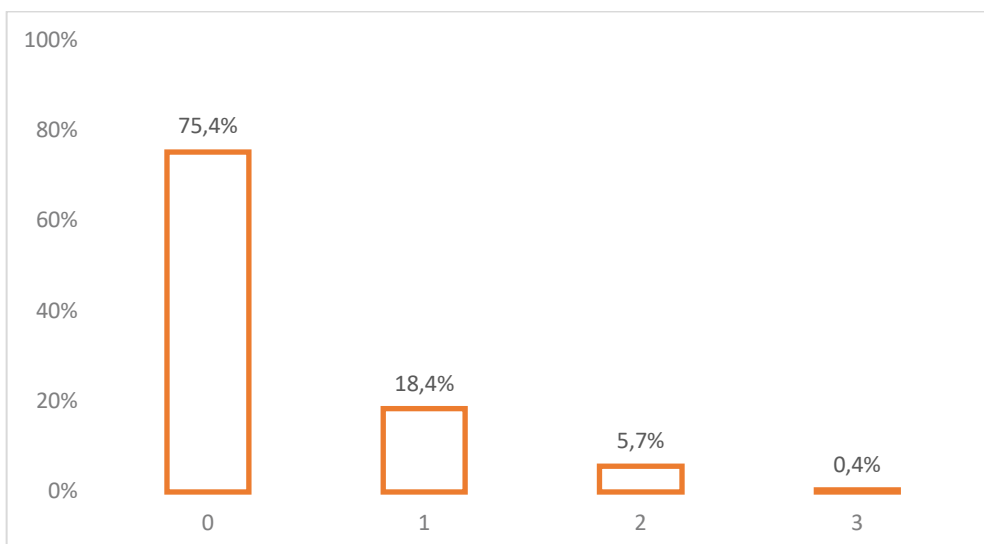
\*Se incluyen en “otros” aquellos síntomas observados en un único paciente: Masa abdominal, Fecaluria (Fístula entero-vesical).

Al finalizar el seguimiento del estudio, un 48,7% de los pacientes sigue vivo (111/228), la situación de los pacientes a fin de seguimiento se presenta en la Tabla 11.

**Tabla 11:** Situación a fin de seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio.

	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>VIVO</b>	111	48,7
<b>FALLECIDO</b>	107	46,9
<b>PROGRESADO</b>	3	1,3
<b>RECIDIVA</b>	2	0,9
<b>DESCONOCIDO</b>	5	2,2

Durante el seguimiento, un 24,6% de los pacientes ha tenido alguna recurrencia (56/228). La distribución de los pacientes según el número de recurrencias se muestra en la Figura 27.



**Fig 27.** Número de recurrencias por paciente en el periodo de estudio.

Un 19,3% de los pacientes ha tenido progresión durante el seguimiento (44/228). Un 46,9% de los pacientes ha fallecido durante el estudio (107/228), la causa de la muerte se muestra en la siguiente tabla (Tabla 12).

**Tabla 12:** Causas de la muerte (sobre 107 pacientes fallecidos) de los pacientes del estudio.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>CCR</b>	55	51,4
<b>DESCONOCIDA</b>	18	16,8
<b>COMPLICACIONES POST-CIRUGÍA</b>	12	11,2
<b>OTRAS NEOPLASIAS</b>	10	9,3
<b>CARDIO-VASCULAR</b>	8	7,5
<b>OTRAS*</b>	4	3,7

\* Otras: 2 pacientes fallecen por bronconeumonía bilateral, 1 paciente por meningitis neumocócica y 1 paciente por shock séptico secundario a fascitis necrotizante post-traumática en extremidad superior izquierda.

Un 6,6% de los pacientes (15/228) tiene un segundo tumor, en 6 casos se trata de un tumor sincrónico (2,6%) y en 9 casos de un tumor metacrónico (3,9%). **Se aportan los datos de los 243 tumores a estudio en el siguiente apartado.**



## **5.2 RESULTADOS DESCRIPTIVOS POR TUMOR**

### **5.2.1 VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CCR**

Un 95,1% de los tumores tienen indicación de su colonoscopia diagnóstica debido a la aparición de síntomas (231/243) y un 4,9% de los tumores tienen indicación de su colonoscopia diagnóstica como consecuencia de estrategias de cribado/vigilancia (12/243).

Un 66,7% de los tumores se localizan en colon (162/243) y un 33,3% en recto (81/243). Un 33,7% de los tumores a estudio (82/243) se localizan en colon derecho, un 32,9% en colon izquierdo (80/243) y un 33,3% en recto (81/243). La localización concreta se muestra en la Tabla 13.

**Tabla 13:** Localización exacta de los tumores a estudio.

	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>CIEGO</b>	41	16,9
<b>ASCENDENTE</b>	19	7,8
<b>HEPÁTICO</b>	13	5,3
<b>TRANSVERSO</b>	9	3,7
<b>ESPLÉNICO</b>	3	1,2
<b>DESCENDENTE</b>	5	2,1
<b>SIGMA</b>	72	29,6
<b>RECTO</b>	81	33,3

El estadio inicial según la clasificación TNM AJCC-UICC, TNM staging 8ª edición 2017 en el momento del diagnóstico del CCR (I-IV) de los tumores a estudio se muestra en las tablas 14-17. El grueso de pacientes pertenece a estadios II y III con una proporción relativamente homogénea entre el resto de grupos (I-IV).

**Tabla 14:** Clasificación TNM AJCC-UICC, TNM staging 8º edición 2017 de los tumores a estudio en el momento del diagnóstico. Subestadiaje T

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>DESCONOCIDO</b>	3	1,2
<b>T1</b>	6	2,5
<b>T2</b>	38	15,6
<b>T3</b>	158	65,0
<b>T3-T4</b>	1	0,4
<b>T4</b>	31	12,8
<b>Tis</b>	3	1,2
<b>Tx</b>	3	1,2

**Tabla 15:** Clasificación TNM AJCC-UICC, TNM staging 8º edición 2017 de los tumores a estudio en el momento del diagnóstico. Subestadiaje N

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>DESCONOCIDO</b>	3	1,2
<b>N+</b>	3	1,2
<b>N0</b>	130	53,5
<b>N1</b>	65	26,7
<b>N2</b>	34	14,0
<b>Nx</b>	8	3,3

**Tabla 16:** Clasificación TNM AJCC-UICC, TNM staging 8º edición 2017 de los tumores a estudio en el momento del diagnóstico. Subestadiaje M

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>DESCONOCIDO</b>	3	1,2
<b>M0</b>	212	87,2
<b>M1</b>	28	11,5

**Tabla 17:** Estadio inicial de los tumores a estudio en la muestra según la clasificación TNM AJCC-UICC TNM staging 8ª edición. 2017. TNM

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>0</b>	3	1,2
<b>I</b>	35	14,4
<b>II</b>	83	34,2
<b>III</b>	84	34,6
<b>IV</b>	29	11,9
<b>II-III*</b>	7	2,9
<b>Desconocido**</b>	2	0,8

\*El estadio de tumor II-III hace referencia a aquellos tumores cuyas pruebas de imagen al diagnóstico demuestran un estadio tumoral T3-T4, pero no son capaces de asegurar la presencia o no de ganglios afectos (Nx). Todos ellos eran neoplasias rectales que recibieron tratamiento neoadyuvante con QT+RT.

\*\*Desconocido: Hace referencia a los tumores metacrónicos de dos pacientes diferentes. Un paciente diagnosticado de CCR estadio IV en tratamiento paliativo dirigido al control de síntomas, que se diagnostica de un segundo tumor en recto, sobre el que no se completa el estadiaje y sobre el que no se actúa a nivel terapéutico y un segundo paciente con un tumor rectal metacrónico operado en 1999 sobre el que no se dispone de datos suficientes como para poder estadiarlo. Ningún CCR, motivo de inclusión en el estudio, presenta un estadiaje desconocido.

#### 5.2.2 VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

En un 99,2% de los tumores analizados la histología se corresponde con el subtipo adenocarcinoma (241/243). Un 97,5% de los tumores han presentado una resección en el acto quirúrgico catalogada como R0 (237/243). Los parámetros descriptivos asociados al tamaño tumoral y al margen de resección se presentan en la Tabla 15.

**Tabla 18:** Descripción del tamaño tumoral y del margen de resección de los tumores a estudio.

	MEDIA±DE	MEDIANA (RIQ)
<b>TAMAÑO TUMORAL (cm)</b>	4,7±1,9	4,5 (3,0-6,0)
<b>MARGEN RESECCIÓN (mm)</b>	68,6±45,4	60,0 (35,0-93,8)

\*Tamaño tumoral sobre 233 tumores (95,9%) y margen de resección sobre 212 tumores (87,2%)

El grado de diferenciación celular de los tumores analizados se muestra en la Tabla 16. En el 75,3% de los casos los tumores son bien o moderadamente diferenciados.

**Tabla 19:** Grado de diferenciación celular de los 243 tumores analizados en la muestra.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>BIEN</b>	36	14,8
<b>MODERADO</b>	147	60,5
<b>MAL</b>	46	18,9
<b>DESCONOCIDO</b>	14	5,8

La distribución de los 243 tumores del estudio respecto a la presencia o no de invasión vascular, la presencia o no de invasión linfoide y la categorización o no del tumor como adenocarcinoma subtipo mucinoso, se muestran en la Tabla 17.

**Tabla 20:** Análisis descriptivo de la invasión vascular, linfática y del estudio del subtipo adenocarcinoma mucinoso en los 243 tumores del estudio.

	INVASIÓN VASCULAR	INVASIÓN LINFOIDE	TUMOR MUCINOSO
<b>SI</b>	54 (22,2%)	57 (23,5%)	41 (16,9%)
<b>NO</b>	102 (42,0%)	35 (14,4%)	119 (49,0%)
<b>DESCONOCIDO</b>	87 (35,8 %)	151 (62,1%)	83 (34,2%)

\*Se muestran frecuencias y % de cada ítem descrito.

En 20 de los 243 tumores (8,2%), se ha realizado análisis de inmunohistoquímica para MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, con expresión normal de todas las proteínas analizadas. Estas cifras se corresponden con 18 pacientes (18/228; 7,89%). De esos 18 pacientes, 2 pacientes presentaron un CCR metacrónico en el período de seguimiento del estudio.

De los 243 tumores registrados en el estudio, teniendo en cuenta los criterios de Ámsterdam y Bethesda, al menos 53 tumores cumplían condiciones para realizar inmunohistoquímica para MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 (<61 años, CCR familiar, tumor sincrónico o metacrónico). En el

estudio se observa que sólo se realizó a un 24,5% de los tumores que cumplían condiciones (13/53).

### 5.2.3 VARIABLES RELACIONADAS CON EL TRATAMIENTO DEL CCR

Un 98,4% de los tumores ha precisado tratamiento quirúrgico (239/243) y un 1,2% tratamiento endoscópico (3/243). Existe un tumor que no ha precisado tratamiento debido a que se trataba de un paciente con un tumor metacrónico de recto de nueva aparición, en el contexto de un CCR previo Estadio IV en tratamiento paliativo para el control de los síntomas.

Se muestra en la siguiente tabla (Tabla 18) el tipo de intervención quirúrgica sobre los 239 tumores que recibieron este tipo de tratamiento.

**Tabla 21:** Tipo de intervención quirúrgica sobre los 239 tumores operados.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>HEMICOLECTOMÍA DERECHA</b>	58	24,3
<b>SIGMOIDECTOMÍA</b>	50	20,9
<b>RESECCIÓN ANTERIOR BAJA DE RECTO</b>	31	13,0
<b>RESECCIÓN ANTERIOR ALTA DE RECTO</b>	29	12,1
<b>AMPUTACIÓN ABDOMINO-PERINEAL</b>	26	10,9
<b>HEMICOLECTOMÍA DERECHA AMPLIADA</b>	15	6,3
<b>OTROS*</b>	13	5,43
<b>HEMICOLECTOMÍA IZQUIERDA</b>	8	3,3
<b>COLECTOMÍA SUBTOTAL</b>	3	1,25
<b>COLECTOMÍA TOTAL</b>	2	0,8
<b>RESECCIÓN ANTERIOR BAJA DE RECTO Y SIGMA</b>	2	0,8
<b>TRANSVERSECTOMÍA</b>	2	0,8

\*En otros se incluyen aquellas intervenciones quirúrgicas que se realizaron sobre 1 único tumor, aquellas intervenciones quirúrgicas en dos tiempos/mixtas que incluyen intervención sobre la neoplasia primaria y sobre las metástasis y el caso de un tumor rectal metacrónico que se operó en 1999 pero no existen informes al respecto del tipo de intervención quirúrgica realizada.

Un 14,8% de los tumores han requerido tratamiento neoadyuvante (36/243), un 13,6% ha precisado radioterapia (33/243) y un 13,6% quimioterapia (33/243).

De los 36 tumores que precisaron tratamiento neoadyuvante (36/243), 3 recibieron tratamiento quimioterápico (1,2%) dirigido a tratar las metástasis hepáticas que presentaban y 33 recibieron tratamiento neoadyuvante dirigido al tumor primario rectal. A su vez de los 33 tumores rectales que recibieron tratamiento neoadyuvante, 3 recibieron únicamente RT (1,2%) y el resto RT + QT (12,2%). El estadio post tratamiento neoadyuvante de los 33 tumores rectales que lo recibieron se muestra en la Tabla 19 y la evaluación de la respuesta al tratamiento de los mismos, en la Tabla 20.

**Tabla 22:** Estadio post-tratamiento neoadyuvante ypTNM (I-IV) de los 33 tumores rectales que lo recibieron.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<b>0</b>	2	6,1
<b>I</b>	9	27,3
<b>II</b>	11	33,3
<b>III</b>	5	15,2
<b>IV*</b>	3	9,1
<b>MÍNIMA NEOPLASIA RESIDUAL</b>	3	9,1
<b>TOTAL</b>	33	100,0

\*Estadio IV de inicio y al final del tratamiento neoadyuvante, ya que el tratamiento no va dirigido a las metástasis sino al tumor primario rectal.

La respuesta parcial/completa en la pieza quirúrgica se ha valorado sobre los parámetros de “T” y “N”. Ej: Si un paciente **T3N1M1** (ESTADIO IV) recibe tto neoadyuvante con RT para el tumor primario rectal y pasa a estadio **TisN0M1** (ESTADIO IV), se considera respuesta parcial a pesar de ser estadio IV igualmente.

**Tabla 23:** Evaluación de la respuesta al tratamiento de los 33 tumores rectales que lo recibieron.

	RESPUESTA PARCIAL	RESPUESTA COMPLETA
<b>SI</b>	20 (60,6%)	2 (6,1%)
<b>NO</b>	6 (18,2%)	31 (93,9%)
<b>DESCONOCIDO**</b>	7 (21,2 %)	

\*Se muestran frecuencias y % de cada ítem descrito. \*\*Se cataloga como desconocido al no poder comparar estadio pre y post-tratamiento neoadyuvante por no disponer de todos los datos para ello.

Un 42,0% de los tumores precisaron tratamiento oncológico adyuvante (102/243). Un 10,3% precisaron RT (25/243) y un 39,5% QT (96/243). De los tumores que recibieron tratamiento adyuvante, 6 tumores de los 243 (2,5%) precisaron sólo RT, 77 sólo QT (31,7%) y 19 ambos tratamientos (7,8%). Como se deduce de los datos anteriores, un 58,0% de los tumores no precisaron tratamiento oncológico adyuvante.

Un 16,0% de los tumores (39/243) precisaron QT con intención paliativa de entrada o a lo largo de la evolución de su enfermedad.

### **5.3. RESULTADOS EN RELACIÓN AL OBJETIVO PRIMARIO NÚMERO 1**

Analizar la presencia de GZMA en la mucosa cólica tumoral, en el margen invasivo peritumoral y en la mucosa sana más alejada de la zona del tumor en pacientes con CCR y determinar si existe alguna relación, respecto a la tinción de GZMA, entre las zonas estudiadas.

Los datos de los que se dispone para el estudio, partiendo de la variable de IHQ con cuatro categorías (Estándar: NEG, INT, POS, POS++) para GZMA en función de las zonas analizadas, son:

SANO (S) n=204 tumores

PERITUMORAL (PT) = MARGEN INVASIVO n=237 tumores

TUMORAL (T) n=237 tumores

Tal y como se indica de manera detallada en apartado de métodos, a partir de la variable estándar de IHQ, se han creado las siguientes variables combinadas en referencia a los resultados de tinción de IHQ para GZMA, con el objetivo de ampliar el análisis:

- IHQ\_CAT: neg, int, (pos+ pos++)
- IHQ\_CAT2: (neg + int), pos, pos++
- IHQ\_CAT3: (neg + int), (pos+ pos++)
- IHQ\_CAT4: neg, (int + pos), pos++
- IHQ\_CAT5: neg, (int+pos+pos++)

En la figura 28 se muestra la distribución de la tinción para IHQ GZMA estándar en las tres zonas analizadas para los tumores a estudio.

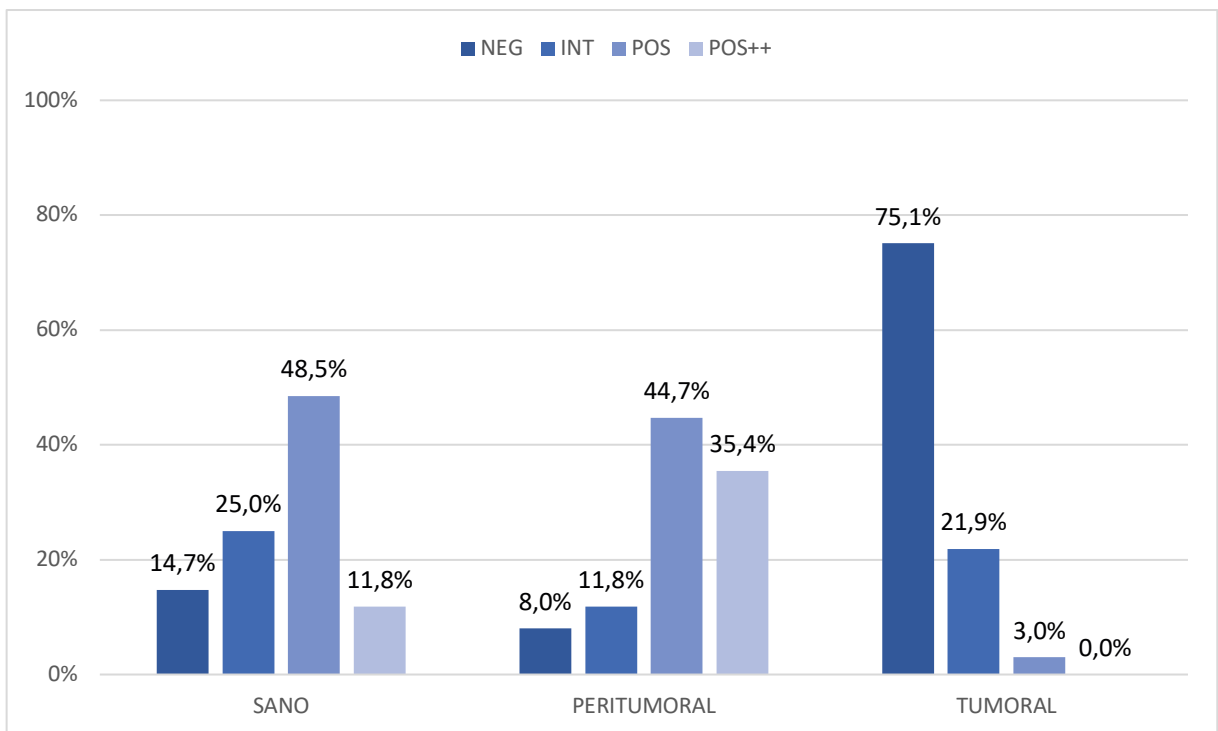


Fig 28: Distribución de la tinción para IHQ GZMA estándar (neg, int, pos, pos++) en tejido sano, peritumoral y tumoral.

En las figuras 29 y 30 se muestra la distribución de la tinción para IHQ GZMA para las variables combinadas IHQ\_CAT2 e IHQ\_CAT5 en las tres zonas analizadas para los tumores a estudio.



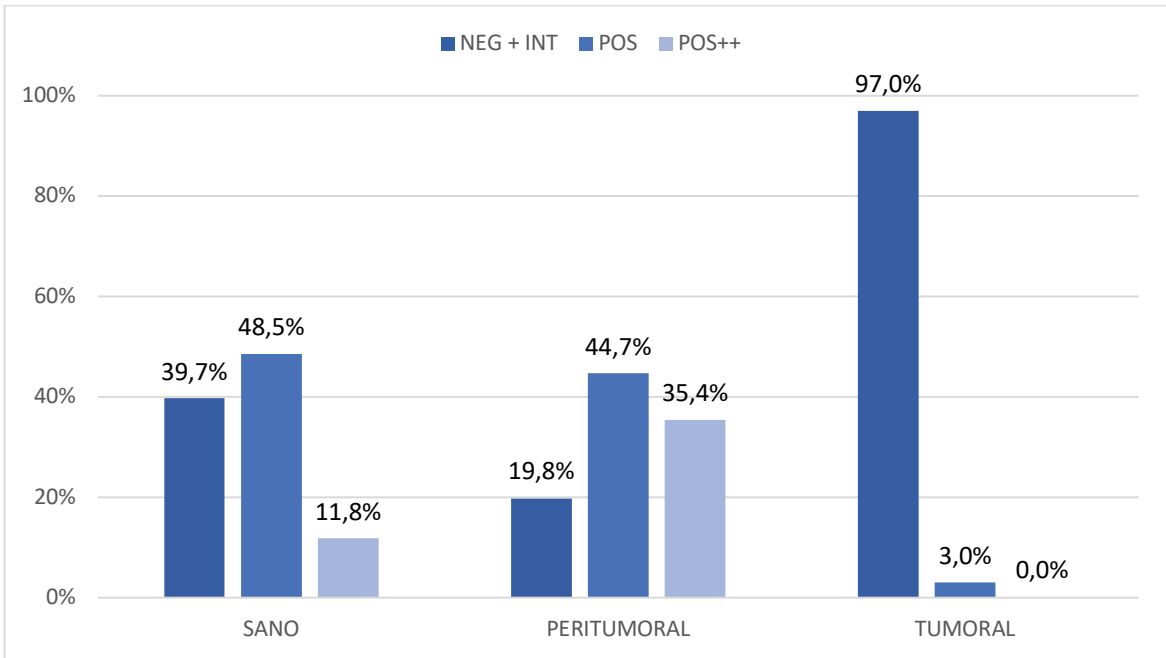


Fig 29: Distribución de la tinción de IHQ GZMA para la variable combinada IHQ\_CAT2 en tejido sano, peritumoral y tumoral.

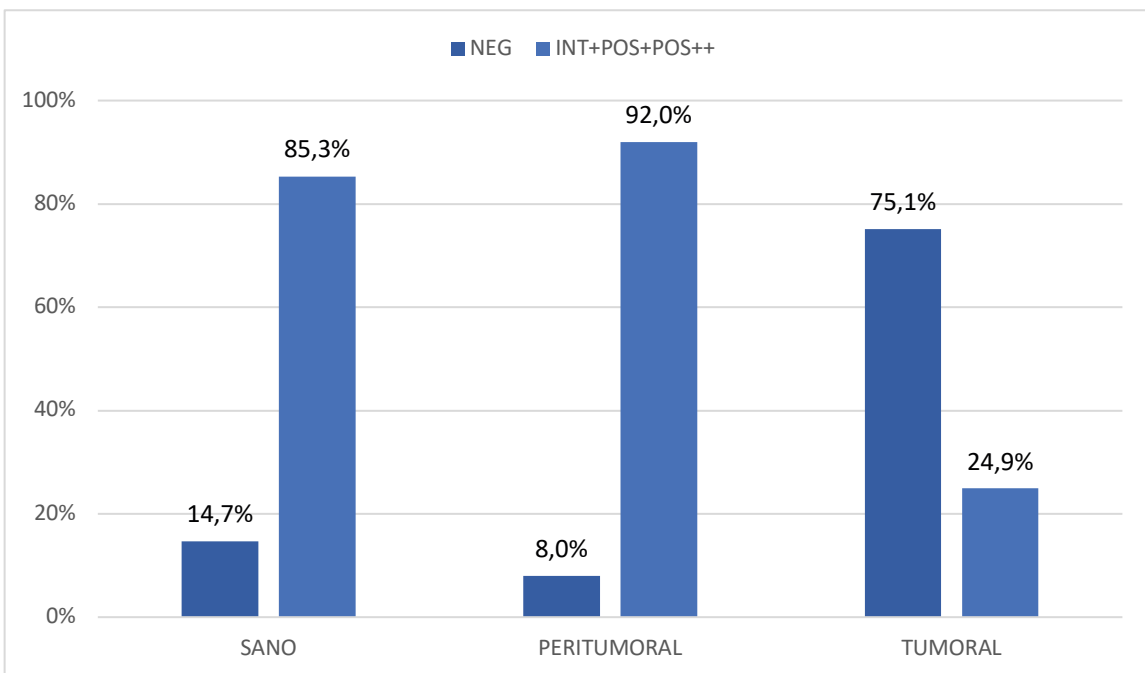


Fig 30: Distribución de la tinción de IHQ GZMA para la variable combinada IHQ\_CAT5 en tejido sano, peritumoral y tumoral.

Para responder al primer objetivo del estudio, se han evaluado para todas las variables (estándar y combinadas) de IHQ de GZMA y para los tres tejidos a estudio, si existe alguna relación en los resultados de IHQ entre los tejidos analizados (sano/peritumoral/tumoral).

### 5.3.1. RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO SANO – PERITUMORAL (n=202)

Existe relación entre los niveles de IHQ en tejido peritumoral y tejido sano. El 24,7% de los Pos++ en tejido peritumoral son Pos++ también en tejido sano. El 90,9% de los Pos++ en tejido peritumoral son Pos o Pos++ en tejido sano. El 73,5% de los Pos o Pos++ en tejido peritumoral son también Pos o Pos++ en tejido sano. El 92,5% de los Int o Neg en tejido peritumoral son de igual forma Int o Neg en tejido sano (Figura 31).

Existe relación estadísticamente significativa entre la distribución de la tinción de IHQ GZMA en tejido sano y en tejido peritumoral para todas las combinaciones posibles de variables de tinción de IHQ GZMA (estándar y combinadas), con  $p < 0,001$  en todas las asociaciones evaluadas (Anexo IV).

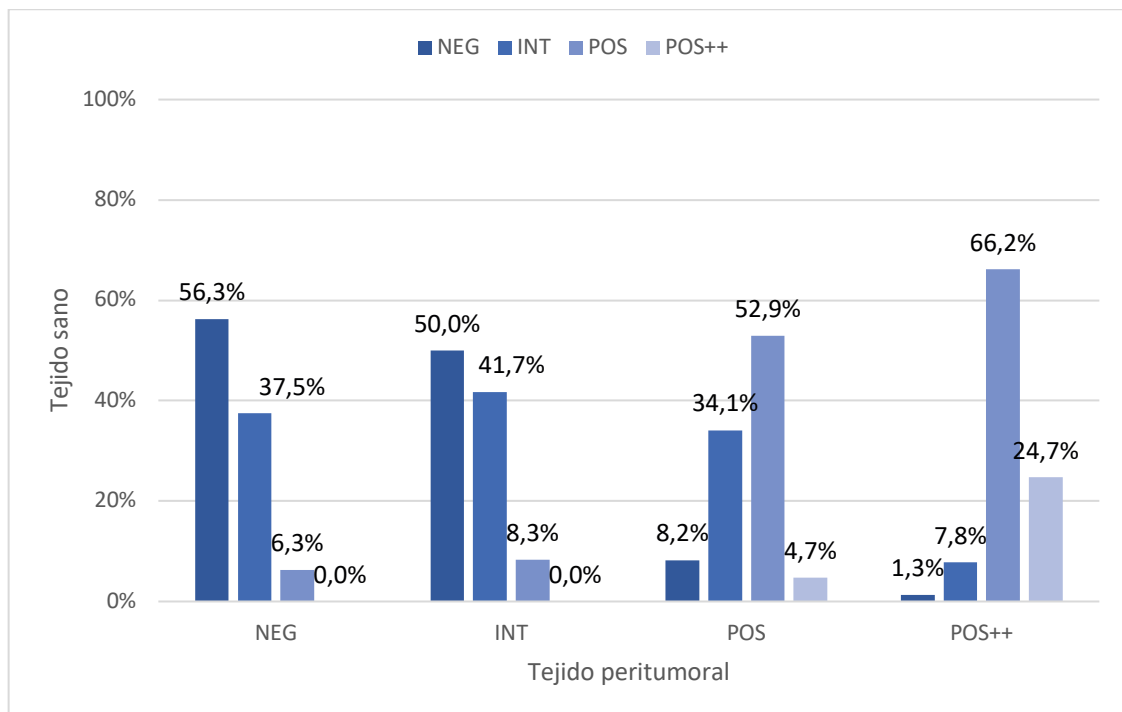


Fig 31: Relación en la variable estándar de tinción para IHQ GZMA entre tejido peritumoral y tejido sano. En el gráfico se observa, en función de la tinción en tejido peritumoral, como se comporta la tinción en tejido sano para los tumores a estudio.

### 5.3.2. RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO SANO – TUMORAL (n=201)

Evaluadas todas las variables posibles (estándar o combinadas) para la IHQ GZMA, ninguna muestra relación significativa en la asociación de resultados de tinción entre tejido sano y tejido tumoral (Figura 32) (Anexo IV).

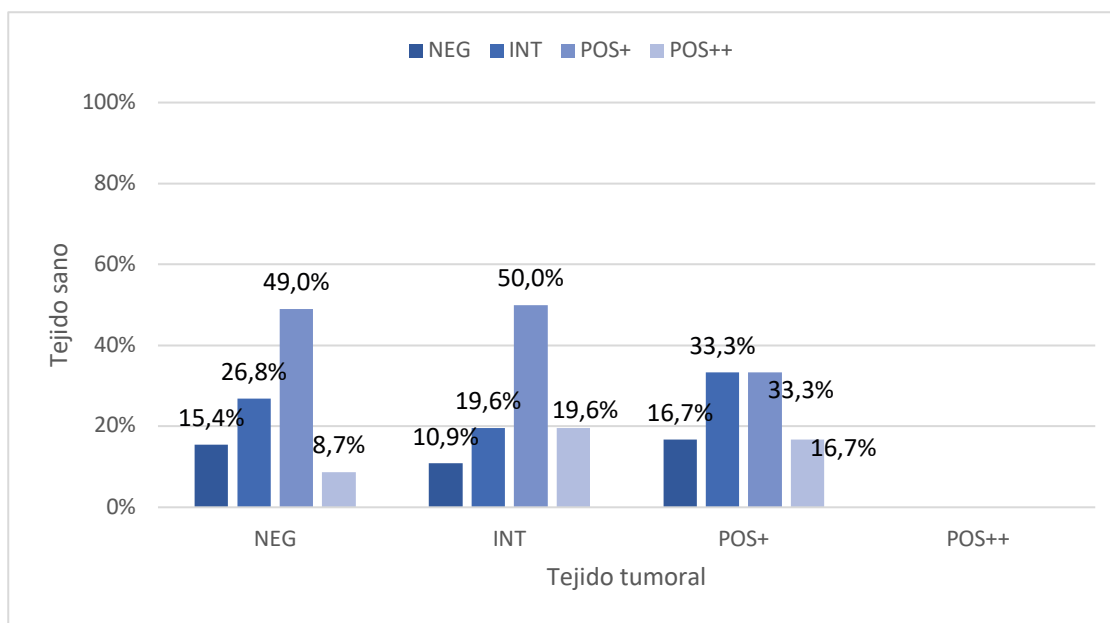


Fig 32: Relación en la variable estándar de tinción para IHQ GZMA. En el gráfico se observa, en función de la tinción en tejido tumoral, como se comporta la tinción en tejido sano para los tumores a estudio.

### 5.3.3. RELACIÓN ENTRE EL TEJIDO PERITUMORAL-TUMORAL (n=236)

Existe relación entre los niveles de IHQ GZMA en tejido peritumoral y en tejido tumoral, de tal forma que los pacientes con tinción Pos o Pos++ en tejido tumoral tienen mayor probabilidad de ser también Pos o Pos++ en tejido peritumoral. Variable IHQ estándar GZMA ( $p=0,003$ ) (Figura 33) (Anexo IV).

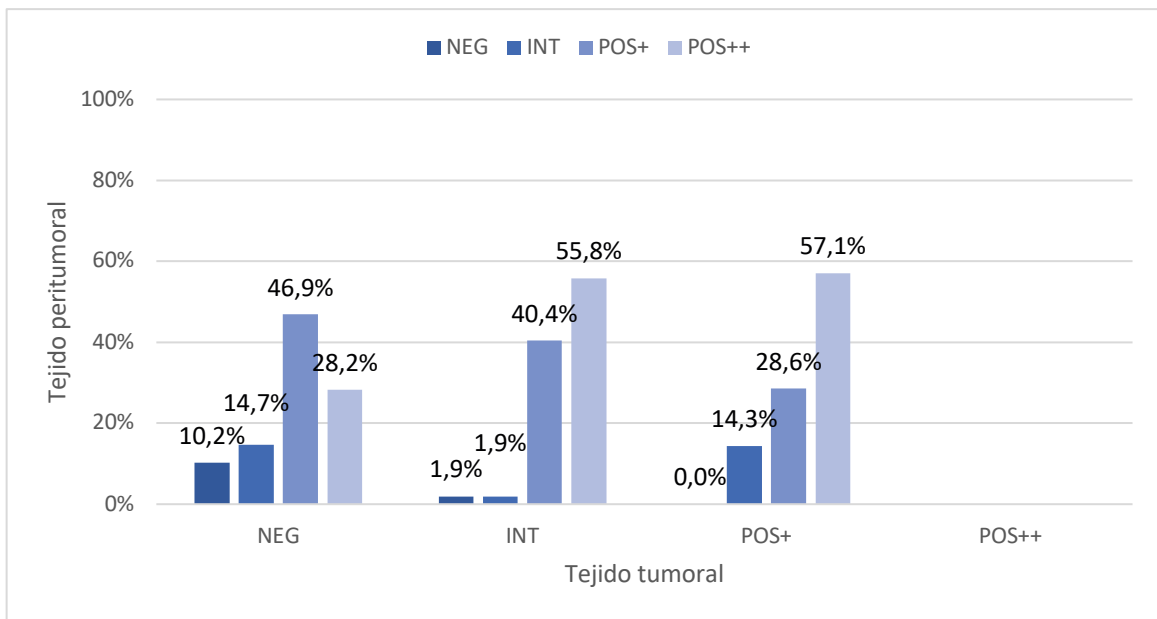


Fig 33: Relación en la variable estándar de tinción para IHQ GZMA. En el gráfico se observa, en función de la tinción en tejido tumoral, como se comporta la tinción en tejido peritumoral para los tumores a estudio.

#### 5.4. RESULTADOS EN RELACIÓN A OBJETIVO PRIMARIO NÚMERO 2

Determinar si los niveles tisulares de GZMA se correlacionan con el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de los pacientes con CCR.

##### 5.4.1. DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL DIAGNÓSTICO DE CCR

##### 5.4.1.1. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CCR

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con todas las variables relacionadas con el diagnóstico clínico del CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo V”*

En un primer lugar se valoró si existía relación entre el hecho de tener dos tumores (Sincrónico o Metacrónico) sí/no y los resultados de tinción de IHQ para GZMA, y se encontró que no existía una relación entre ambos parámetros, hecho que se mantenía para todas las variables (estándar y combinadas) ( $p \geq 0,05$ ).

De igual manera, no se observa relación estadísticamente significativa entre la indicación de la colonoscopia (síntomas/cribado-vigilancia) y los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas ( $p \geq 0,05$ ). El 95,1% de los tumores tienen indicación de la colonoscopia diagnóstica debido a la presencia de síntomas (231/243).

Evaluada la localización del tumor teniendo en cuenta localización colon/recto y localización colon derecho/izquierdo/recto, no existe relación estadísticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre la localización tumoral y los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas (Figuras 34-36).

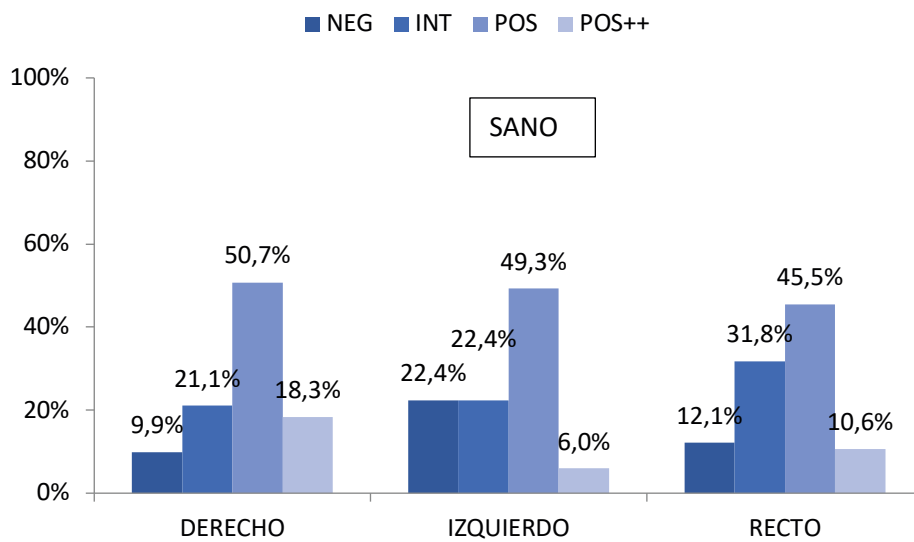


Fig 34: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido sano para las localizaciones de colon derecho/izquierdo/recto ( $p=0,097$ ).

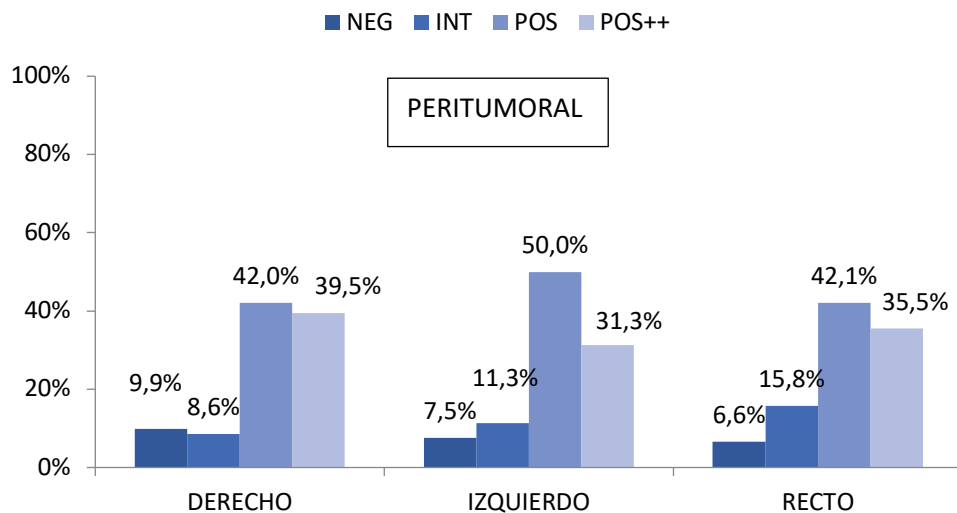


Fig 35: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido peritumoral para las localizaciones de colon derecho/izquierdo/recto ( $p=0,700$ ).

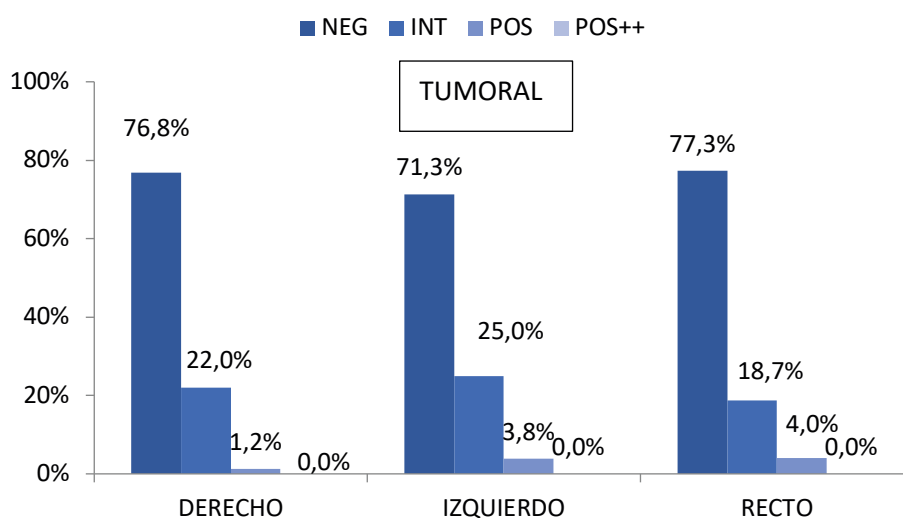


Fig 36: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido tumoral para las localizaciones de colon derecho/izquierdo/recto ( $p=0,676$ ).

Debido a las categorías observadas en la variable de “estadio tumoral” y el bajo número de efectivos en algunas de ellas, para el análisis de las relaciones se consideran únicamente aquellas más frecuentes (I-IV: 95,1% de los registros) (Ver Tabla 14). En general no se observa relación significativa entre el estadio tumoral TNM (considerados estadios I, II, III y IV) y los niveles de IHQ de GZMA. Para la variable de GZMA IHQ estándar y la variable agrupada GZMA IHQ\_CAT5

no existe significación ( $p \geq 0,05$ ). Para el resto de las combinaciones, ver anexo correspondiente (Anexo X) (Figuras 37-39).

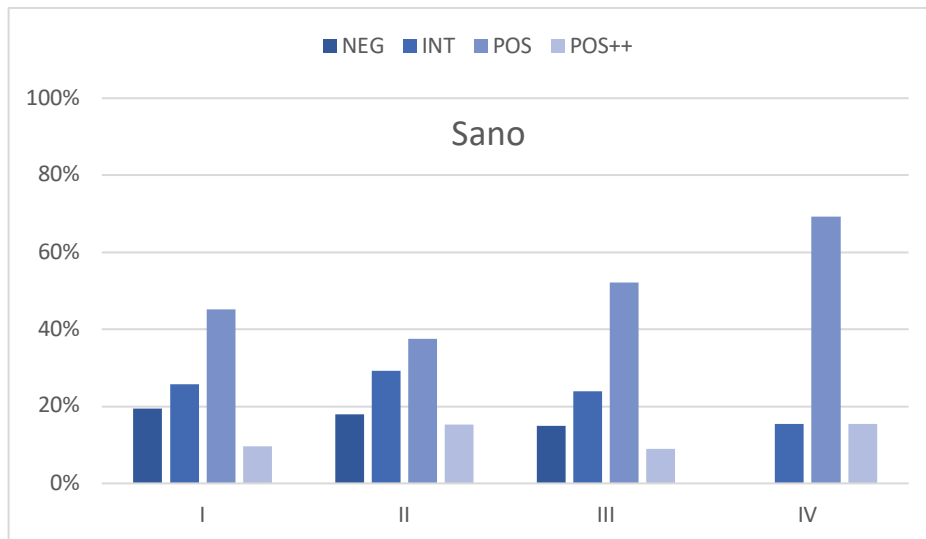


Fig 37: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido sano para los estadios I-IV ( $p = \text{no disponible}$ ).

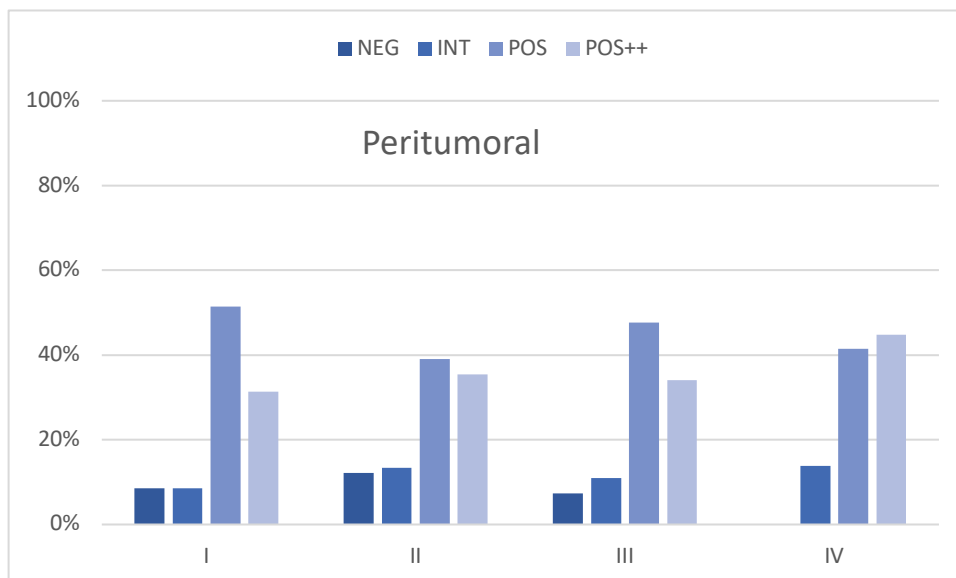


Fig 38: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido peritumoral para los estadios I-IV ( $p = \text{no disponible}$ ).

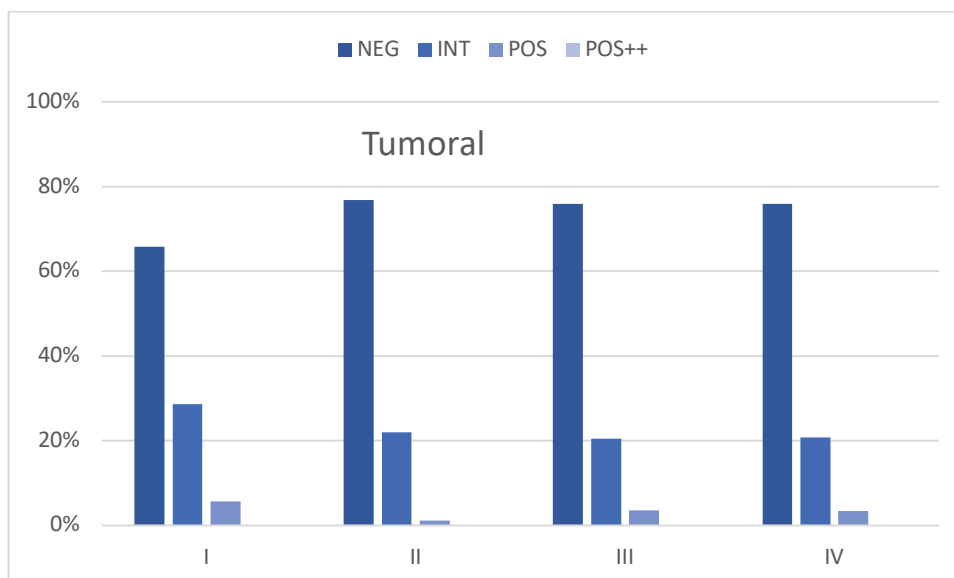


Fig 39: Distribución de la tinción de IHQ GZMA variable estándar en tejido tumoral para los estadios I-IV ( $p=0,725$ ).

Desglosando este apartado teniendo en cuenta la subclasificación T1-T4 y N0-N2, no se observa una relación significativa entre el subestadio T y N y los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas ( $p \geq 0,05$ ).

Se observa relación significativa entre el subestadio M (M0, M1) y los niveles de IHQ en tejido sano para la variable estándar de tinción de GZMA ( $p=0,028$ ). La relación se mantiene significativa para la variable agrupada GZMA IHQ\_CAT5 ( $p=0,030$ ). No se observa significación para tejido tumoral o peritumoral ( $p \geq 0,05$ ).

#### 5.4.1.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con todas las variables relacionadas con el diagnóstico histológico del CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo VI”*

Respecto a la histología del tumor, no es posible estudiar una asociación ya que un 99,2% de los tumores (241/243) son adenocarcinomas.

En el caso de la evaluación de la relación entre Resección R0 sí/no y los niveles de IHQ GZMA solo existen 4 tumores con Resección R0 “no” por lo que es difícil una correcta valoración de los



resultados estadísticos debido a que en la mayoría de las ocasiones no se cumplen las condiciones de aplicabilidad del test necesario.

Desde el punto de vista del tamaño tumoral, no se observa relación significativa con los niveles de IHQ GZMA para ninguna de las variables evaluadas ( $p \geq 0,05$ ).

Teniendo en cuenta el parámetro de margen de resección, no se observa relación estadísticamente significativa entre dicho margen de resección quirúrgica y las variables de tinción de IHQ GZMA ( $p \geq 0,05$ ).

El grado de diferenciación tumoral analizado en la muestra a estudio, no presenta una relación significativa con los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas ( $p \geq 0,05$ ). Lo mismo ocurre con la presencia o no de invasión vascular analizada en las piezas de resección tumoral ( $p \geq 0,05$ ).

En relación a la invasión linfoide, existe una relación estadísticamente significativa entre invasión linfoide sí/no y la variable estándar de tinción de IHQ GZMA en tejido sano ( $p=0,033$ ) y en tejido peritumoral ( $p=0,031$ ), pero no en tejido tumoral ( $p=0,874$ ).

En referencia a la subclasificación de la histología del tumor como adenocarcinoma mucinoso, se observa una relación estadísticamente significativa entre la presencia o no de células positivas a GZMA en el interior del tejido tumoral IHQ\_CAT5 (neg, int+pos+pos++) y la variable tumor mucinoso sí/no, de tal forma que, un 87,8% de los tumores mucinosos presentan categoría neg para IHQ\_CAT5 frente al 69,5% de los tumores no mucinosos ( $p=0,036$ ).

Por último, no se ha observado una relación significativa entre la realización del estudio de IHQ de inestabilidad de microsatélites en la pieza de CCR (Defecto en las proteínas reparadoras de ADN: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) sí/no y los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas ( $p \geq 0,05$ ).

5.4.2. DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL TIPO DE TRATAMIENTO ADMINISTRADO AL PACIENTE CON CCR Y LA RESPUESTA AL MISMO.

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con todas las variables relacionadas con tratamiento del CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo VII”*

Se ha evaluado la relación entre la administración de tratamiento neoadyuvante (quimioterapia y/o radioterapia) y la tinción de IHQ para GZMA y no se ha encontrado una relación significativa entre ambas variables ( $p \geq 0,05$ ).

En el estudio de la respuesta al tratamiento neoadyuvante en la pieza quirúrgica, para los 33 tumores rectales en los cuales ha sido preciso, no se observa asociación entre la respuesta (parcial o completa) a dicho tratamiento y las diferentes variables de tinción IHQ para GZMA, analizadas en tejido sano y tejido tumoral ( $p \geq 0,05$ ). Tampoco existe relación en la evaluación de la respuesta parcial y las diferentes variables de tinción IHQ para GZMA en tejido peritumoral ( $p \geq 0,05$ ). Respecto a la respuesta completa y las diferentes variables de tinción de IHQ GZMA en tejido peritumoral, no se cumplen las condiciones de aplicación para test estadísticos, por lo que no es valorable.

En relación a la valoración de la necesidad de tratamiento adyuvante (quimioterapia y/o radioterapia) y la tinción de IHQ para GZMA, como ocurría en el caso del tratamiento neoadyuvante, no se ha encontrado una relación entre ambas variables ( $p \geq 0,05$ ).

5.4.3. DETERMINAR SI LOS NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA SE RELACIONAN CON EL PRONÓSTICO DE CCR

5.4.3.1. NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA Y RECURRENCIA DEL CCR.

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con la recurrencia del CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo VIII”*

Durante el seguimiento, un 24,6% de los pacientes ha tenido alguna recurrencia (56/228). De estos, un 18,4% ha tenido una sola recurrencia (42/228), un 5,7% dos recurrencias (13/228) y un 0,4% tres recurrencias (1/228). La media de meses desde la fecha de inclusión en el estudio hasta la fecha de 1ª recurrencia ha sido de  $24,5 \pm 20,6$  meses, con un valor mínimo de 3,0 meses y un

valor máximo de 116,0 meses. La mediana de meses desde la fecha de inclusión hasta la fecha de la 1ª recurrencia ha sido de 18,0 (RIQ: 9,3-34,0) (Figura 40).

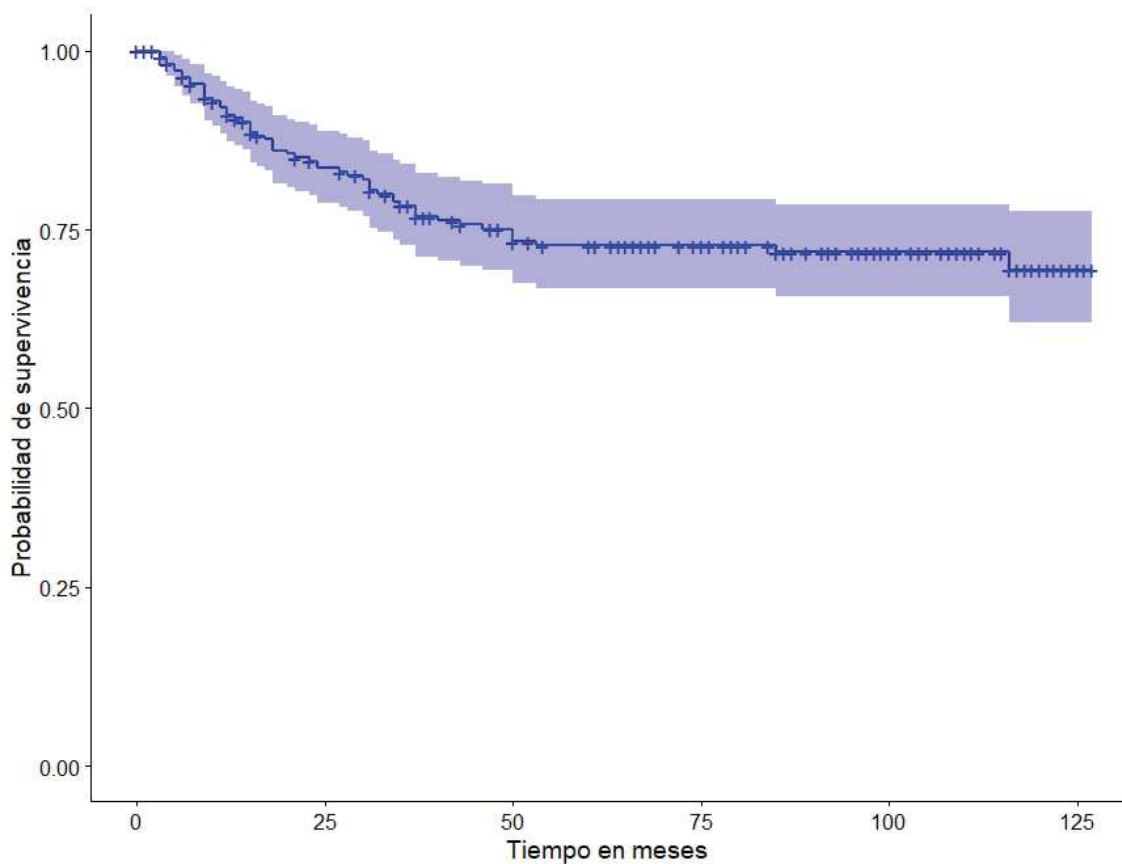


Fig.40: Curva DFS para el conjunto de pacientes del estudio desde la fecha de inclusión hasta la fecha de la 1ª recurrencia, teniendo en cuenta el seguimiento total del estudio.

Se ha evaluado la DFS para la variable estándar de tinción de IHQ de GZMA y para todas las variables combinadas. A su vez, en la variable de tinción, se han desglosado los resultados en función de los tres tejidos analizados en el estudio (sano/peritumoral/tumoral). Se muestran los resultados relevantes (Figuras 41-44). Existen diferencias significativas entre las curvas de DFS en función de la tinción de IHQ de GZMA evaluada en el tejido tumoral para la variable de tinción **estándar (p=0,043)** y para la variable de tinción **IHQ\_CAT5 (p=0,015; HR=0,390 (0,180-0,850))**.

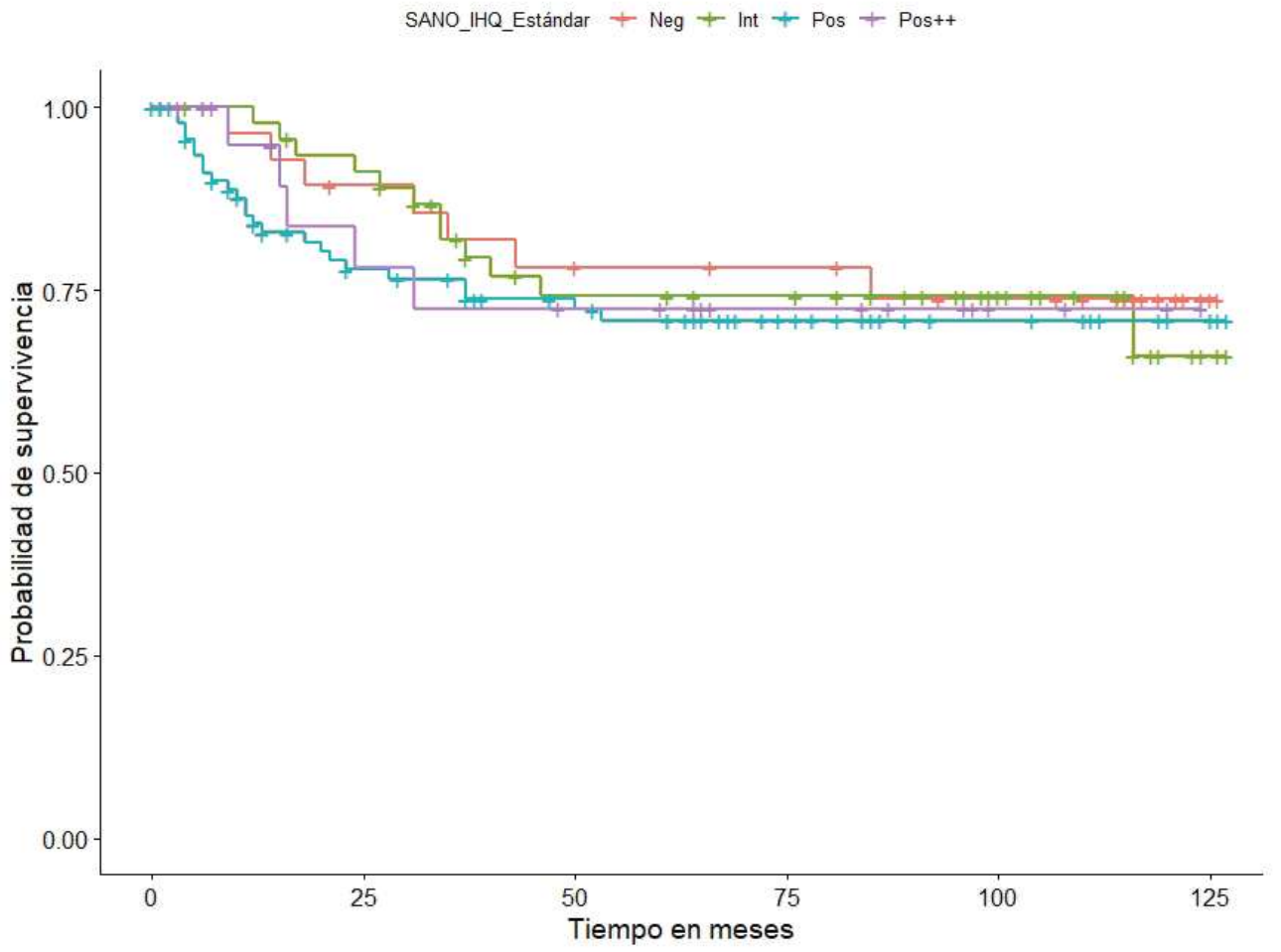


Fig 41: Curvas DFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido sano.  $p=0,844$ .

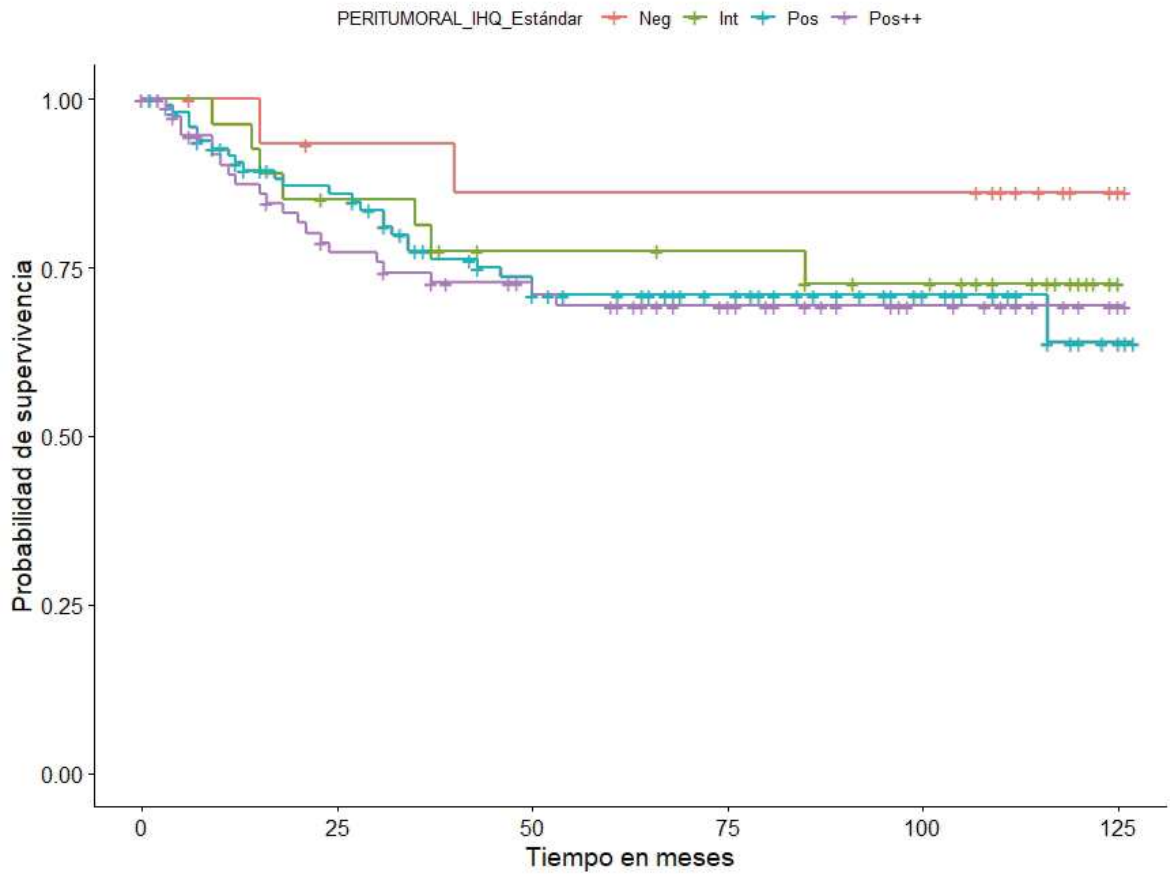


Fig 42: Curvas DFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido peritumoral.  $p=0,544$ .

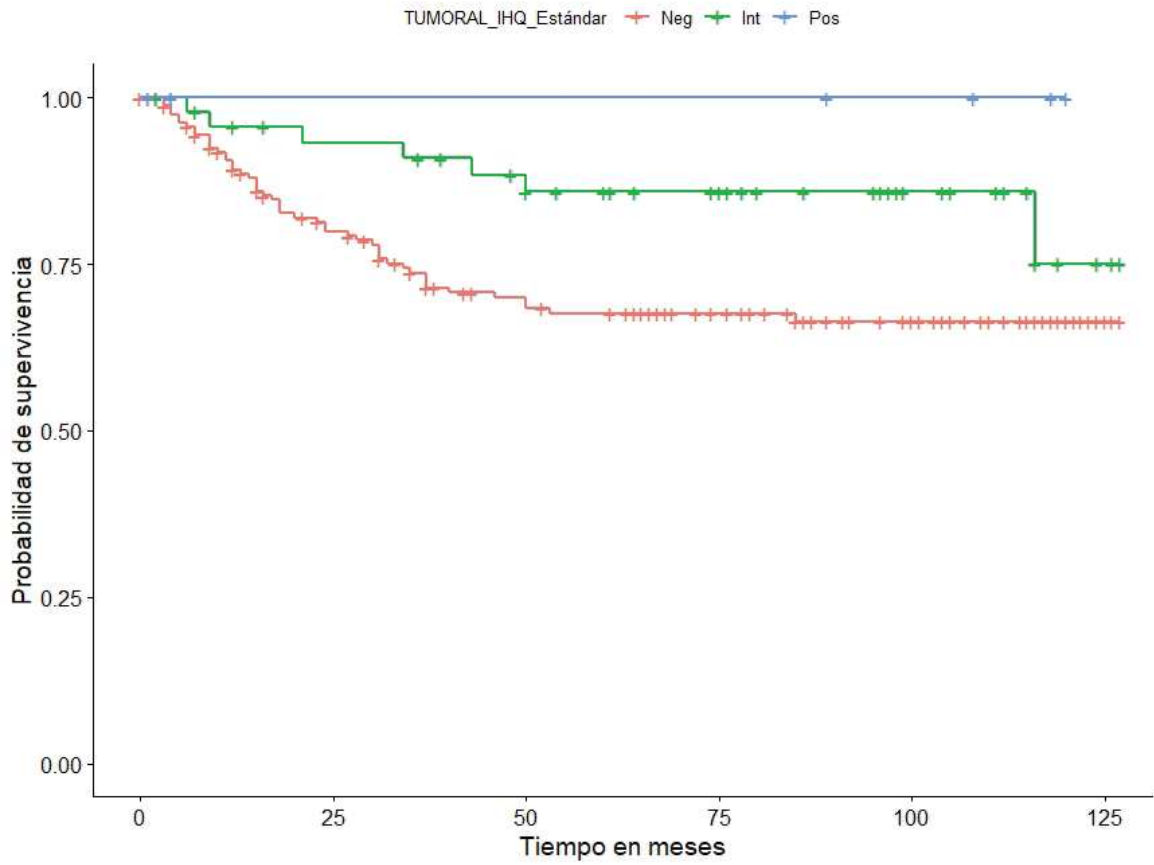


Fig 43: Curvas DFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido tumoral. **p=0,043.**

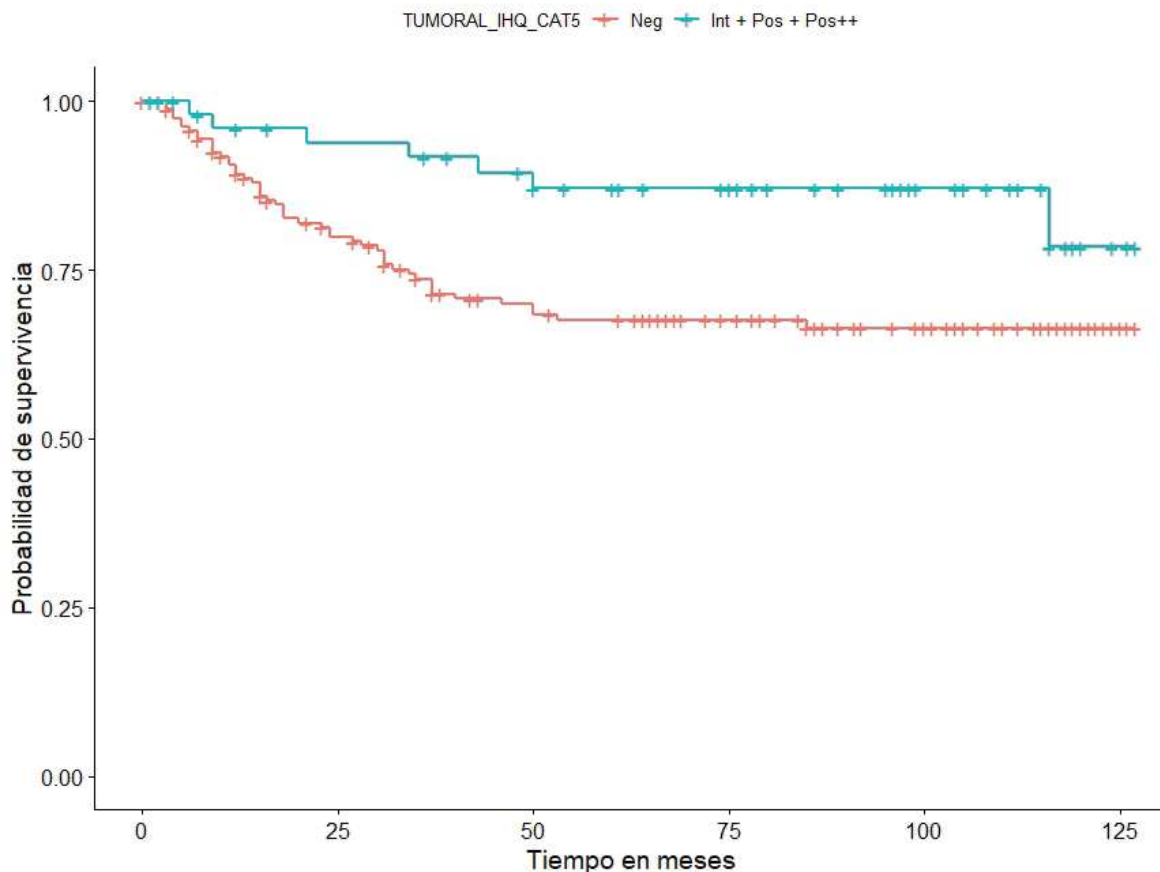


Fig 44: Curvas DFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ\_CAT5 GZMA en tejido tumoral. **p=0,015; HR=0,390 (0,180-0,850).**

#### 5.4.3.2. NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA Y PROGRESIÓN DEL CCR.

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con la progresión del CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo IX”*

Un 19,3% de los pacientes ha tenido progresión durante el seguimiento (44/228). Sobre los 44 pacientes con progresión, 32 habían tenido recurrencia previa (72,7%) y 12 no (27,3%). La media de meses desde la fecha de la 1ª recurrencia no tratable (la última recurrencia en caso de tener varias en la evolución) o la fecha de inclusión (según haya o no recurrencia previa, ver metodología) hasta la fecha de la 1ª progresión ha sido de  $8,5 \pm 9,6$  meses, con un valor mínimo de 0,0 meses y un valor máximo de 60,0 meses. La mediana de meses, evaluada con el mismo objetivo y mismas fechas, ha sido de 7,0 (RIQ: 3,0-10,8) (Figura 45).

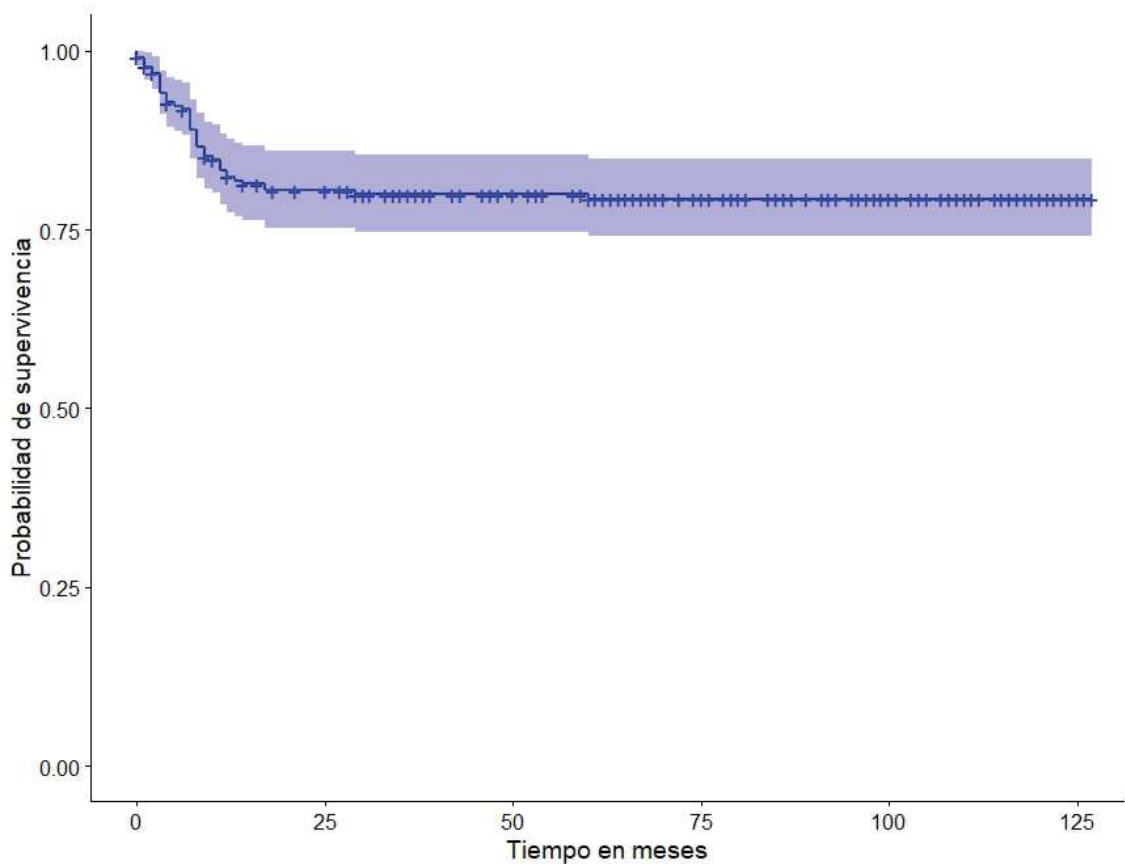


Fig 45: Curva PFS para el conjunto de pacientes del estudio desde la fecha de 1ª recurrencia no tratable (la última recurrencia en caso de tener varias en la evolución) o la fecha de inclusión, hasta la fecha de la 1ª progresión, teniendo en cuenta el seguimiento total del estudio.

Se ha evaluado la PFS para la variable estándar de tinción de IHQ de GZMA y para todas las variables combinadas. A su vez, en cada variable de tinción, se han desglosado los resultados en función de los tres tejidos analizados en el estudio (sano/peritumoral/tumoral). Se muestran los resultados más relevantes (Figuras 46-48). No existen diferencias significativas entre las curvas de PFS en función de la tinción de IHQ de GZMA evaluada en el tejido sano, peritumoral y tumoral para la tinción estándar ni para la IHQ\_CAT5 GZMA.



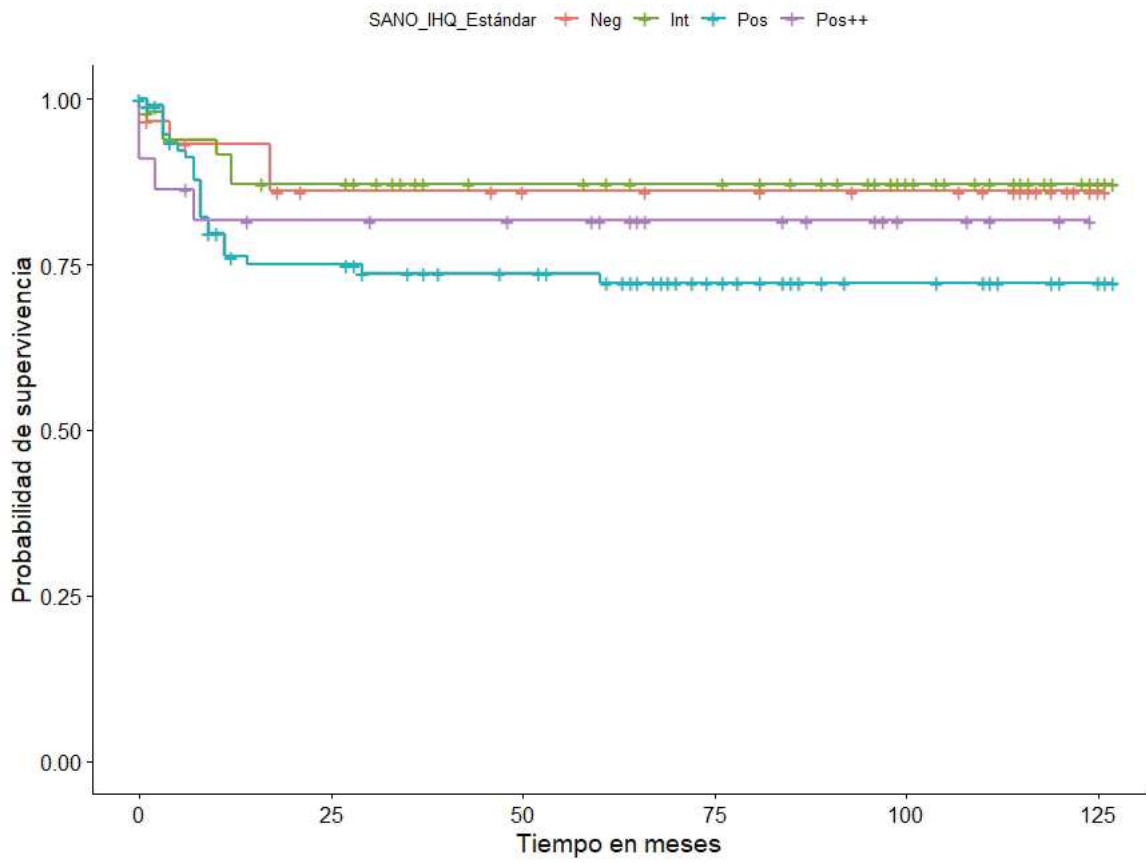


Fig 46: Curvas PFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido sano.  $p=0,208$ .

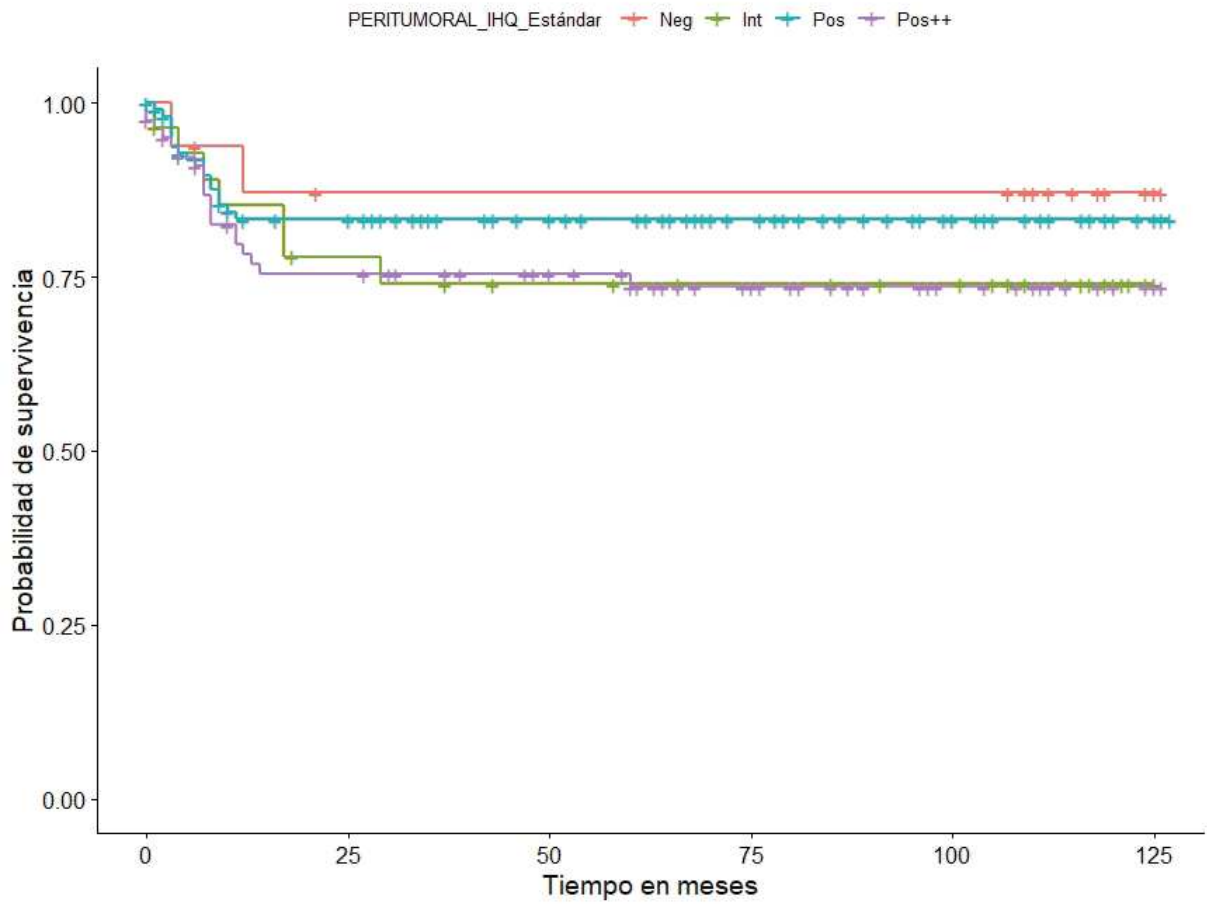


Fig 47: Curvas PFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido peritumoral.  $p=0,421$ .

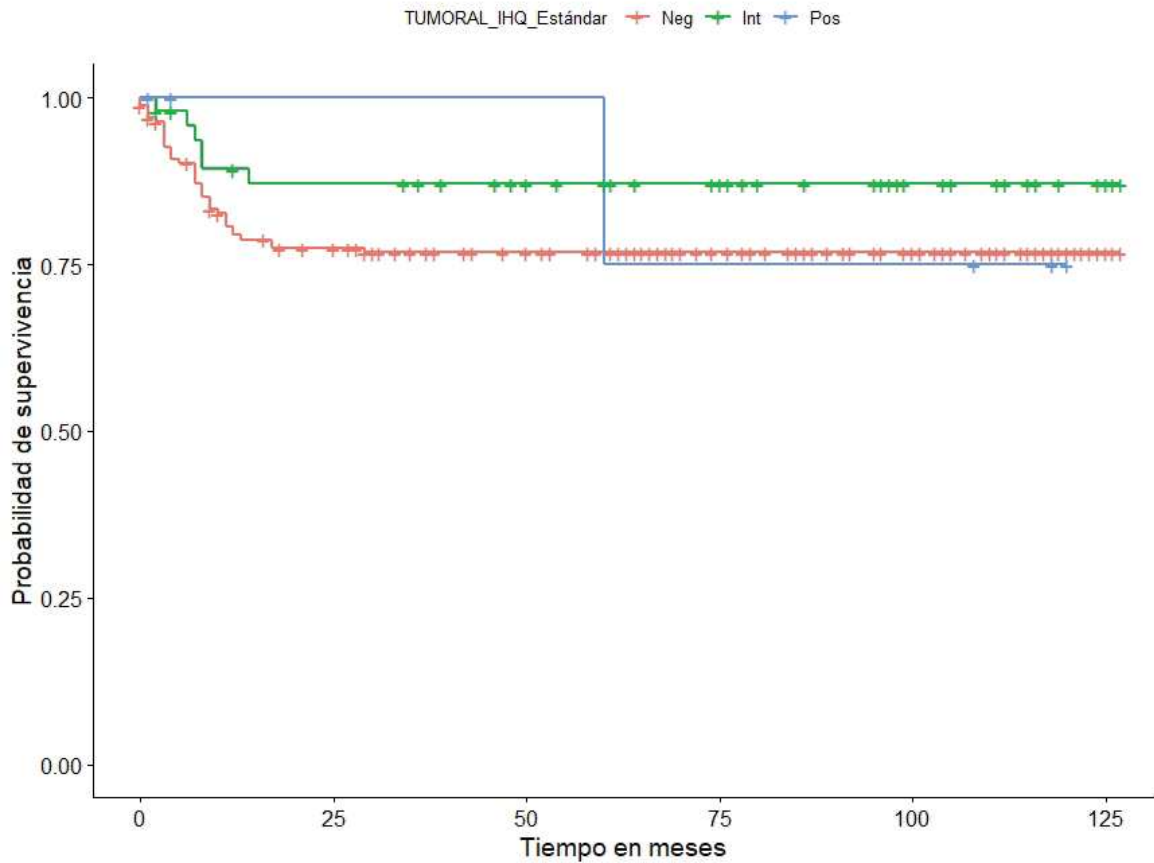


Fig 48: Curvas PFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido tumoral.  $p=0,310$ .

#### 5.4.3.3. NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA Y MORTALIDAD

De los 44 pacientes con progresión en el estudio, fallecen 39 (88,6%) en el periodo de seguimiento teniendo en cuenta todas las causas de fallecimiento. El tiempo medio desde la fecha de la 1ª progresión hasta la fecha de fallecimiento es de  $356,8 \pm 312,2$  días con un valor mínimo de 5,0 días y un valor máximo de 1398,0 días. La mediana en días, evaluada con el mismo objetivo y mismas fechas, ha sido de 290,0 (RIQ: 88,0-558,0).

Teniendo en cuenta el tiempo progresión-muerte por todas las causas, no se observa una relación entre este tiempo y los niveles de IHQ GZMA de la tinción estándar en ninguno de los tejidos evaluados: tejido sano ( $p=0,233$ ), tejido peritumoral ( $p=0,240$ ) y tejido tumoral ( $p=0,274$ ).

La media de meses desde la fecha de inclusión en el estudio hasta la fecha de muerte por todas las causas o la fecha final de seguimiento (en función de si el paciente ha fallecido o no durante el seguimiento) ha sido de 67,8 ±38,1 meses, con un valor mínimo de 0,0 meses y un valor máximo de 127,0 meses. La mediana de meses desde la fecha de inclusión hasta la fecha de muerte por todas las causas o fecha fin seguimiento ha sido de 69,0 (RIQ: 37,0-103,8).

Se ha realizado un estudio de OS, supervivencia por CCR y supervivencia por otras causas con cortes de temporalidad en 1 año, 5 años, y total del seguimiento. El número de pacientes que han fallecido por todas las causas, por CCR y por otras causas no CCR a lo largo de los cortes de temporalidad comentados, se adjuntan en la Tabla 24.

Tabla 24: Pacientes fallecidos por todas las causas, por CCR y por otras causas no CCR, al año, a los 5 años y al final del seguimiento.

<b>FALLECIMIENTO</b>	<b>1 AÑO</b>	<b>5 AÑOS</b>	<b>TOTAL SEGUIMIENTO</b>
<b>POR TODAS LAS CAUSAS</b>	22 (9,6%)	86 (37,7%)	107 (46,9%)
<b>POR CCR</b>	7 (3,1%)	47 (20,6%)	55(24,1%)
<b>POR OTRA CAUSA (NO CCR)</b>	15 (6,6%)	39 (17,1%)	52 (22,8%)

Se ha realizado el estudio de supervivencia, además de teniendo en cuenta los puntos anteriores, en función de la IHQ de GZMA estándar y para todas las variables combinadas. Se presenta el análisis de supervivencia (OS) por CCR y por otras causas no CCR a 1 año, 5 años y total de seguimiento en función de la tinción estándar de IHQ de GZMA y las variables combinadas para los tres tejidos evaluados (sano/peritumotal/tumoral) en los anexos correspondientes (ver a continuación).

5.4.3.3.1. NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA Y MORTALIDAD POR TODAS LAS CAUSAS.

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con la mortalidad por todas las causas, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo X (al año), XI (a los 5 años) y XII (total de seguimiento)”*

Al final del seguimiento han fallecido por cualquier causa, 107 de los 228 pacientes lo que supone el 46,9% de la muestra (Figura 49).

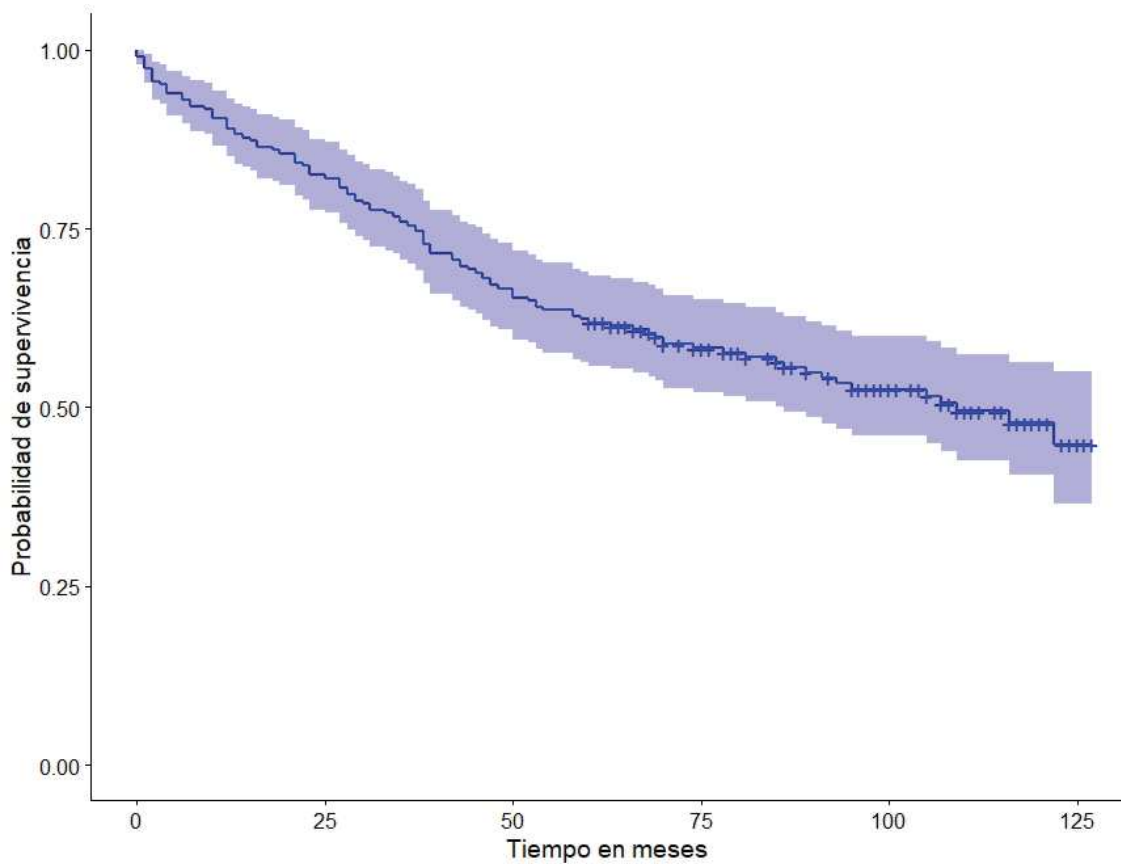


Fig 49: Curva OS de los pacientes para el seguimiento total del estudio.

En el estudio, el comportamiento de las curvas OS a seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA en los 3 tejidos analizados (sano/peritumoral/tumoral), no muestra diferencias estadísticamente significativas (Figuras 50-52).

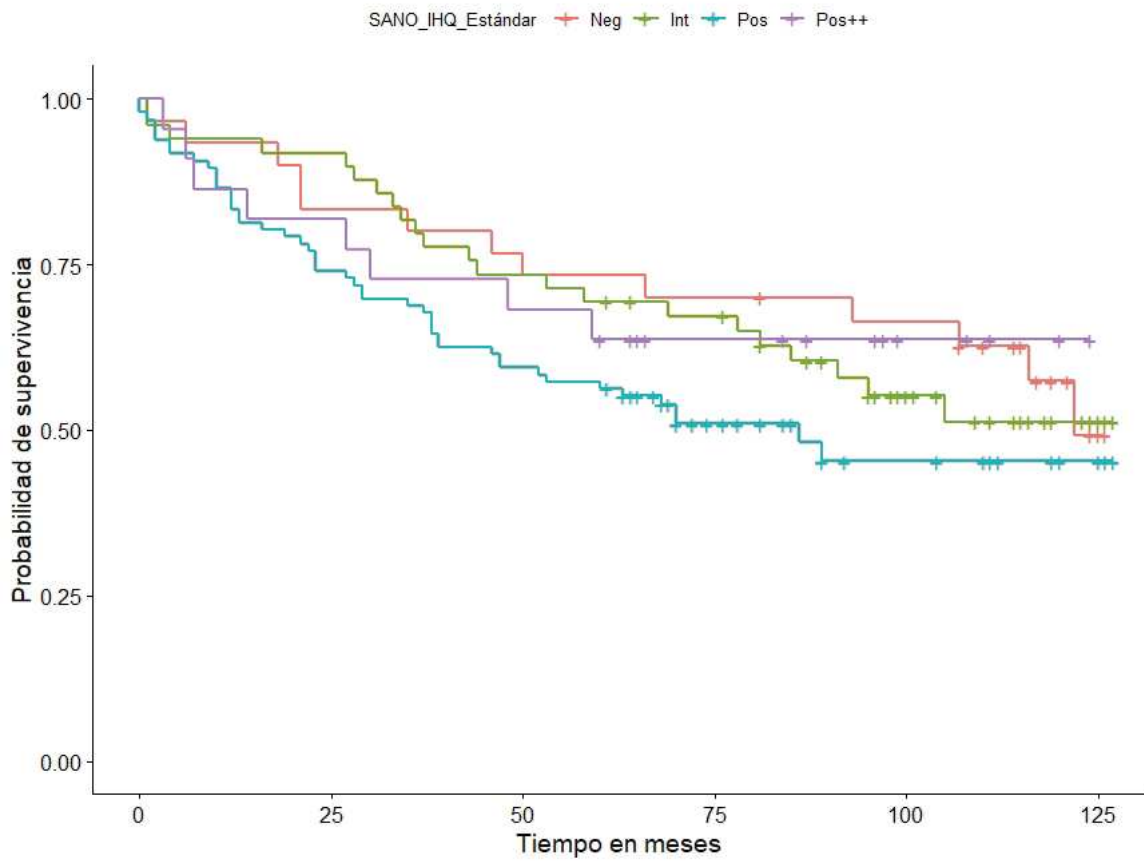


Fig 50: Curvas OS para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido sano.  $p=0,246$ .

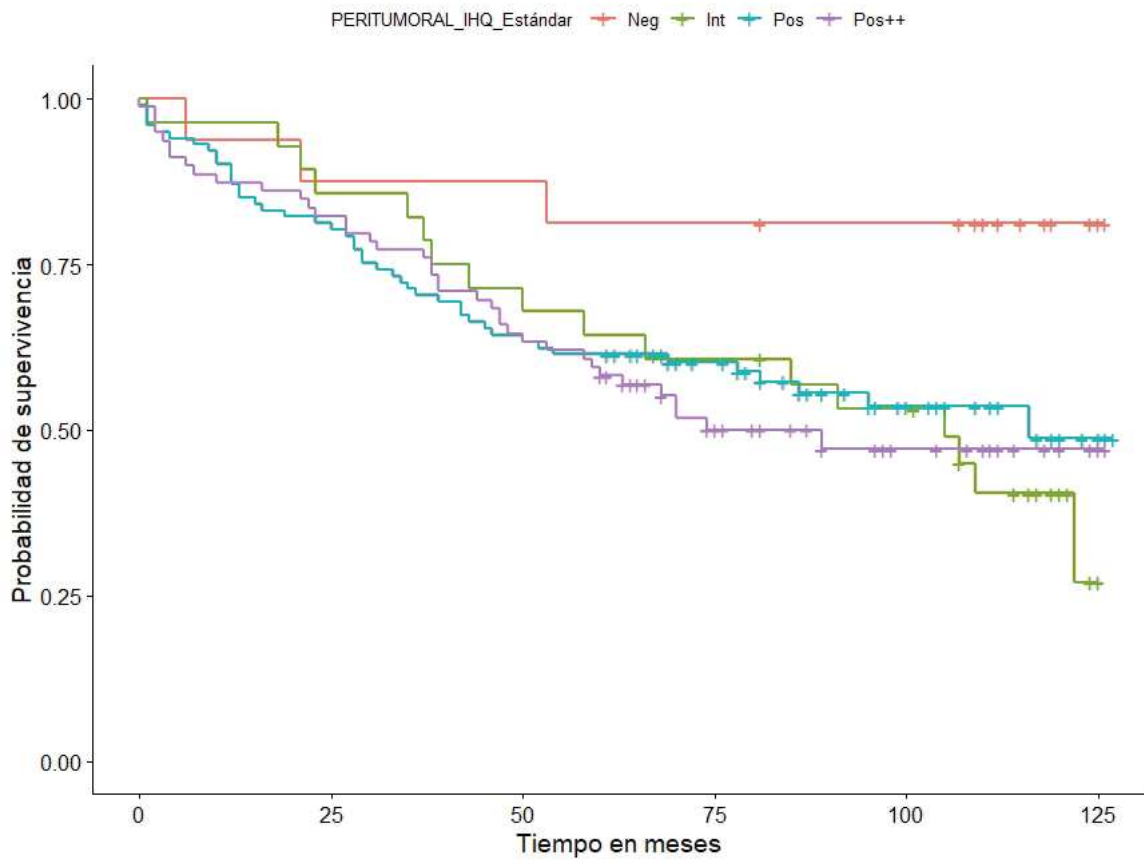


Fig 51: Curvas OS para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido peritumoral.  $p=0,125$ .

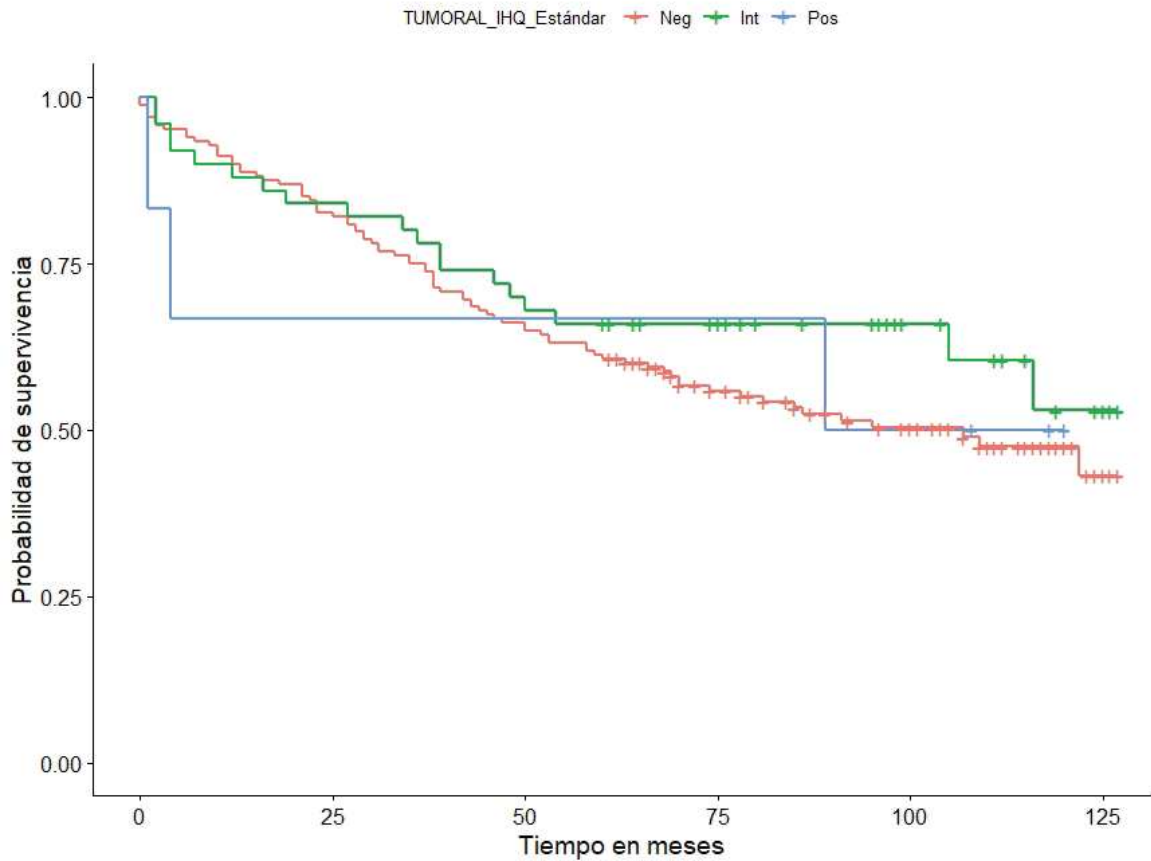


Fig 52: Curvas OS para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido tumoral.  $p=0,513$ .

En el estudio de OS para el seguimiento total del estudio, en relación a la tinción de IHQ GZMA por variables combinadas existen diferencias significativas para la tinción IHQ\_CAT5 de tal forma que los pacientes que expresaron GZMA en tejido peritumoral tuvieron un riesgo superior de fallecimiento por todas las causas respecto a los que tuvieron una expresión negativa: GZMA (pos++/pos+/int) vs GZMA (neg) en tejido peritumoral:  $p=0,022$ ; HR: 3,530 (IC95%: 1,120-11,200) (Figura 53).



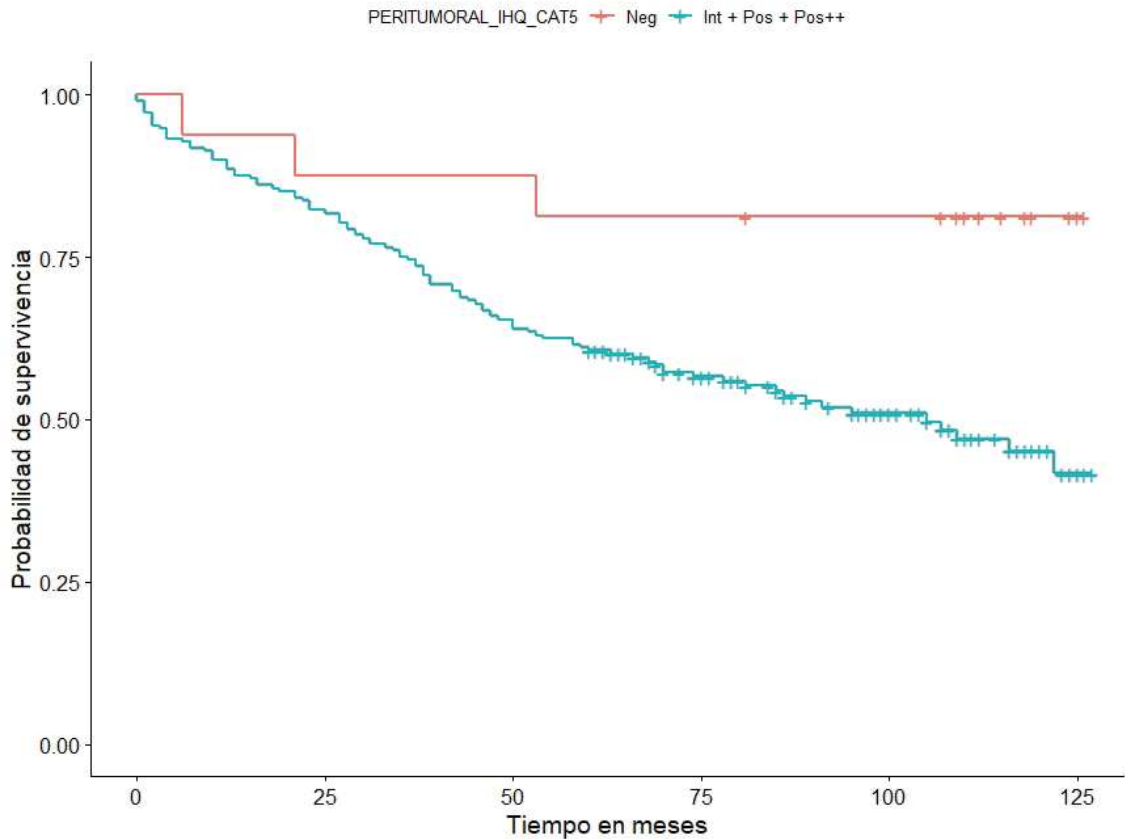


Fig 53: Curvas OS para el seguimiento total del estudio en función de la categoría combinada de tinción IHQ\_CAT5(neg, (int, pos, pos++)) en tejido peritumoral. **p=0,022; HR: 3,530 (IC95%: 1,120-11,200).**

En concordancia con estos resultados cabe destacar que fallecen, por el global de las causas de mortalidad, el 48,6% de los pacientes que expresan GZMA (int/pos+/pos++) frente al 18,8% de los que no la expresan (neg) (**p=0,035**).

El comportamiento de las curvas de OS en el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA en los 3 tejidos analizados (sano/peritumoral/tumoral), no muestra diferencias estadísticamente significativas (Figuras 54-56).

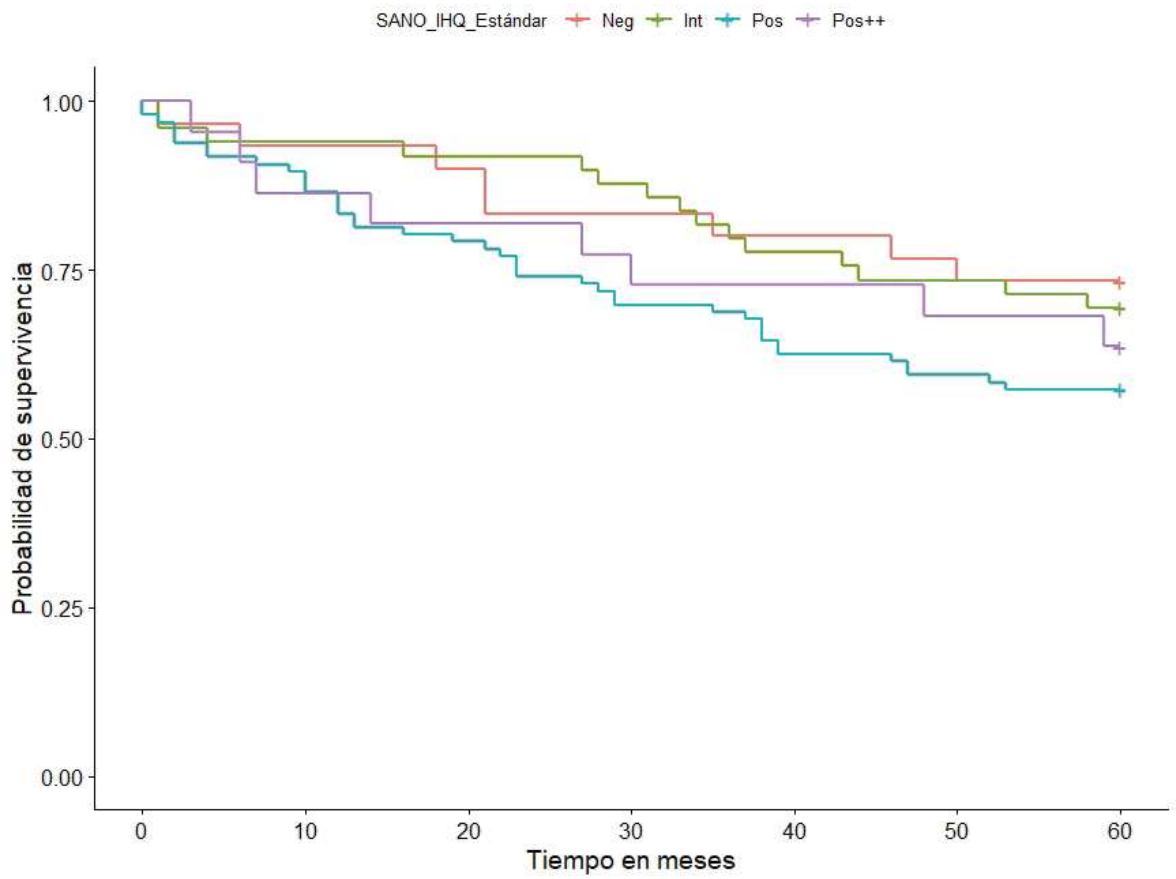


Fig 54: Curvas de OS para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido sano.  $p=0,261$ .

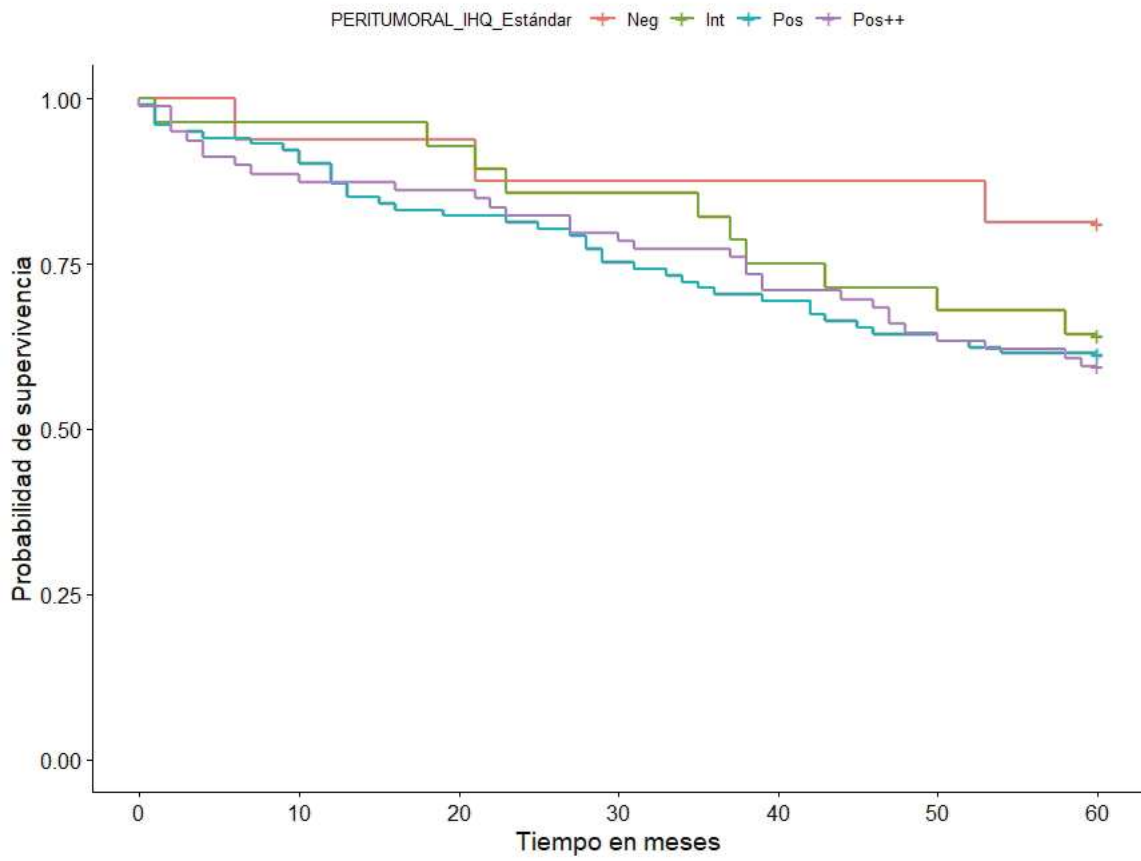


Fig 55: Curvas de OS para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido peritumoral.  $p=0,463$ .

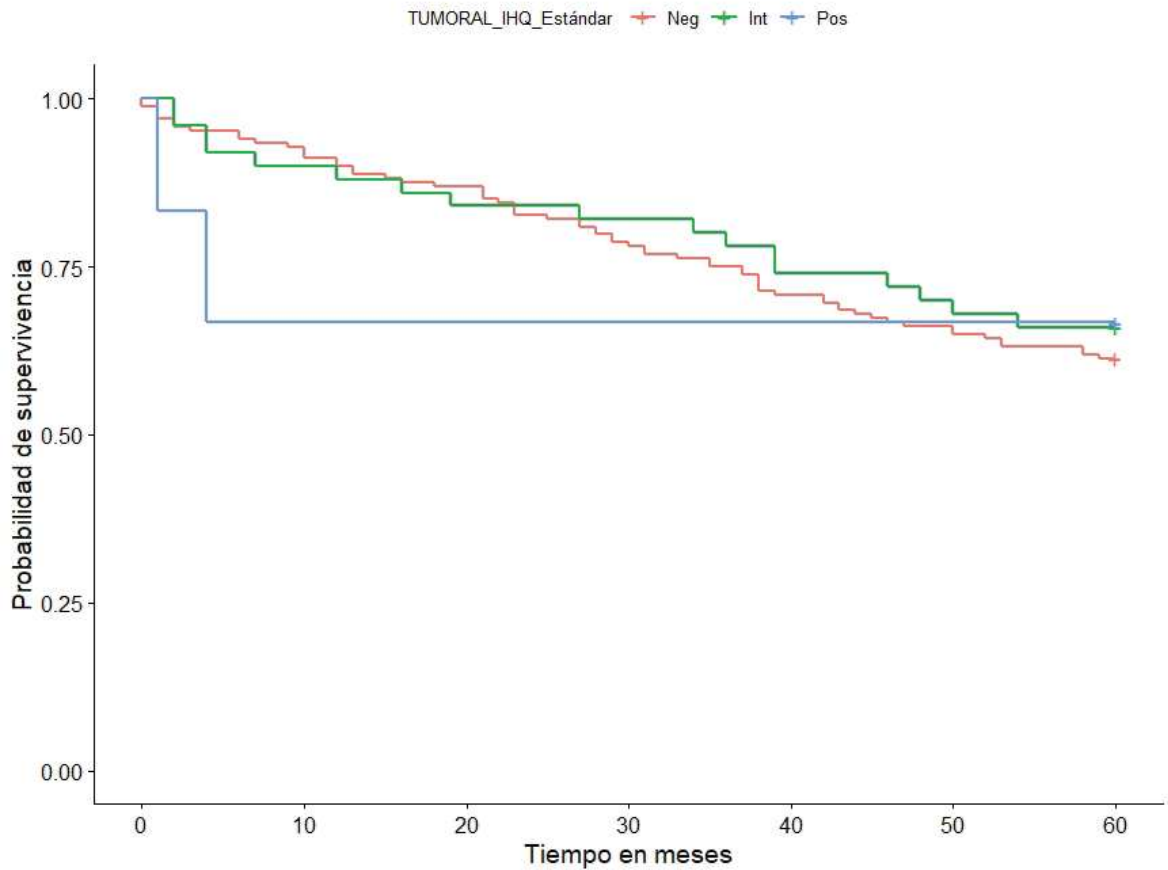


Fig 56: Curvas de OS para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido tumoral.  $p=0,848$ .

En el estudio de OS para el seguimiento a 5 años, en relación a la tinción de IHQ GZMA por variables combinadas no se han encontrado diferencias significativas a destacar, prestando especial atención a la variable combinada IHQ\_CAT5 para GZMA.

#### 5.4.3.3.2. NIVELES TISULARES DE TINCIÓN DE GZMA Y MORTALIDAD POR CCR.

“Se estudia la relación de IHQ GZMA con la mortalidad por CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo XIII (al año), XIV (a los 5 años) y XV (total de seguimiento)”

Al final del seguimiento han fallecido por CCR, 55 de los 228 pacientes, lo que supone el 24,1% del total de la muestra (Figura 57).

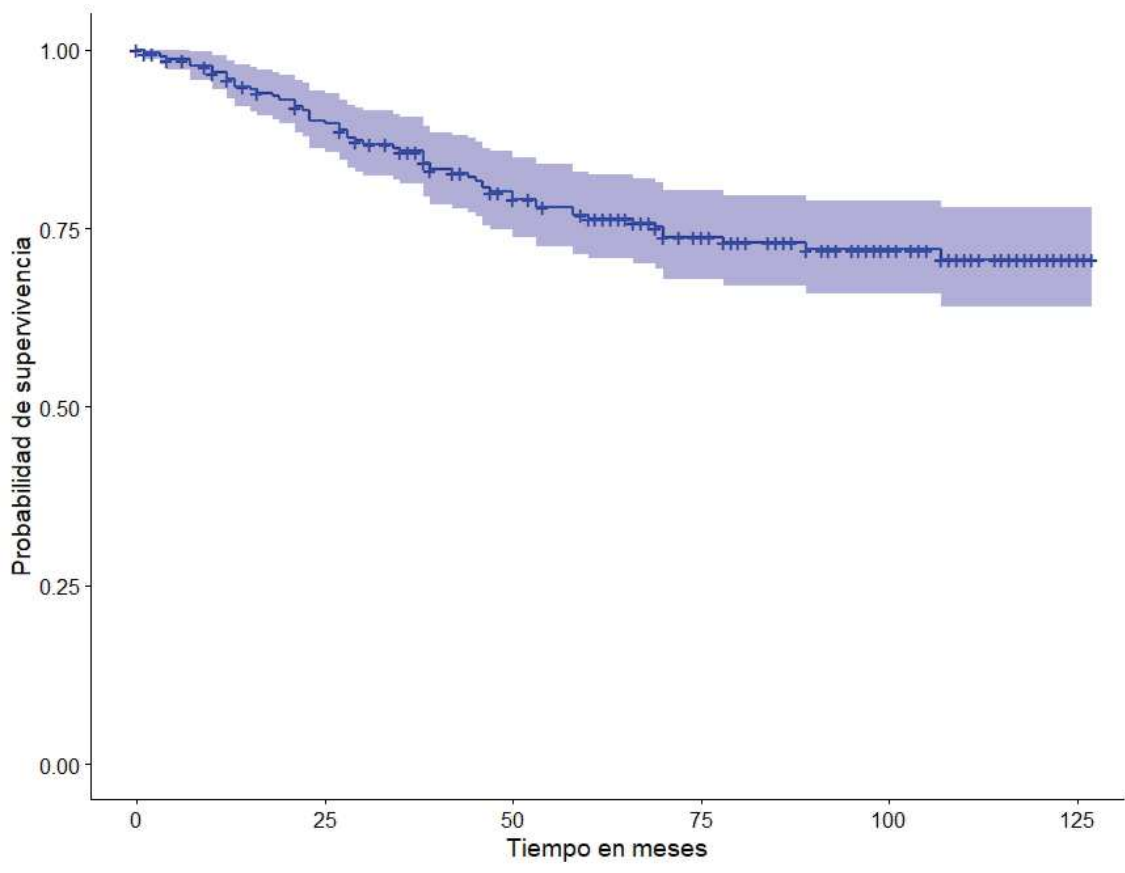


Fig 57: Curva de supervivencia por CCR de los pacientes para el seguimiento total del estudio.

Para tener como referencia la relación existente en este estudio entre el estadio tumoral (I-IV) (parámetro “gold estándar” relacionado con la mortalidad por CCR) y la mortalidad por CCR, se adjunta el siguiente gráfico (Figura 58).

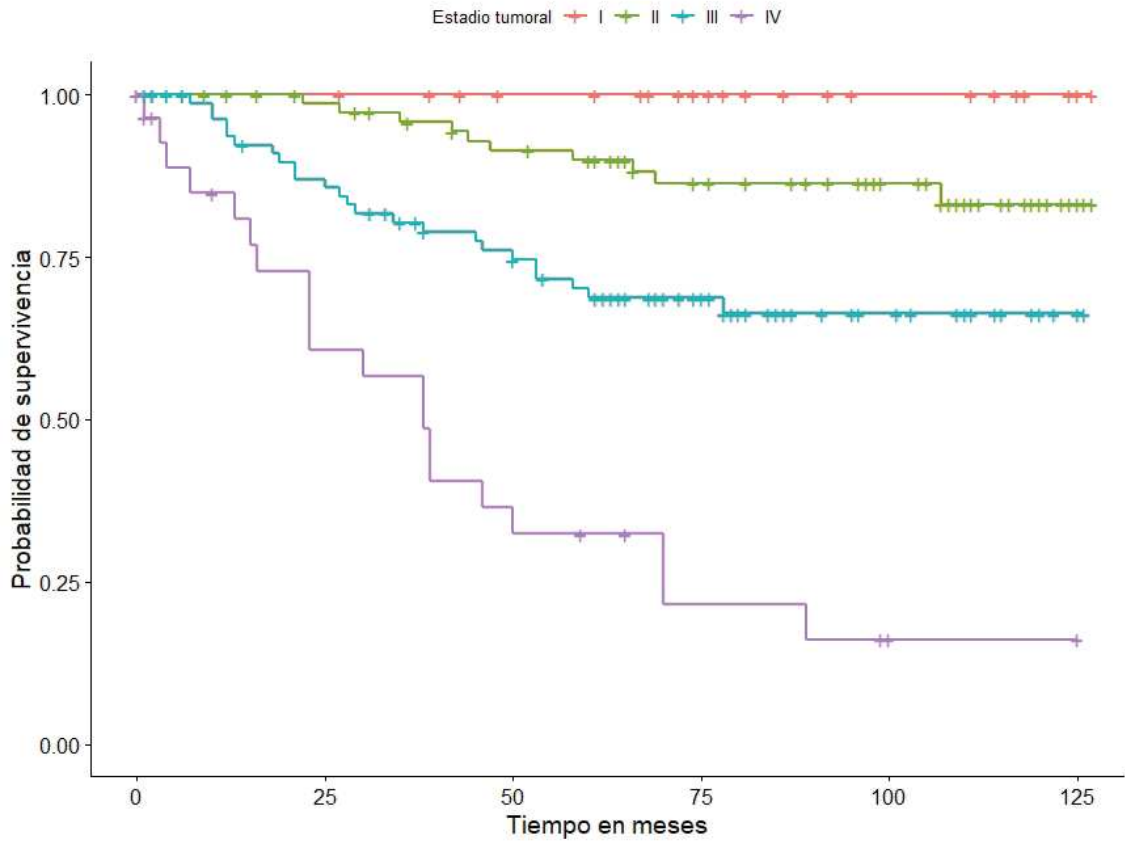


Fig 58: Curva de supervivencia por CCR de los pacientes para el seguimiento total del estudio en función del estadio tumoral del CCR (I-IV).  $p < 0,001$ .

El comportamiento de las curvas de supervivencia por CCR en el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA en los 3 tejidos analizados (sano/peritumoral/tumoral), no muestra diferencias significativas (Figuras 59-61).

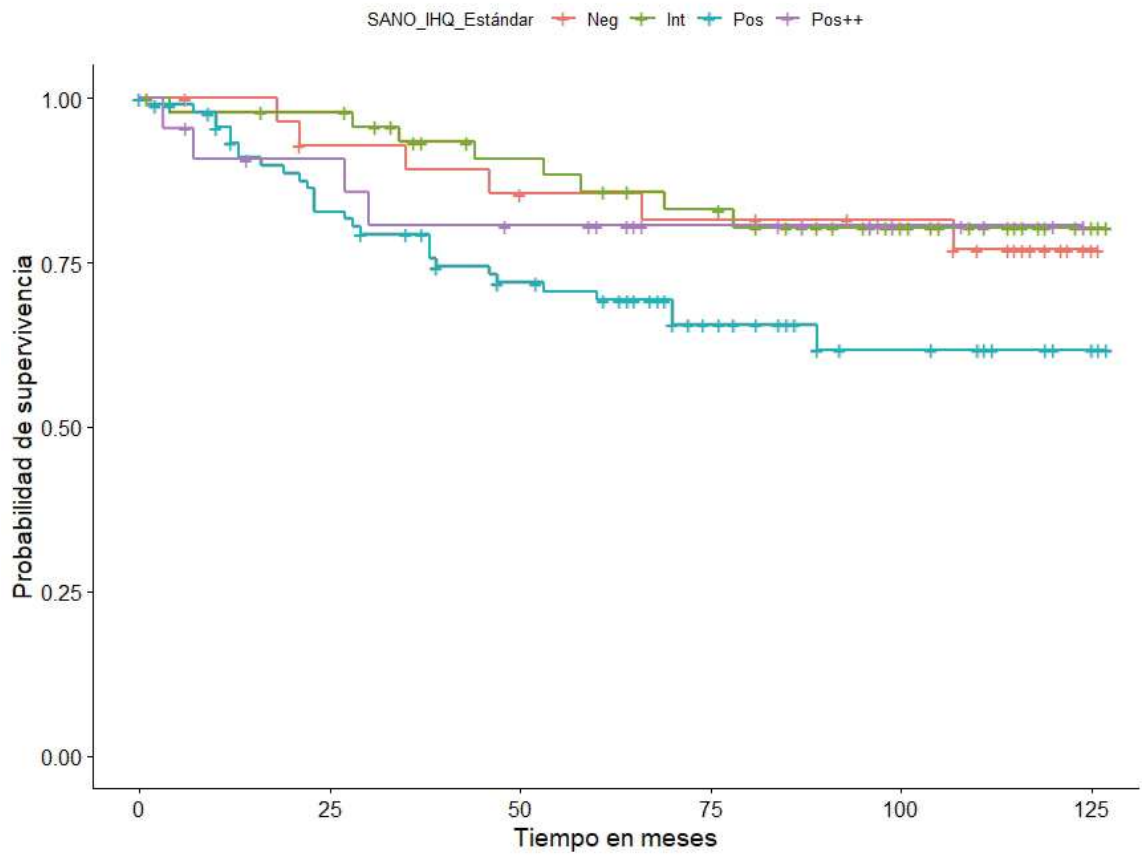


Fig 59: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido sano.  $p=0,093$ .

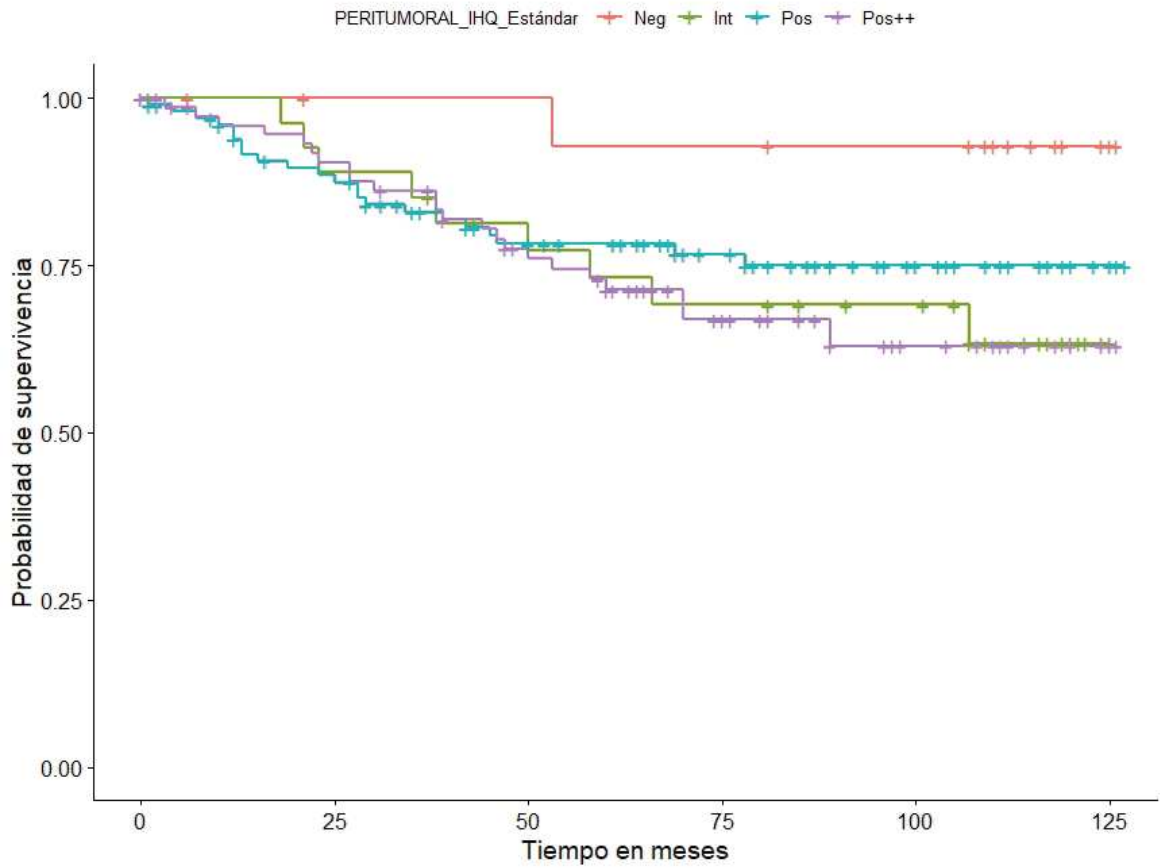


Fig 60: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido peritumoral.  $p=0,203$ .



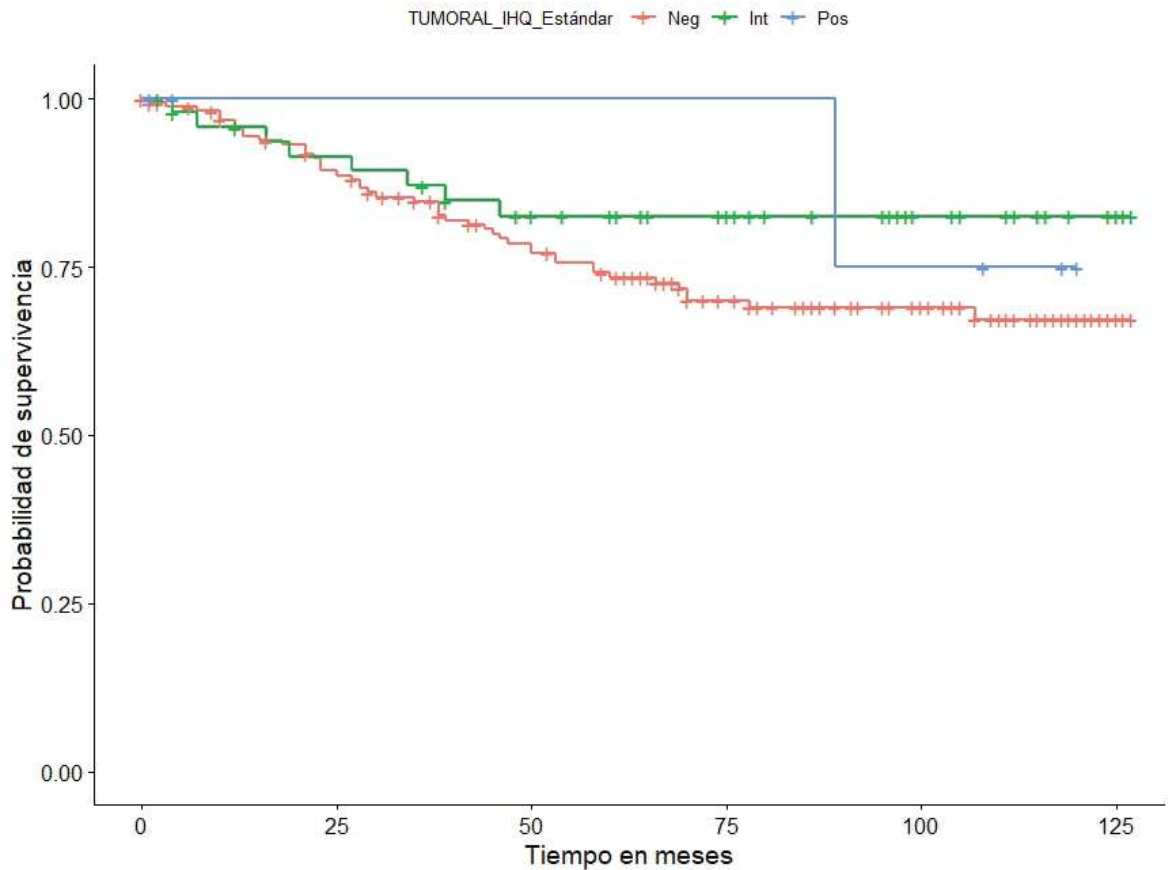


Fig 61: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento total en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido tumoral.  $p=0,305$ .

En el estudio de la supervivencia por CCR para el seguimiento a total, en relación a las variables combinadas de IHQ GZMA, vistos los resultados anteriores en relación a la supervivencia global y, por tanto, centrando los mismos en la variable IHQ\_CAT5 GZMA (neg Vs (int, pos, pos++)) no existen diferencias estadísticamente significativas en función de dicha tinción ( $p \geq 0,05$ ).

En lo relativo al estudio de las curvas de supervivencia por CCR con un seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA en los 3 tejidos analizados (sano/peritumoral/tumoral), no se han encontrado diferencias en su análisis (Figuras 62-64).

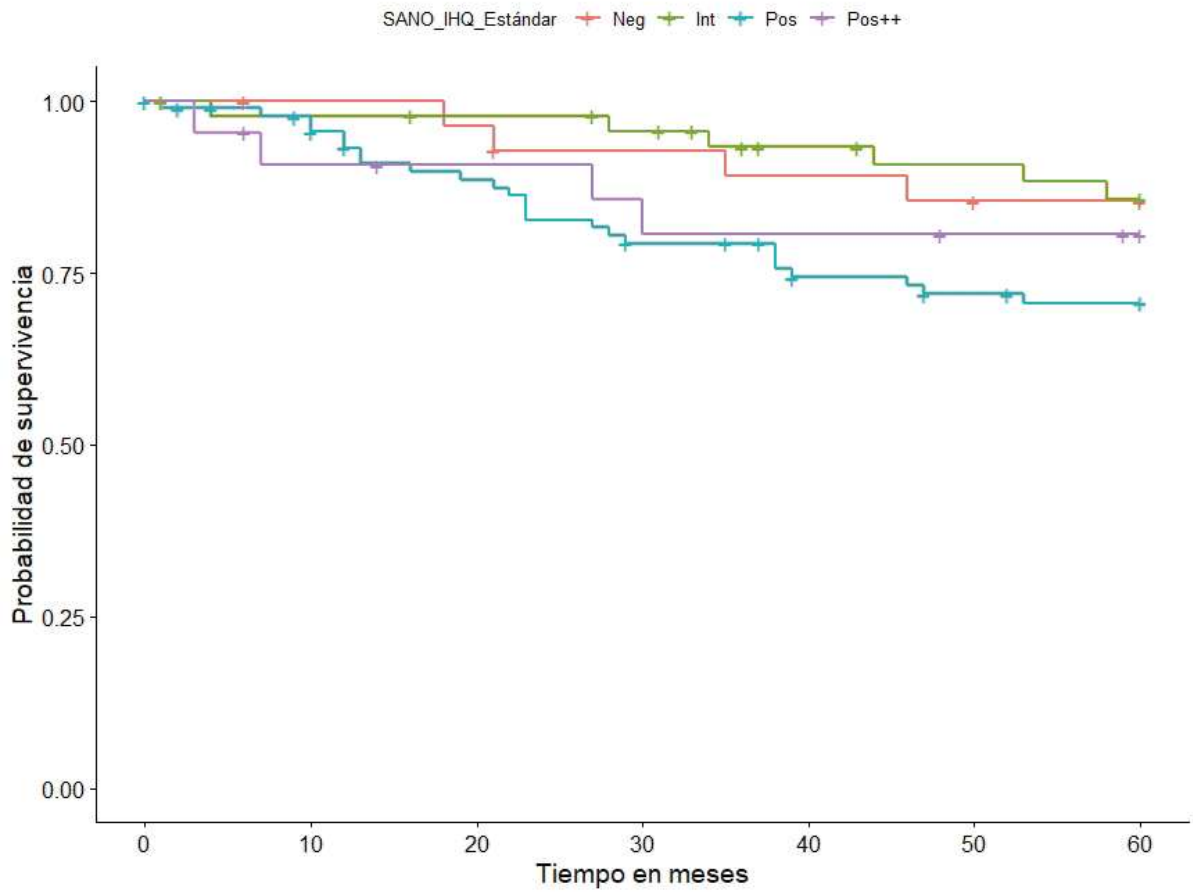


Fig 62: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido sano.  $p=0,124$ .

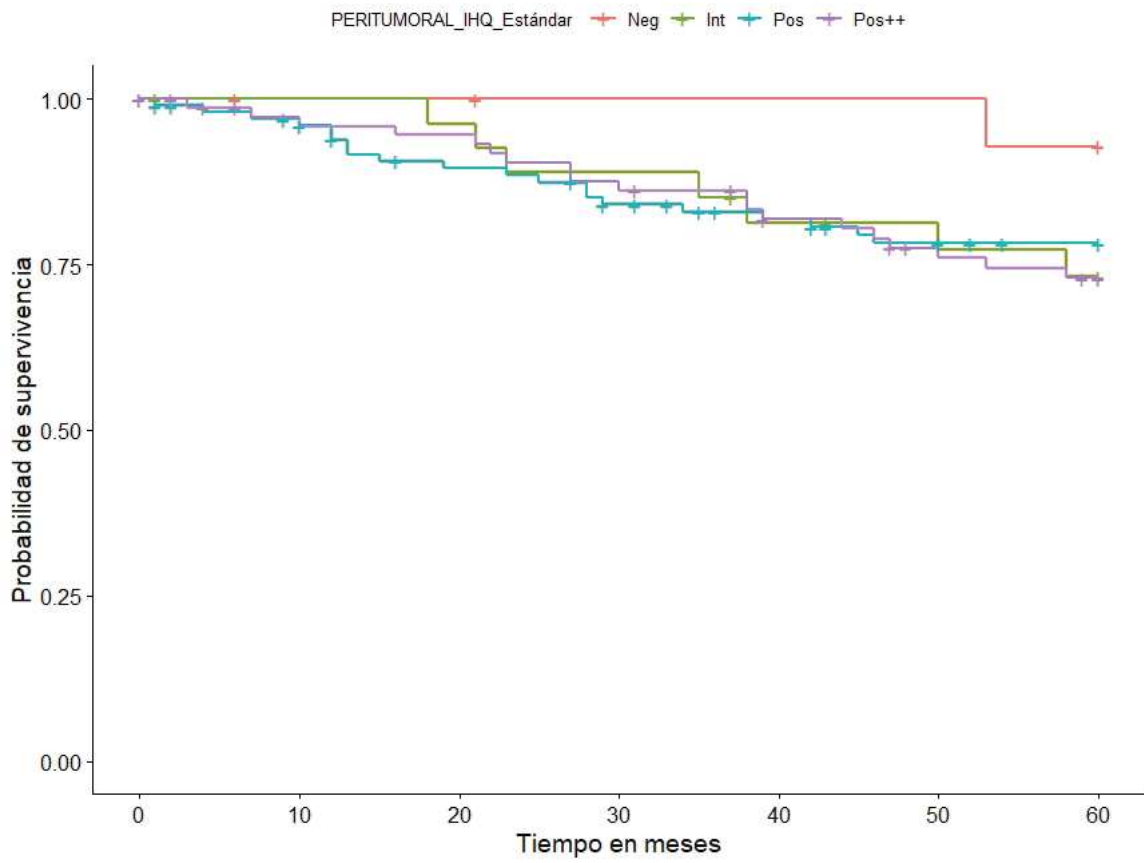


Fig 63: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido peritumoral.  $p=0,460$ .

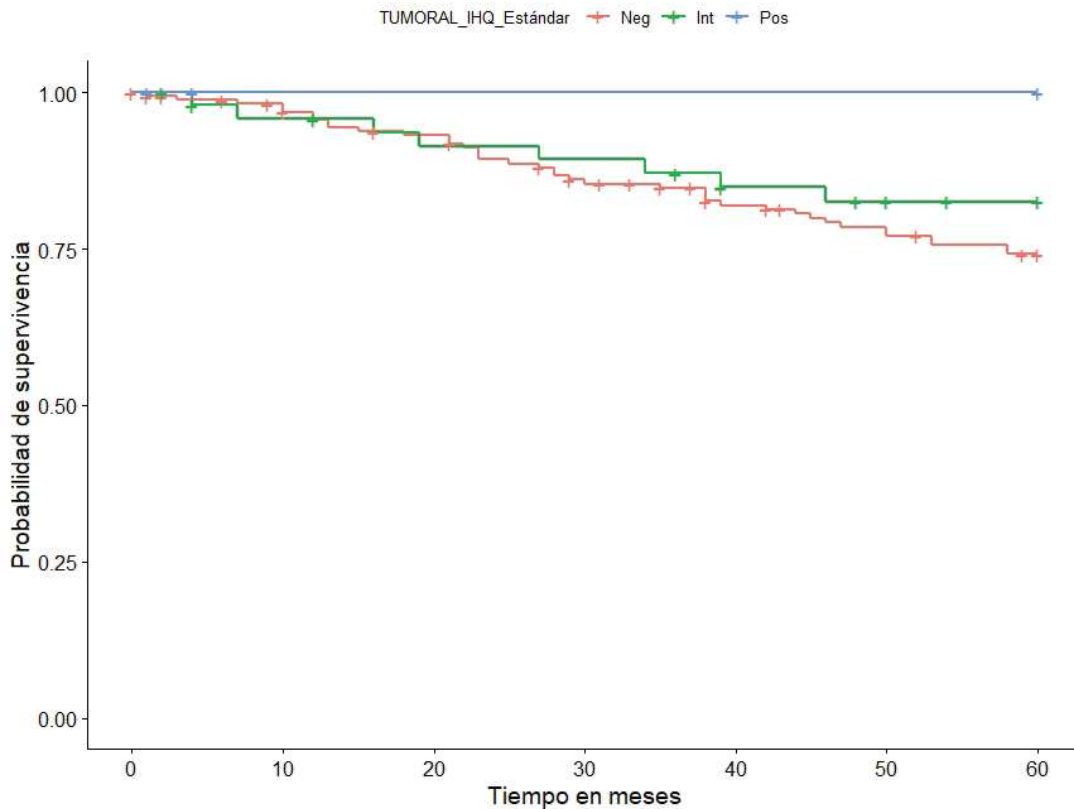


Fig 64: Curvas de supervivencia por CCR para el seguimiento a 5 años en función de la tinción estándar de IHQ GZMA para tejido tumoral.  $p=0,333$ .

En el estudio de la supervivencia por CCR para el seguimiento a 5 años, al igual que para el seguimiento total, en relación a las variables combinadas de IHQ GZMA, vistos los resultados previos en relación a la supervivencia global y, por tanto, centrando los mismos en la variable IHQ\_CAT5 GZMA (neg Vs (int, pos, pos++)) no existen diferencias estadísticamente significativas en función de dicha tinción ( $p \geq 0,05$ ).

*“Se estudia la relación de IHQ GZMA con la mortalidad por causas NO CCR, a continuación, se detallan los resultados más relevantes, los parámetros concretos de cada asociación se aportan en el anexo XVI (al año), XVII (a los 5 años) y XVIII (total de seguimiento)”*

Se realizó un análisis en relación a la supervivencia por otras causas no CCR y tanto para el seguimiento global, como para el seguimiento a 5 años, no se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia, en función de la IHQ estándar de GZMA ni en función de la IHQ de la variable combinada IHQ\_CAT5 para ninguna región a estudio (tejido sano/peritumoral/tumoral) ( $p \geq 0,05$ ).

## 6. DISCUSIÓN

El CCR supone alrededor del 10% de los cánceres diagnosticados en todo el mundo. Así mismo, supone un porcentaje similar de las muertes por cáncer a nivel global(1,2). Es la segunda neoplasia más frecuente en mujeres y la tercera en hombres. La tasa de incidencia ajustada por edad se sitúa en torno a 30,8 casos por 100.000 personas/año y la tasa de mortalidad en torno a 10,6 casos por 100.000 personas/año (4,5).

La carcinogenesis es el resultado de una compleja inter-relación entre procesos intra y extracelulares que promueven la proliferación, resistencia a la apoptosis, reprogramación y reorganización del medio extracelular y la inestabilidad genómica. La inflamación, aunque necesaria para el control del daño y la activación de la inmunidad del huésped contra patógenos y células transformadas, si no se regula adecuadamente puede ser capaz de influenciar estos procesos y promover el desarrollo de neoplasias(143,144). La proteína GZMA ha emergido recientemente como una nueva vía de inflamación que promueve el desarrollo de CCR y cuya inhibición podría ser beneficiosa para reducir el desarrollo y progresión del CCR. No obstante, existen pocos estudios previos que corroboren esta hipótesis, basados principalmente en estudios en modelos animales de CCR asociado a colitis (220).

### **Reclutamiento de los pacientes y características de los mismos.**

Respecto al número de pacientes reclutados, observamos que existe una diferencia entre los pacientes reclutados en este estudio con CCR y los esperados en el mismo período de tiempo para nuestra población. Esta diferencia se puede justificar por varios motivos. En primer lugar, los datos oficiales se extraen de diversas fuentes (intranet, conjunto mínimo básico de datos (CMBD) y servicios de anatomía patológica,(230-232)hecho que se debe tener en cuenta. El CMBD se basa en la información médica registrada fundamentalmente en el informe de alta hospitalaria de un paciente y la calidad de la información se relaciona con la calidad de los datos registrados en dicho informe, y su codificación posterior, algo que varía en función de la persona que lo elabora y de los datos que se reflejan. A pesar de lo descrito, el error diagnóstico o de codificación no debería ser muy importante. Por otro lado, nuestros datos, fueron recogidos únicamente por una enfermera responsable (PR) y estaban modulados por varios factores. Para que dicha enfermera lo registrase en su base de datos, el CCR debía ser diagnosticado por colonoscopia (no se incluyen pacientes con sospecha diagnóstica a los que no se les realiza la exploración por el motivo que sea, ni los pacientes que se diagnostican en radiología intervencionista o cirugía por complicaciones de su neoplasia al diagnóstico), el endoscopista responsable de la colonoscopia debe avisar a la enfermera que registra el CCR, algo que no

siempre ocurrió, y la enfermera debe estar disponible (no se incluyen endoscopias fuera de su horario de trabajo, endoscopias en su periodo vacacional o bajas laborales). A su vez, no todas las lesiones sospechosas de CCR por las que la enfermera es avisada, terminan siéndolo, habiendo casos en los que puede tratarse de adenomas no degenerados, cánceres de próstata, cánceres de ano, tumores neuroendocrinos etc. A pesar de lo comentado, consideramos que la información ha sido recogida de una manera homogénea sin sesgos importantes en las características del paciente o en el estadio de su enfermedad.

La edad media al diagnóstico del CCR en nuestra población es de  $71,3 \pm 10,4$  años y el 50% de los pacientes tiene 73 años o más en el momento del diagnóstico. La incidencia del CCR aumenta con la edad y es un factor de riesgo para su desarrollo,(2,10)pero en este estudio destaca la edad avanzada del grueso de la población. Este hecho se justifica por varias causas, una de ellas es que el motivo de diagnóstico del CCR por el que los pacientes son incluidos en el estudio es, en el 98,2% de la muestra, la aparición de síntomas secundarios a la presencia de la enfermedad. En concordancia con lo anterior, está el hecho de que en el HCULB el programa de “*screening*” de CCR en población general de riesgo medio se inició en 2013 (233) y por tanto, en un momento posterior al período de inclusión de los pacientes de este estudio.

En este estudio el 61,0% de los pacientes son hombres (139/228), una proporción esperable ya que el sexo masculino tiene una incidencia y un riesgo superior de desarrollo de CCR(2,10).

Sobre los 148 pacientes con datos sobre su IMC, un 45,9% presenta sobrepeso y un 34,5% obesidad. Este es el único factor de riesgo modificable recogido en este estudio, y, como ya es conocido, corrobora los datos sobre la relación entre un elevado IMC y un mayor riesgo de CCR(18).

Como ya se ha descrito, el 98,2% de las colonoscopias diagnósticas del CCR motivo de inclusión en este estudio, se realizaron debido a la presencia de síntomas. Por orden de frecuencia, los síntomas mayoritarios fueron rectorragia (43,3%), anemia ferropénica (28,1%), cambio del ritmo gastrointestinal (18,3%), síndrome constitucional (6,2%) y dolor abdominal (4,9%). Todos ellos son síntomas clásicos descritos para esta enfermedad (8,24). En un estudio llevado a cabo por nuestro centro, el HCULB, con 727 pacientes en el periodo de 2016 a 2018 para el estudio del uso de SOHi en pacientes a los que se les realizaba una colonoscopia diagnóstica por síntomas mantiene como 1º indicación de colonoscopia por síntomas la rectorragia (34,7%), seguido muy de cerca por los cambios en el ritmo gastrointestinal (32,8%) y de manera menos

frecuente en la actualidad, el dolor abdominal (13,9%) y la anemia ferropénica (12%)(234). Estas diferencias podrían ser explicadas en relación al hecho de que de los 261 pacientes con lesiones en su colonoscopia (35,9% del total de la muestra), sólo 36 pacientes tuvieron como resultado un CCR.

Respecto a los antecedentes familiares de CCR de los pacientes del estudio, se observan 5 pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CCR familiar (2,2%)(8,24,81) y 13 pacientes (5,7%) con antecedentes familiares de CCR. Está descrito que aproximadamente el 25% de los pacientes con CCR presentan historia familiar de CCR sin un síndrome genético claramente diagnosticado (4). Respecto a la información descrita, cabe destacar que se han seguido los criterios "antiguos" de CCR familiar en el presente estudio (Antecedente familiar de 1º grado menor de 60 años o dos familiares de 1º grado con CCR) debido a que los criterios actualizados (dos familiares de 1º grado con CCR) no se encuentran plenamente vigentes en la práctica clínica actual. A su vez, como muestran las cifras, la proporción de pacientes con historia familiar es inferior a la descrita para este tipo de cáncer. Esto puede deberse a que la información recogida en la base de datos de familiares de pacientes con CCR del HCULB a pesar de ser recogida en su mayoría por una única enfermera (YM), han participado diversos reclutadores de información, una información además recogida de manera retrospectiva, sin entrevista con el paciente en muchos de los casos, entre otros motivos porque en el momento de recogida de la información el paciente podía ya haber fallecido, lo que dificulta en gran medida una recogida óptima de los datos.

Durante el seguimiento, un 24,6% de los pacientes ha tenido alguna recurrencia (56/228) y un 19,3% ha tenido progresión (44/228), de los cuales 32 habían tenido recurrencia previa (72,7%) y 12 no (27,3%). Teniendo en cuenta que a pesar de un correcto manejo quirúrgico con o sin terapia adyuvante posterior, aproximadamente el 30-50% de los pacientes con CCR recaen, y que la mayoría de estos pacientes morirán por esta enfermedad, los datos obtenidos de ajustan a los estándares (101).

Un 46,9% del total de los pacientes ha fallecido durante el estudio (107/228), 55 de los fallecidos (51,4%) debido al CCR y 18 de ellos (16,8%) por causa desconocida. Aunque no es posible corroborarlo fehacientemente, existe una alta sospecha de que los pacientes con causa desconocida puedan ser pacientes fallecidos por CCR y el motivo del desconocimiento de la causa sea que eran pacientes con CCR en estadios avanzados que ya no seguían controles especializados. Si esto fuese así, sumando ambas causas de muerte (CCR+ desconocido)

contaríamos con 73 pacientes fallecidos, o lo que es lo mismo aproximadamente 1/3 de la muestra, mortalidad que se espera para el global de pacientes con CCR (teniendo en cuenta todos los estadios de manera conjunta)(1,2).

La mortalidad en el post-operatorio (precoz y tardío) fué de 12 pacientes lo que supone el 11,2% de los pacientes fallecidos (12/107), y el 5,26% de la muestra de pacientes intervenidos (12/228). En un estudio de la mortalidad post-operatoria del CCR en población española en un período de inclusión similar al nuestro, en un centro terciario con una población atendida similar a la nuestra demostraron cifras del 3,6% (incluyendo cirugías urgentes y programadas) de mortalidad en el post-operatorio (precoz y tardío), siendo por tanto en nuestro estudio levemente superiores(235).

### **Evaluación de los tumores a estudio.**

Derivados de los 228 pacientes del estudio, disponemos de 243 tumores ya que un 6,6% de los pacientes (15/228) tiene un segundo tumor síncronico o metacrónico.

Un 33,7% de los tumores a estudio (82/243) se localizan en colon derecho, un 32,9% en colon izquierdo (80/243) y un 33,3% en recto (81/243). Aunque la distribución anatómica del CCR varía considerablemente según los diversos estudios, en un estudio realizado en nuestro medio (85) la distribución de la localización del CCR fue de un 25% en colon derecho, un 38% en colon izquierdo y un 37% en recto(86). La mayor proporción de cánceres de colon derecho en nuestro estudio puede deberse a que este tipo de localización es más frecuente en pacientes de edad avanzada, los cuales son el grueso de nuestra población(67).

Los estadios de los tumores a estudio claramente definidos (0-IV) muestran 38 tumores (15,6%) en estadio precoz (invasión mucosa y submucosa, estadio 0 y I), 121 tumores (49,8%) sin afectación ganglionar (estadios 0, I, II), 84 tumores (34,6%) con afectación ganglionar y 29 tumores (11,9%) con afectación metastásica al diagnóstico. Existe una proporción de tumores en estadios I-IV mantenida. En una población como la nuestra con un alto porcentaje de pacientes en edad avanzada diagnosticados mediante colonoscopia por síntomas en la inmensa mayoría de los casos, es natural encontrar una baja proporción de pacientes con adenocarcinoma precoz en comparación, por ejemplo, con grupos de pacientes con CCR diagnosticados en programas de cribado poblacional mediante SOHi. En nuestro hospital, tras el inicio del programa de cribado, la proporción cambió significativamente, datos que fueron



publicados en 2018 y que muestran que de los 564 pacientes con colonoscopia realizada en contexto de SOHi positiva durante el primer año de puesta en marcha del programa de cribado de CCR en Aragón se detectaron 28 pacientes con CCR y de ellos el 67,86% de la muestra (19 pacientes) se diagnosticaron en estadio I (233).

El estadio post-tratamiento neoadyuvante y la evaluación de la respuesta al mismo en la pieza quirúrgica (comparando estadio pre y post tratamiento) de los 33 tumores rectales que lo recibieron viene limitado por la escasa accesibilidad a la RMI pélvica y/o la EUS diagnóstica en este tipo de tumores. Este hecho explica porque de los tumores rectales con respuesta parcial, en el caso de 7 tumores rectales (21,2 % del total) faltan datos respecto a dicha evaluación, principalmente por la dificultad de estadiaje loco regional en cuanto a la T y N previo al tratamiento oncológico, lo que hace imposible comparar el estadio pre-tratamiento con la situación evaluada en la pieza quirúrgica tras el mismo.

En la mayoría de los casos de CCR se describen como tumores de tipo adenocarcinoma bien o moderadamente diferenciados con una secreción variable de mucina (24). En nuestra población de tumores se cumplen estos requisitos con un 99,2 % de adenocarcinomas y un 75,3% de tumores bien o moderadamente diferenciados.

Respecto a la descripción de la pieza quirúrgica en cuanto a la presencia o no de invasión vascular y linfoide o de si se trata de un tumor subtipo mucinoso o no, destaca el alto porcentaje de ítems catalogados como desconocidos. Este hecho se puede justificar porque dichas variables no afectan de manera directa a la elección del tratamiento adyuvante y es recientemente, con la introducción del concepto de CCR precoz (estadios tumorales resecables endoscópicamente) y su aumento en relación al desarrollo de los programas de cribado, cuando se han evaluado con mayor notoriedad y dado un valor pronóstico (82).

Todos los CCR seleccionados para este estudio, en caso de tener realizado un análisis de IHQ para proteínas de IMS (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2) presentan una expresión normal de dichas proteínas. Podrían existir casos con pérdida de expresión de MLH1 que fuesen casos esporádicos, sin componente genético, pero, como el estudio mutacional BRAF-V600E no se empezó a realizar en nuestro centro hasta 2017 y, el estudio genético en sangre periférica no está disponible en formato digital en la mayoría de los pacientes del periodo de estudio, se decidió descartar todos los pacientes con pérdidas de expresión de MLH1 para evitar sesgos de selección. Este hecho, puede haber limitado la evaluación de los tumores esporádicos con

mayor componente inmunogénico en el seno del CCR, los CCR MSI (pérdida de expresión MLH1) BRAF-V600E positivos. Por otro lado, observamos que no todos los pacientes que, teniendo en cuenta los criterios más sencillos de Ámsterdam y Bethesda (<61 años, CCR familiar, tumor sincrónico o metacrónico), cumplían condiciones para el estudio de pérdida de expresión de proteínas de IMS, fueron estudiados para ello, o se dispone de datos. Con gran probabilidad pueda haber informes no digitalizados con estos datos. Así mismo, la petición de la realización de la técnica, previo a 2017, era médico-dependiente y podía partir de diferentes servicios (digestivo/oncología) por lo que la variabilidad en la práctica clínica era mayor. Desde 2017 se realiza esta técnica de manera sistemática a todos los pacientes con CCR en nuestro centro.

En referencia al tratamiento de los tumores a estudio, el tratamiento curativo estándar es la resección quirúrgica con únicamente un 1,2 % de tratamiento endoscópico de los tumores. Esto se explica debido a la escasez de tumores en estadio precoz (38 tumores (15,6%) en estadio precoz con invasión mucosa y submucosa) y al escaso desarrollo en el periodo de estudio de técnicas resectivas endoscópicas como la RME o la DSE(82,233).

Respecto al tratamiento oncológico cabe destacar varios puntos. En primer lugar, es importante recalcar que durante el periodo de estudio la información electrónica es escasa y no se registraban en este formato las decisiones de los comités de tumores y de igual forma, al no disponer de historia clínica electrónica, no quedaba reflejado el tratamiento concreto o la duración claramente establecida por parte del servicio de oncología médica y radioterápica desde consultas externas. Es cierto, que, conociendo el tipo de tumor y realizando una búsqueda activa en INTRANET del HCULB de las programaciones en hospital de día y en consultas externas de ambos servicios, se puede establecer el tipo de tratamiento administrado y su duración. Así mismo, la evolución del paciente y la realización periódica de pruebas de imagen ayudaba en este punto. Es cierto que, durante el período de estudio, muchos de los pacientes oncológicos ingresaban en el hospital para infusión de QT o como consecuencia de reacciones adversas a la misma, por lo que, del informe de alta hospitalario, disponible en formato digital, se conseguían de igual forma muchos de los datos necesarios. El tratamiento oncológico realizado es el estándar según las guías clínicas conocidas en el período de estudio (236). Esta situación respecto a la práctica habitual difiere en: (101,104,122,237)

-Mayor uso durante el período de estudio de tratamiento combinado QT+RT en los tumores rectales con necesidad de neoadyuvancia frente a ciclos cortos de RT aislada que mejoran el perfil de efectos secundarios, principalmente neuropatía, secundarios al tratamiento QT en este contexto. La definición más precisa del estadiaje tumoral debido a un mayor acceso a RMI

pélvica, EUS transrectal y PET-TAC, en los casos necesarios, y el aumento de los conocimientos actuales respecto al valor de factores pronósticos como el subestadiaje T3, la valoración del EMVI, CRM y la presencia de depósitos extranodales, justifica que el tratamiento combinado en la actualidad sea necesario en el caso de carcinomas rectales con margen de resección comprometido, pero no es obligado en otro tipo de estadios, donde el SCPRT es una opción igualmente válida.

-Imposibilidad de valoración sistemática de la IHQ para IMS, hecho que actualmente permite catalogar a los tumores en tumores MSS o MSI, parámetro que influye en la necesidad de tratamiento QT en los pacientes Estadio II o en la duración del mismo en ese grupo de pacientes: en caso de MSS se consideran pacientes estadio II de “alto riesgo” y se debe añadir oxaliplatino a la QT estándar con fluoropirimidinas (se decide que es preciso la administración de QT y se decide que la QT debe ser combinada).

-Imposibilidad de estudio mutacional BRAF-V600E con el objetivo de elección del tratamiento oncológico en caso de tumores metastásicos.

-Imposibilidad de estudio mutacional sistemático de KRAS. Desde 2014, con peculiaridades descubiertas posteriormente, en caso de análisis mutacional negativo (es decir, presencia de variables “salvajes” o “wild-type”) como primera línea de tratamiento en los pacientes con CCR metastásico del lado izquierdo del colon se pueden administrar agentes anti-VEGF (bevacizumab, desarrollado en 2004 y sin necesidad de estudios moleculares para su uso) o anti-EGFR (cetuximab o panitumumab) (133,134). En nuestro centro el análisis mutacional de KRAS se realiza desde el año 2017, por lo que no se ha tenido en cuenta para este estudio.

#### **Análisis de la técnica de IHQ GZMA. Elección de zonas a estudio y método de conteo.**

La primera vez que se publica un artículo científico respecto a la relación de la familia de las GZMs y el CCR en humanos fue en 1997 en un artículo de *Mulder et al*(238). En este artículo se evalúa mediante técnicas de IHQ la positividad de las células linfoides para CD3+, CD8+ RCT- $\gamma$ , y GZMB en tejido cólico sano (piezas o biopsias de pacientes sin CCR, por ejemplo, por enf Hirschprung) frente a pacientes operados por CCR en estadio Dukes A (Estadio I TNM AJCC-UICC. 8ª edición) o en estadio Dukes D (Estadio IV TNM AJCC-UICC. 8ª edición (94)). La evaluación se realizó mediante conteo manual en 10 campos de gran aumento (x 400) que debían representar, en caso de los pacientes con CCR, el 75% de la superficie tumoral. No se especifica como se evaluó el tejido sano ni que grado de experiencia tenía el evaluador anatomopatólogo.

Las conclusiones fueron que la mayoría de células que expresan GZMB en tejido sano fueron CD3 y CD8 negativas, sugiriendo que se trata de células NK, y en tejido tumoral la mayoría de células GZMB+ también lo eran CD3+ y CD8+, marcadores de células T linfoides citotóxicas. El estudio concluye que, en estadios avanzados, comparados con estadios precoces de CCR, el número de linfocitos que expresan RCT- $\gamma$ , y GZMB disminuye de manera significativa (Expresión GZMB Dukes A (media 34) vs normal (media 9):  $p=0,03$ //Expresión GZMB Dukes A v Dukes D (media 3):  $p=0,01$ ), probablemente 2º a factores biológicos locales segregados por el tumor, ya que “*in vitro*”, esos mismos linfocitos, pueden estimularse de manera eficaz. Este primer estudio ya sugería que la infiltración de células inmunes antitumorales con expresión de GZMB podría estar implicada en el control del CCR.

En 2006, Galon *et al*(239) tratan de caracterizar (tipo, densidad y localización) la población de células inmunes que infiltran el CCR de una población amplia de pacientes ( 3 cohortes independientes), mediante técnicas de expresión genómica e IHQ y en su estudio lo relacionan con resultados clínico-evolutivos en dicha población de pacientes. Estudian la expresión de genes relacionados con inmunosupresión y respuesta adaptativa TH1 y encuentran como existe un subgrupo de genes (entre los que aparecen genes que codifican las proteínas CD3, CD8, GZMB) relacionados con la respuesta pro-inflamatoria TH1 que presentan una correlación inversa estadísticamente significativa (combinaciones significativas  $p<0,0001$ ) con la recurrencia tumoral en los pacientes con CCR. Respecto al análisis IHQ se investigaron dos zonas del tejido, el centro tumoral (CT) y el margen invasivo (MI) para la expresión de CD3, CD8, GZMB y cel T memoria CD45R0. Se realizó el conteo de manera automatizada por nº células/mm<sup>2</sup> de tejido y se dividió los resultados en zonas de alta y baja densidad (>50% o menos al 50%) en función de la media de positividad para cada marcador definida para cada cohorte de pacientes. Se evaluaron estadios I-III de TNM AJCC-UICC 8º edición (94) y destaca como, de manera significativa, los pacientes con baja densidad de células CD3+ y CD45R0+ en el CT y MI tenían un pronóstico en términos de DFS similar a los pacientes con Estadio IV ( DFS CD3+ y CD45R0+ en el CT y MI Vs CD3- y CD45R0- en el CT y MI: log-rank statistical test  $p<10^{-4}$ ). En el análisis multivariante, tras corregir por TNM, las diferencias se mantienen (DFS: CD3CT-high/CD3MI-high: HR 2,379;  $p=1,4 \times 10^{-6}$ ). Respecto a la OS, en el análisis multivariante, la densidad de células positivas CD3CT/CD3MI fué el único parámetro independiente que se mantuvo estadísticamente significativo (HR 1.89;  $p=1,2 \times 10^{-5}$ ). En este artículo, de hecho, se llega a justificar a nivel estadístico que esta combinación de marcadores inmunológicos sea superior al estadio TNM en tanto a la capacidad de valoración pronóstica en términos de DFS y OS,

sugiriendo que debería tenerse en cuenta para justificar el tratamiento oncológico adyuvante en los pacientes con CCR.

El estudio de *Prizment et al*(240) estudia la expresión mediante IHQ de células inmunes (CD8+) activadas (GZMB+) en una cohorte prospectiva de mujeres con CCR. Se trata de una cohorte amplia bien caracterizada respecto a los datos demográficos, clínicos y mutacionales en CCR. Se realiza un conteo manual en tejido de CCR diferenciando epitelio y estroma, sin tener en cuenta el tejido peritumoral, algo que critican los propios autores en la discusión. El examen de la calidad para la inclusión de las muestras histológicas y su evaluación se realiza por parte de un anatomopatólogo experto en enfermedades gastrointestinales y se realiza un estudio de correlación frente a un conteo automatizado para validar la muestra, con un coeficiente Kappa de 0.93. Para la gradación de la tinción se diferencia en 4 niveles de positividad: 1\_ No detectado; 2\_Leve: 1-10 células/mm<sup>2</sup>; 3\_Moderado: 11-29 células/mm<sup>2</sup>; 4\_Fuerte  $\geq 30$  células/mm<sup>2</sup>. No hubo diferencias entre el *score* estromal y epitelial. En este estudio se encuentra una correlación inversa estadísticamente significativa entre la positividad a los marcadores descritos y la mortalidad por CCR y por todas las causas (no con la mortalidad por causa no CCR) de tal forma que en el modelo que unifica los *scores* CD8+ y GZMB+, comparando el mayor *score* combinado frente al menor, la HR (95%IC) para todas las causas de muerte y muerte por CCR, desciende un 53% y un 73% respectivamente. Los CCR MSI-H, CIMP-H, BRAF+ presentan una mayor proporción de positividad para los *scores* descritos, relacionándolos con la vía serrada de desarrollo de la carcinogénesis cólica.

En 2018 se publicaron dos artículos en relación a esta temática. El artículo de *Pagès et al* (93) publicado en la revista Lancet realiza una validación internacional, mediante la participación de un consorcio de 13 países, en el desarrollo del *Immunoscore*, un *score* IHQ que estudia la presencia combinada de células T CD3+ (linfocitos T) y CD8+ (linfocitos T citotóxicos) en CT y MI del CCR de estadios I-III. El objetivo primario del estudio fue valorar este *score* en términos de DFS en el CCR. El estudio está compuesto, entre otros, por inmunólogos y anatomopatólogos expertos internacionales y el conteo de IHQ se realiza mediante técnicas digitales midiendo las células positivas /mm<sup>3</sup> de tejido. Se realizan validaciones de la técnica de IHQ internas, externas, y entre centros. Las medias de positividad de las dos técnicas de IHQ y las dos zonas a estudio, se transforman en una variable combinada catalogada como *immunoscore*, variable que a su vez se cataloga de dos maneras distintas. La primera divide el *immunoscore* en bajo (1-25%) medio (25-70%) y alto (>70%). La segunda divide el *immunoscore* en bajo (menor del 25%) o alto (mayor del 25%). En este estudio se observa como los pacientes con un *immunoscore* alto, tienen el menor riesgo de recurrencia de CCR a los 5 años (14 [8%] pacientes con *Immunoscore* alto vs 65

(19%) con intermedio vs 51 (32%) con bajo; HR para alto Vs bajo 0,20, IC95% 0,10–0,38;  $p < 0,0001$ ). Esta asociación estadísticamente significativa es independiente del estadio TNM y del análisis de IMS. Los autores concluyen que debe tenerse en cuenta este *score* en pacientes Estadio II para ayudar a la toma de decisión de inicio de tratamiento QT adyuvante y en pacientes con estadio III para valorar qué pacientes pueden ir a una pauta de QT reducida en número de fármacos o duración del tratamiento, y proponen el TNM-inmunológico, que combina el estadio TNM con el estadio del *inmunoscore* en estos pacientes.

Ese mismo año 2018, *Narayanan et al*, (241) publican un artículo muy interesante sobre la expresión genómica en tejido intratumoral de linfocitos activos, entendidos como aquellos que expresan GZMA y PERFORINA1. A esta combinación de marcadores la denominaron *Cytolytic Activity Score (CAS)* y se midió su expresión en 456 pacientes con CCR registrados en un Atlas genómico pre-existente. Un CAS-Alto se asoció con la presencia de CCR MSI-H así como altos niveles de linfocitos T CD4 de memoria activados, linfocitos T gamma delta, macrófagos M1 (pro-inflamatorios) y presencia de moléculas relacionadas con *immune check-points*. Así mismo, los pacientes CAS-Alto presentaron tasas mayores de OS I ( $p=0,019$ ) y DFS ( $p=0,016$ ) comparados con los pacientes CAS-bajos, una asociación independiente del MSI estatus. No se obtuvieron datos de comorbilidad de los pacientes ni de tratamiento debido a las características de la fuente original de obtención de los datos. Los autores consideran que el CAS puede determinar el pronóstico en pacientes con CCR y debería tenerse en cuenta con mayor énfasis en pacientes candidatos a tratamientos con *immune check-points inhibitors*.

Teniendo en cuenta los estudios de los que partíamos y los que se han ido publicando conforme se desarrollaba esta tesis, deben quedar claros los siguientes puntos:

- Aunque la GZMA se conoce desde finales de los años 80, su estudio ha estado principalmente asociado a la función citotóxica de células inmunitarias y apenas existen estudios de su presencia en tejidos a nivel de proteína. Por tanto, no existían anticuerpos comerciales validados adecuadamente para IHQ. Por este motivo dentro de los trabajos iniciales para el desarrollo de esta tesis, en colaboración con la empresa InyCom Biotech, se desarrolló y validó un anticuerpo monoclonal de ratón frente a la GZMA para ser utilizado en IHQ.
- Se decidió seleccionar el estudio de IHQ de GZMA en 3 zonas distintas (sano/peritumoral o margen invasivo/ tumoral) debido a que la evidencia apoyaba este hecho y que a su vez ningún estudio previo había combinado la presencia de las 3 zonas. El tejido sano se eligió de las mismas muestras de pacientes con CCR de los que se elegían el resto de zonas, algo que hacía mucho más homogéneo el estudio de resultados. Es cierto que el

tejido sano, probablemente no refleje de manera inequívoca el comportamiento de un colon sano en ese mismo paciente debido a que no se encuentra alejado mucho más de 5 centímetros del grueso de tejido tumoral (24,94), pero puede ayudarnos a entender el comportamiento aproximado de la expresión proteica en esta zona. El tejido peritumoral, o margen invasivo, en la mayoría de estudios no está claramente descrito (zona exacta o la definición concreta que se usa para su delimitación) por lo que no ha sido sencillo elegir un criterio y homogeneizar la muestra. Respecto al tejido tumoral, la localización y extensión ha sido sencilla y forma parte de la evaluación habitual de este tipo de piezas quirúrgicas.

- La graduación en el resultado de la IHQ de GZMA en POS++, POS+, INT, NEG, tiene un sustento científico previo, como se ha descrito(240) pero a su vez se ha elegido un nivel numérico de positividad para cada graduación de manera arbitraria, como es lógico en una técnica de IHQ no sistematizada ni comercializada sin gran evidencia científica previa a este estudio. Fue muy importante el número medio de células teñidas en la prueba piloto realizada para decidir los puntos de corte de cada graduación. Por otro lado, consideramos que, aunque esta graduación se puede simplificar, es una aproximación útil para la valoración de los resultados.
- El hecho de analizar los resultados en forma de expresión proteica y no en forma de expresión genómica de GZMA se justifica con el hecho de que esta metodología es la que mayormente se usa en la práctica clínica habitual en los pacientes con CCR en el estudio de otras proteínas relacionadas con el pronóstico de esta enfermedad (Ej IMS). Además, se sabe que no todo gen presente se expresa finalmente en una proteína efectora en el tejido, y el hecho de medir la proteína resultado, asegura el efecto biológico de dicho gen. De hecho, un estudio previo (242) demostró que, pese a que las células NK *naive* presentan niveles altos de mRNA de PRF1, GZMA and GZMB, la expresión de las proteínas solo se detecta tras su estimulación con la citoquina inflamatoria IL15, lo que confirma que algunas GZMs pueden expresarse a niveles altos de mRNA pero sin presencia de proteína. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que evalúa expresión proteica mediante IHQ de GZMA en tejido de CCR en pacientes en la práctica clínica habitual.
- La selección de muestras a estudio fue realizada de manera manual con un microscopio óptico estándar por la doctoranda con la supervisión de un anatomopatólogo experto en patología gastrointestinal. Las dudas en la interpretación de los resultados de IHQ de igual forma fueron supervisadas por el mismo anatomopatólogo. No se puede extrapolar este estudio, pese a todo, con la literatura disponible, en la que la evaluación

de las técnicas se hace por anatómo-patólogos expertos directamente y en los que la correlación en los resultados se mide entre anatomopatólogos o frente a analizadores automáticos mediante contaje electrónico. A pesar de lo comentado, el análisis de concordancia tuvo como resultado un índice de concordancia del 88,9 % con un coeficiente kappa de 0,761, valores que se consideran más que aceptables para este tipo de análisis.

### **Expresión de GZMA en tejido de CCR. Relación entre zonas a estudio.**

Los datos de los que se dispone para el estudio, partiendo de la variable de IHQ con cuatro categorías (Estándar: NEG, INT, POS, POS++) para GZMA en función de las zonas analizadas, son:

SANO (S) n=204 tumores

PERITUMORAL (PT) n=237 tumores

TUMORAL (T) n=237 tumores

No se dispone del mismo número de tumores en las tres zonas analizadas debido fundamentalmente a los siguientes problemas:

- Tejido sano: Es posible que no se encontraran cortes histológicos representativos, no fuesen valorables por *melanosis coli* intensa, hubiese problemas de montaje (portacubreobjetos) que dificultase su interpretación, o en caso de pólipos degenerados, el tejido considerado como “sano” por distancia al tumor, fuese tejido adenomatoso polipoideo y no podía catalogarse como sano.
- Tejido peritumoral: Puede no ser valorable porque no hay tumor (Ej. Respuesta completa al tratamiento neoadyuvante) o porque existiese una *melanosis coli* intensa que dificultase su interpretación.
- Tejido tumoral: Si existe una respuesta completa a la neoadyuvancia en la pieza quirúrgica, no es valorable, así como en los casos de “mínimas células residuales” en los que no hay masa tumoral unificada, lo que dificulta en gran medida la evaluación de la zona.

Respecto al comportamiento general de la expresión de la IHQ de GZMA en las diversas zonas a estudio en las piezas quirúrgicas analizadas, el 85,3% de las piezas presentan algún tipo de expresión de GZMA (POS++, POS+, INT) en tejido sano, el 92% en tejido peritumoral y el 24,9% en tejido tumoral.



El comportamiento de un tejido respecto a otro mostró como, existe relación entre la distribución de la tinción de IHQ GZMA en tejido sano y en tejido peritumoral para todas las combinaciones posibles de variables de tinción de IHQ GZMA (estándar y combinadas)  $p < 0,001$ . El comportamiento de ambos tejidos es similar, pero con una proporción de POS++ superior en tejido peritumoral y una proporción de INT y NEG superior en tejido sano. Como se ha comentado en esta tesis, el tejido catalogado como sano es probable que no se comporte exactamente como tal, pero es el tejido más parecido que se podía evaluar en el mismo paciente con la misma patología y la misma pieza quirúrgica. El tejido sano, parece ser una extensión del tejido peritumoral, pero con una proporción menor de células positivas para la IHQ de GZMA. De hecho, si como parecen indicar los diferentes estudios ya indicados en la introducción, en la mayoría de los casos existe un componente inflamatorio molecular responsable del desarrollo de CCR, estos datos sugieren que la presencia de GZMA en tejido sano y peritumoral sería un marcador de la inflamación como paso previo a la transformación tumoral y a la aparición de células cancerosas. En cambio, una vez desarrollado el tumor se produciría una exclusión de las células inmunológicas y una reducción en la inflamación, dado que estas respuestas tendrían una función eminentemente anti-tumoral una vez establecido el tumor, tal y como se confirma por la escasa presencia de GZMA en tejido tumoral. De hecho, los estudios indican que la mayoría de los CCR, a excepción de los MSI-H, son tumores “fríos” que presentan poca infiltración inmune (243). Se podría hipotetizar que la presencia de GZMA y su función inflamatoria protumoral sería importante en el proceso de transformación epitelial antes de la aparición de células cancerosas y que, una vez desarrollado el tumor, su expresión se reduciría en concordancia con una menor infiltración de células inmunes. De hecho, el estudio en el modelo animal indica que la inhibición o ausencia de GZMA reduce la inflamación intestinal y el proceso de EMT, lo cual apoyaría esta hipótesis (220).

Siguiendo con este análisis, evaluadas todas las variables posibles (estándar o combinadas) para la IHQ GZMA, ninguna muestra relación en la comparativa de resultados de tinción entre tejido sano y tejido tumoral, lo que apoya la hipótesis de que el comportamiento de la tinción es completamente distinto entre ambos tejidos y da valor al hecho de que el tejido sano pueda ser interpretado como tal.

Por último, se observó cómo existe relación entre los niveles de IHQ GZMA en tejido peritumoral y en tejido tumoral, de tal forma que los pacientes con tinción Pos o Pos++ en tejido tumoral tienen mayor probabilidad de ser también Pos o Pos++ en tejido peritumoral (Variable IHQ\_CAT neg, int, (pos+ pos++) GZMA ( $p = 0,019$ )). Esta relación, a pesar de que se debe interpretar con precaución debido a que hay bajo número de positivos (pos, pos++) en tejido tumoral, sugiere

que la mayoría que los infiltrados inmunes GZMA positivos presentes en tejido tumoral es muy probable que surjan del infiltrado peritumoral que rodea a la mayoría de estos tumores, rompiendo la barrera física y química que supone el propio tumor y penetrando en su masa tumoral.

En este punto destacamos como, hasta el momento y con el conocimiento del que disponemos, no existe ningún estudio publicado que evalúe la relación entre las diferentes zonas analizadas de las piezas quirúrgicas de CCR en cuanto a su expresión histológica para IHQ de GZMA.

### **Expresión de GZMA en tejido CCR. Relación con diagnóstico, tratamiento y pronóstico.**

Existen muy pocos estudios previos en la literatura que hayan profundizado en este tema y sobre los que se puedan hacer comparativas con nuestros resultados. Los dos estudios más relevantes (220,241) respecto al análisis de la relación de la expresión de GZMA y CCR en humanos se basan en datos genéticos y no proteómicos, lo que limita las comparaciones en los resultados con esta tesis.

Respecto a la relación de la expresión de GZMA y el **diagnóstico** de CCR, destacamos que no existe una relación significativa con la localización tumoral. En esta tesis no se han hecho estudios mutacionales de KRAS ni BRAF dado que en nuestro hospital no fue hasta 2017 cuando se empezaron a hacer técnicas de IHQ para estas proteínas. De manera menos específica se puede valorar que los tumores de colon derecho, los cuales presentan mayor número de mutaciones en el gen BRAF (así como mayor probabilidad de MSI-H) y los tumores de colon izquierdo, los cuales presentan mayor proporción de mutaciones KRAS(4,68), no muestran una relación estadística con los patrones de tinción de la IHQ de GZMA para la tinción estándar ni para ninguna de sus variables combinadas. En este punto es importante destacar que, de igual forma, no se ha observado una relación significativa entre la realización del estudio de IHQ de inestabilidad de microsatélites en la pieza de CCR sí/no y los resultados de tinción de IHQ GZMA para ninguna de las variables consideradas. En estudios previos, la expresión genómica de GZMA (CAS-Alto) se relacionó con mayor probabilidad de CCR MSI-H, algo que no podemos corroborar con nuestros datos debido al diseño de este estudio (un criterio de exclusión era la presencia de pérdida de expresión de las proteínas de reparación de ADN)(241).

En relación al estadio tumoral, no se observa relación estadísticamente significativa entre el estadio tumoral TNM como variable de 4 categorías (considerados estadios I, II, III, IV) y los

resultados de tinción de IHQ GZMA para la variable estándar de tinción ni para la variable combinada de GZMA IHQ\_CAT5. Se observa relación significativa entre el subestadio M (M0 vs M1, o lo que sería lo mismo Estadio IV frente a resto de Estadios) y los niveles de IHQ en tejido sano para la variable estándar de tinción de GZMA ( $p=0,028$ ) y dicha relación se mantiene significativa para la variable agrupada GZMA IHQ\_CAT5, siendo el 83,1% de los pacientes M0 positivos para GZMA (int, pos o pos++) frente al 100% de los pacientes M1 ( $p=0,030$ ).

Este hecho apoya la teoría de que la acción de GZMA en el CCR puede explicarse a través de mecanismos relacionados con la EMT en los momentos más iniciales del desarrollo del CCR (mutaciones de beta-catenina y desarrollo de focos de criptas aberrantes), paso inicial de la carcinogénesis y presente en todos los estadios tumorales (220). Respecto a los resultados de una expresión significativamente mayor de GZMA en tejido sano en pacientes con estadio IV frente al resto de estadios, faltan datos y evidencia científica para aclarar este hecho, pero como veremos más adelante, a pesar de aparecer dicha relación en el tejido sano y no en el tejido peritumoral, puede tener relación con marcadores pronósticos como la DFS, PFS o OS.

En relación a la invasión linfoide, existe una relación estadísticamente significativa entre invasión linfoide sí/no y la variable estándar de tinción de IHQ GZMA en tejido sano ( $p=0,033$ ) y en tejido peritumoral ( $p=0,031$ ), pero no en tejido tumoral ( $p=0,874$ ). Esta situación la justificamos debido a que la mayoría de células linfoides que expresan GZMA se encuentran en tejido sano y en tejido peritumoral, y tal y como se ha discutido anteriormente, podrían significar la presencia de una inflamación previa a la transformación tumoral. Aunque no se han hecho marcadores específicos (CD16, CD56, CD3, CD8) (164) sugerimos que este infiltrado linfoide son células NK y linfocitos T citotóxicos CD4 o CD8, dado que son las células linfoides que mayoritariamente expresan GZMA(162).

En referencia a la subclasificación de la histología del tumor como adenocarcinoma mucinoso, se observa una relación estadísticamente significativa entre la presencia o no de células positivas a GZMA en el interior del tejido tumoral IHQ\_CAT5 (neg, int+pos+pos++) y la variable tumor mucinoso sí/no, de tal forma que, un 87,8% de los tumores mucinosos presentan categoría neg para IHQ\_CAT5 frente al 69,5% de los tumores no mucinosos ( $p=0,036$ ). Como desarrollaremos más adelante en esta tesis, esto puede tener relación que el hecho de que los tumores subtipo mucinoso se hayan descrito como un factor de mal pronóstico en pacientes con CCR(24).

En términos de expresión de GZMA y **tratamiento** del CCR no se ha encontrado relación estadísticamente significativa entre cualquiera de los tratamientos medico-quirúrgicos recibidos con cualquier tipo de intención (neoadyuvancia/curativa/adyuvancia) y la expresión de GZMA. Esta situación puede hacernos pensar que la evaluación de su expresión en cualquier momento desde el diagnóstico del CCR no está influenciada por el tratamiento que ha recibido ni cambia tras su administración, por lo que existe un gran número de pacientes que se podrían beneficiar del desarrollo de esta técnica en la práctica clínica habitual como marcador pronóstico o diana terapéutica.

La última parte de este trabajo pretende evaluar la relación de la expresión de GZMA con el **pronóstico** de los pacientes con CCR evaluados desde varias vertientes: **DFS, PFS, OS y supervivencia por CCR.**

Desde el punto de vista de expresión de GZMA y en relación con **DFS**, existen diferencias significativas entre las curvas de DFS en función de la tinción de IHQ de GZMA evaluada en el tejido tumoral para la tinción **estándar**( $p=0,043$ ) y para la variable de tinción **IHQ\_CAT5neg** Vs (int+pos+pos++)( $p=0,015$ ; **HR=0,390 (0,180-0,850)**) hecho que a nivel genómico, se había publicado previamente (241). Esta correlación podría ser explicada por el mejor pronóstico en tumores que presentan un alto infiltrado inmune tal y como se ha discutido anteriormente. A pesar de que existen diferencias entre las curvas de DFS evaluadas para los resultados de tinción de IHQ GZMA estándar en tejido peritumoral con un empeoramiento de la DFS para las tinciones positivas de GZMA en este tejido, dichas diferencias no son estadísticamente significativas ( $p=0,544$ ) probablemente por un problema de tamaño muestral, algo que no justifica que pasen desapercibidas por la relevancia que puedan tener en la práctica clínica.

No existen diferencias significativas entre las curvas de **PFS** en función de la tinción de IHQ de GZMA evaluada en el tejido sano, peritumoral y tumoral para la tinción estándar ni para la **IHQ\_CAT5** GZMA (neg Vs (int+pos+pos++)). Se debe tener en cuenta el bajo tamaño muestral para este análisis. En el caso del análisis en tejido sano, pero fundamentalmente en tejido peritumoral, como ocurría en caso de la DFS, existe un empeoramiento de la PFS para la tinción estándar de GZMA en caso de expresión positiva en tejido peritumoral, pero, de igual forma, las diferencias no son estadísticamente significativas ( $p=0,421$ ).

Se ha realizado un estudio de OS, supervivencia por CCR y supervivencia por otras causas con cortes de temporalidad en 1 año, 5 años, y total del seguimiento. En el total de seguimiento han fallecido 107 (46,9%) pacientes, de los cuales 55(24,1%) ha sido una muerte secundaria al CCR y el 52 (22,8%) debido a otras causas.

En el estudio de la **OS** para el seguimiento total del estudio, en relación a la tinción de IHQ GZMA por variables combinadas existen diferencias significativas para la tinción **IHQ\_CAT5 (neg Vs (int+pos+pos++))** de tal forma que los pacientes que expresaron GZMA en tejido peritumoral tuvieron un mayor riesgo de mortalidad respecto a los que tuvieron una expresión negativa: GZMA (pos++/pos+/int) vs GZMA (neg) en tejido peritumoral: **p=0,022; HR: 3,530 (IC95%: 1,120-11,200)**. En el seguimiento a 5 años, evaluada la variable IHQ\_CAT5 para la OS, se observa exactamente la misma tendencia que para el seguimiento total del estudio, pero en este caso los datos no alcanzan la significación estadística (p=0,131) probablemente debido a que, en el seguimiento a 5 años, el número de fallecidos es menor y no se alcanza la N suficiente para demostrar estos hechos.

En el estudio de la **supervivencia por CCR** para el seguimiento total, en relación a IHQ\_CAT5 GZMA (neg Vs (int, pos, pos++)) en tejido peritumoral, no existen diferencias estadísticamente significativas en función de dicha tinción (p=0,064), si bien en la supervivencia por CCR a seguimiento total y a 5 años existe un empeoramiento objetivo, aunque no significativo, en los pacientes con expresión positiva de GZMA en tejido peritumoral (IHQ\_CAT 5 seguimiento total p=0,064, IHQ\_CAT 5 para 5 años seguimiento p=0,133 ). En el seguimiento a 5 años, observamos, a pesar de no ser igualmente significativo en el análisis, que una expresión positiva de GZMA en tejido tumoral se relaciona con una mejor supervivencia por CCR (IHQ\_Estándar, p=0,333), hechos corroborados previamente en estudios genéticos de expresión de GZMA en tejido tumoral de CCR en humanos (241). En el seguimiento a 5 años, momento en el que en la mayoría de ocasiones en caso de mortalidad por CCR, ya se ha producido, las curvas de supervivencia por causas NO CCR, no muestran los patrones descritos para CCR, de tal forma que, siendo igualmente no significativas, los tumores con expresión positiva de GZMA en tejido peritumoral a los 5 años no muestran peores curvas de supervivencia por otras causas NO CCR, y los tumores con expresión postiva en tejido tumoral no presentan mejor supervivencia por otras causas NO CCR, apoyando la hipótesis de que a pesar de que aproximadamente el 50% de las muertes totales a lo largo de todo el seguimiento son por CCR y el 50% por otras causas, los cambios en

la supervivencia evidenciados en las curvas de supervivencia global y a 5 años en relación a la tinción de IHQ GZMA están influenciados por el fallecimiento por CCR y no por otras causas.

Los tres parámetros analizados tienen relación entre sí ya que el grueso de pacientes que fallecen por CCR, provienen de una progresión tumoral no controlada desde una recidiva previa de la enfermedad.

Evaluated in conjunto los resultados y teniendo en cuenta la literatura previa, en nuestro estudio la mayoría de linfocitos NK y CD8+ que expresan GZMA se encuentran en el tejido sano y principalmente en el tejido peritumoral. Los linfocitos presentes en el tejido tumoral que expresan GZMA provienen del tejido peritumoral y son aquellos que han logrado superar la barrera físico-química del tumor. La expresión de GZMA en los diferentes tejidos (sano/peritumoral/tumoral) no se relaciona ni con la localización ni con el estadio (I-IV) ni con el tratamiento recibido en los pacientes con CCR hecho que apoya la idea de que la acción dañina de esta proteína en la génesis del CCR está presente desde el inicio de la carcinogénesis y que los tratamientos que se administran en la práctica habitual no tienen una relación estadística con su expresión tisular. De manera significativa o, mostrando una clara tendencia, la expresión de GZMA en tejido tumoral se relaciona con una mejor supervivencia por CCR y DFS. Los tumores mucinosos, clásicamente catalogados como con un peor pronóstico, presentan una expresión significativamente menor de GZMA en tejido tumoral. De manera significativa o, mostrando una clara tendencia, la expresión de GZMA en el tejido peritumoral se relaciona con una peor OS y supervivencia por CCR en el seguimiento total y a los 5 años, así como una peor DFS y PFS.

Se han realizado estudios preliminares en roedores en los que se han desarrollado inhibidores enzimáticos específicos de GZMA en el seno de CCR(220) con éxito clínico y se conoce que la inhibición en este contexto no aumentaría el riesgo de tumores u otras infecciones como ocurre en el caso de GZMB, además de que la inhibición de esta molécula es un proceso mucho más específico y probablemente con menos efectos secundarios que la QT convencional(167,211,217,227), por lo que consideramos que esta vía de estudio debe proseguirse en el tiempo para valorar esta proteína como una posible diana terapéutica en el CCR.

### **Fortalezas.**

Se trata del primer estudio que divide la expresión proteica de GZMA en tres zonas diferentes en tejido histológico (sano/peritumoral/tumoral) en pacientes con CCR. Estas zonas a estudio no habían sido valoradas previamente de manera conjunta para esta enfermedad ni en el mismo grupo de pacientes.

Se trata del primer estudio en pacientes con CCR que evalúa la expresión proteica de GZMA en muestras de CCR y cómo se comportan las diversas zonas a estudio entre sí, así como la relación entre la expresión proteica de GZMA en las diversas zonas a estudio con el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de los pacientes con CCR.

Se ha llevado a cabo la optimización y puesta a punto de una técnica de IHQ no comercializada y para la que se disponía de escasos datos en su interpretación en muestras de pacientes con CCR. La dificultad la entrañaba tanto la valoración del grado de tinción para considerar la expresión como positiva, como la valoración del número medio de células positivas por zona de estudio, así como la gradación de los resultados de la técnica en POS++, POS+ INT, NEG. Esta gradación se ha interpretado por un especialista de aparato digestivo no habituado a este tipo de técnicas moleculares y con un contaje manual de células positivas en un microscopio óptico convencional.

Teniendo en cuenta el tamaño muestral relativamente pequeño, se demuestra en los resultados como la expresión de la IHQ GZMA en este estudio no se relaciona de manera estadísticamente significativa con la localización y estadio TNM (I-IV) de los pacientes con CCR, algo que puede proponerla como diana terapéutica en pacientes en cualquier estadio tumoral y en pacientes con diferentes mutaciones proteicas que en muchas ocasiones dependen de la localización del tumor (MSI, BRAF, KRAS).

Se trata, de la primera vez que se demuestra como la expresión de esta proteína influye en el pronóstico de los pacientes con CCR, principalmente como marcador de mal pronóstico en pacientes que expresan GZMA en tejido peritumoral.

### **Debilidades-limitaciones del estudio.**

Se trata de un estudio retrospectivo, unicéntrico, de pequeño tamaño muestral, con dificultades en la recogida de datos principalmente a nivel de selección de los pacientes por pérdidas importantes de la N esperada respecto a la incidencia de CCR para la población de referencia de nuestro hospital y durante el período de estudio.

Existe una pérdida de datos respecto a los antecedentes familiares de los pacientes a estudio, las pruebas diagnósticas y el tratamiento oncológico recibido, debido a la falta de informatización de los mismos. Así mismo destacamos la multitud de bases de datos que ha sido necesario consultar para recoger toda la información del estudio.

Asimismo, destacamos la falta de estudio de la expresión de múltiples mutaciones que se realizan en la actualidad como es el estudio de IMS y las mutaciones BRAF o KRAS en pacientes con CCR.

A pesar de estar supervisada por un anatomopatólogo experto en patología digestiva la doctoranda ha realizado una catalogación de las células positivas a IHQ GZMA y su gradación de una manera relativamente subjetiva. Pese a todo, el grado de correlación en los resultados de IHQ entre la doctoranda y el anatomopatólogo experto permite que los datos sean interpretados con normalidad.

Debido a que la inmensa mayoría de la población a estudio se ha diagnosticado mediante colonoscopia diagnóstica, no sabemos si la misma población diagnosticada en programas de cribado de CCR se comportaría de igual modo.

Desconocemos el comportamiento de la expresión de esta proteína en lesiones precursoras de CCR tales como adenomas o pólipos serrados.



### **Resumen.**

La GZMA es una proteína relacionada con la inflamación que se expresa en pacientes con CCR con independencia de la localización y estadio TNM (I-IV) de la enfermedad. Su presencia en el tejido peritumoral se relaciona con un peor pronóstico en términos de DFS, PFS, OS y supervivencia por CCR, por lo que debe ampliarse los conocimientos al respecto para plantear esta proteína como un marcado pronóstico y/o una diana terapéutica en este tipo de pacientes. Debido a que la inhibición de esta granzima, en comparación con GZMB, no se ha demostrado que influya en el desarrollo de otras neoplasias o infecciones y que es una diana más específica que la QT convencional, el perfil de seguridad es potencialmente alto (162). Respecto al uso de esta proteína como marcador pronóstico y/o diana terapéutica, los posibles pacientes candidatos serían aquellos en estadio II en los que podría ayudar a decidir qué pacientes necesitan QT adyuvante o pacientes en estadio III para ayudar a decidir qué pacientes precisan QT de ciclo largo. En los pacientes en estadios metastásicos se podría valorar como tratamiento coadyuvante en función del perfil mutacional global presente.

### **Líneas futuras.**

Las guías de actuación futuras deberían pasar por varios puntos: Se debería ampliar el tamaño muestral del estudio para poder disponer de una representación apropiada de todos los estadios tumorales y beneficiarse del actual uso de técnicas diagnósticas y marcadores, principalmente histológicos, que pueden mejorar la calidad de los resultados obtenidos. De igual manera, se debería realizar un estudio similar en población de cribado de CCR para comprobar si esta población se comporta de igual forma, así como estudiar la presencia de este marcador en lesiones precursoras de CCR como adenomas o pólipos serrados. Con todo ello, tras mejorar el conocimiento de la expresión proteica en este tipo de pacientes, se debería conocer la seguridad de la administración de un inhibidor de GZMA que ya está desarrollado y utilizado a nivel experimental en animales(220) , para con posterioridad, plantear un ensayo clínico en humanos y perfilar el subgrupo de pacientes que se beneficiaría del uso de esta proteína como marcador pronóstico o como diana terapéutica en la práctica clínica real.

## 7. CONCLUSIONES

- Se ha desarrollado y validado un anticuerpo monoclonal de ratón con aplicación para la detección de GZMA humana en muestras de tejido mediante IHQ.
- La mayoría de células de morfología linfoide que expresan GZMA se encuentran en el tejido sano y principalmente en el tejido peritumoral.
- La expresión de GZMA en los diferentes tejidos (sano/peritumoral/tumoral) no se relaciona ni con la localización ni con el estadio TNM (I-IV) ni con el tratamiento recibido en los pacientes con CCR.
- La expresión de GZMA en tejido tumoral se relaciona con una **mejor** supervivencia por CCR y DFS.
- La expresión de GZMA en el tejido peritumoral se relaciona con una **peor** OS y supervivencia por CCR en el seguimiento total y a los 5 años, así como una **peor** DFS y PFS.
- La expresión de GZMA debe ampliarse como línea de estudio en los pacientes con CCR ya que podría tratarse de un potencial marcador pronóstico y/o diana terapéutica en este tipo de cáncer.

## 8. ANEXOS

### Anexo I: Instrucciones para cumplimentar la recogida de datos: EPICOLON III

#### Menú principal

##### 1. Pacientes

##### -Nuevo paciente

-**Lista de pacientes:** se puede seleccionar un paciente que ya haya sido registrado y completar o modificar los datos introducidos

\*\*Al introducir un nuevo individuo el sistema le asignará un código identificativo pero no constarán sus datos personales (nombre, apellido, número de historia clínica) para respetar la ley de protección de datos. Se recomienda que cada investigador copie este código identificativo en una base de datos paralela donde sí conste el nombre del paciente y/o NHC de su centro para su posterior identificación y modificación de sus datos si es necesario

**\*Tras la introducción de un nuevo paciente o la modificación de los datos de alguno de la lista se accederá directamente al apartado "menú del paciente"**

##### 2. Búsqueda de caso

Se podrá seleccionar las siguientes opciones para buscar un paciente de la lista:

- a) Hospital
- b) Nº de identificación
- c) Fecha de inclusión

##### 3. Estadísticas e informes

##### 4. Documentos

##### 5. Editar mis datos: en este apartado se podrán modificar los datos de la persona que accede a la aplicación: nombre, apellidos, "login" del usuario, contraseña, email y teléfono

##### 6. Desconectar: para salir de la aplicación

## Menú del paciente

1. **Datos demográficos**
2. **Datos clínicos**
  - a) **Muestras biológicas disponibles**
  - b) **Variables de diagnóstico final**
  - c) **Estudios moleculares**
3. **Grupo de riesgo:**  
Definido en la opción b del apartado anterior (variables de diagnóstico final) en la sección de “grupo de riesgo familiar”.
4. **Antecedente personal de CCR**  
Aquí se podrán cumplimentar los datos concernientes al (los) CCR que haya presentado el sujeto

## Menú del paciente

1. **Datos demográficos**
2. Datos clínicos
3. Grupo de riesgo
4. Antecedente personal de CCR
5. Colonoscopias

### 1. Datos demográficos(variable común de todos los pacientes)

- Hospital: seleccionar el Hospital de procedencia de los datos del paciente en el desplegable de hospitales
- ID del paciente: el sistema asignará de forma automática tras la introducción del código asignado
- Fecha de nacimiento
- Edad: el sistema la calculará automáticamente (mayores de 18 años)
- Fecha inclusión (formato fecha)  
**Fecha de la primera visita en la unidad de alto riesgo de cáncer colorrectal o en su defecto, de la primera colonoscopia o colonoscopia índice**

- Sexo (masculino / femenino)
- Estado vital del paciente:
  - a) Vivo
  - b) Fallecido → en caso de seleccionar esta opción cumplimentar las siguientes ventanas:
    - fecha de fallecimiento
    - causa de fallecimiento (texto libre)
  - c) Desconocido
- País de nacimiento: seleccionar un país en el desplegable
- Localidad de nacimiento: texto libre (opcional)
- Peso (kilogramos)
- Altura (centímetros)
- IMC (Kg/m<sup>2</sup>): lo calculará el sistema de forma automática
- Fumador :
  - a) sí
    - tipo de fumador: Activo/ex fumador
    - en ambos casos, siempre que se disponga de la información, cumplimentar:
      - Número de paquetes/día
      - Número de años fumando
  - b) no

#### Menú del paciente

1. Datos demográficos
2. **Datos clínicos**
3. Grupo de riesgo
4. Antecedente personal de CCR
5. Colonoscopias

## 2. Datos clínicos:

### a) Muestras biológicas disponibles(variable común de todos los pacientes)

#### Fecha de extracción:

- ADN (si/no)
- Plasma (si/no)
- Suero (si/no)
- Tubo sangre proteínas (si/no)

- Kit SOH(si/no) (SOLO CLICKAR SI SE GUARDAN LOS KITS)
- Heces frescas(si/no)

b) Variables de diagnóstico final(variable común de todos los pacientes)

- **Lesión personal (definición: la lesión más relevante):** desplegable de diagnósticos
  1. Colonoscopia normal
  2. Adenoma bajo riesgo
  3. Adenoma de alto riesgo
  4. Pólipos serrados
  5. Adenomas y pólipos serrados
  6. Cáncer colorrectal
  7. Poliposis adenomatosa
  8. Poliposis serrada → en caso afirmativo marcar que criterio(s) definitorio(s) de la OMS cumple para SPS

\*Las definiciones de cada uno de los grupos se pueden consultar en el icono de información que aparece debajo del texto de “lesión personal” 

\*Se adjuntan las mismas definiciones y aclaraciones en el **apéndice 1**

➤ **Grupo de riesgo familiar (definición: diagnóstico de la familia):** desplegable de diagnósticos  
Este grupo de riesgo es el que quedará definido en el siguiente apartado del menú del paciente (“grupo de riesgo”)

- 1- Riesgo medio
- 2- CCR familiar
- 3- Síndrome de Lynch
- 4- Sospecha de síndrome de Lynch
- 5- Probable síndrome de Lynch
- 6- Cáncer colorrectal hereditario tipo X
- 7- Poliposis adenomatosa familiar causada por mutación en APC
- 8- Poliposis adenomatosa familiar causada por mutación en MUTYH
- 9- Poliposis adenomatosa familiar sin mutación identificada en APC ni MUTYH
- 10- Poliposis serrada

\*Las definiciones de cada uno de los grupos se pueden consultar en el icono “i” que aparece debajo del texto de “lesión familiar” 

\*Se adjuntan las mismas definiciones y aclaraciones en el **apéndice 1**

**\*\*Consideraciones:**

- En el caso de que el individuo proceda del cribado y en la colonoscopia sea diagnosticado de Poliposis Serrada, el grupo familiar es también “Poliposis Serrada”
- Lo mismo ocurrirá en los casos en los que en la colonoscopia del caso índice se encuentre una poliposis (>20 adenomas) catalogando el grupo en función del

resultado del estudio genético: PAF asociada a APC o MYH, o PAF sin mutación en alguno de estos genes (opciones 7,8, y 9)

c) Estudios moleculares(variable común de todos los pacientes)

➤ **Inmunohistoquímica** para MLH1/MSH2/MSH6/PMS2 : si/no

En caso de que se haya realizado estudio de inmunohistoquímica se puede añadir cada registro haciendo clic sobre el texto “nuevo análisis de inmunohistoquímica MLH1/MSH2/MSH6/PMS2”, en el que se abrirá una ventana con las siguientes opciones:



a. Tipo de tejido (CCR/adenoma/Cáncer de endometrio/estómago/otro tumor)

- b. MLH1
- c. MSH2
- d. MSH6,
- e. PMS2

En cada una de ellas aparecerá un desplegable con la variable “resultado” (no realizado, pérdida de expresión, expresión normal, no valorable)

La información introducida quedará registrada en el cuadro. Se podrán añadir varios registros en caso de que se haya realizado análisis de IHQ en distintos tejidos.

Para modificar un registro introducido debe seleccionarse dicho registro y hacer clic sobre el icono “modificar”

(  ). Para borrarlo deberá hacerse clic sobre el icono “borrar”(  )



➤ **Inestabilidad de microsatélites**:si/no

En caso de que se haya realizado el análisis de inestabilidad de microsatélites se puede añadir cada registro haciendo clic sobre el texto “nuevo análisis de inestabilidad de microsatélites”, en el que se abrirá una ventana con las siguientes opciones:

- a. Tipo de tejido (CCR/adenoma/C endometrio/estómago/otro tumor)
- b. Método usado (panel mononucleótidos/panel de Bethesda)
- c. Resultado
  - MSI-H: Inestabilidad de microsatélites alta
  - MSI-L: Inestabilidad de microsatélites baja
  - MSS: tejidos estables
  - no valorable

La información introducida quedará registrada en el cuadro. Se podrán añadir varios registros en caso de que se haya realizado análisis de IMS en distintos tejidos.

Para modificar un registro introducido debe seleccionarse dicho registro y hacer clic sobre el icono “modificar”

(  ). Para borrarlo deberá hacerse clic sobre el icono “borrar”(  )

➤ **Análisis de mutación somática en BRAF**: si/no

- a. Método usado (TaqMan/secuenciación/pirosecuenciación)
- b. Resultado:
  - Wild type (WT)
  - Mutado (mut)
  - no valorable

➤ **Análisis de metilación:** si/no

En caso de que se haya realizado el análisis metilación se puede añadir cada registro haciendo clic sobre el texto “nuevo análisis de metilación”, en el que se abrirá una ventana con las siguientes opciones:

- a. Tipo de tejido (CCR/Adenoma/Cáncer de endometrio/Estómago/Otro tumor (especificar)/ “tejido normal”)
- b. Método usado (Pirosecuenciación/Methylight/MS-MLPA/Otra)
- c. Resultado (Metilado/No metilado)
- d. En caso de técnica cuantitativa, especificar el porcentaje (%) de metilación

La información introducida quedará registrada en el cuadro. Se podrán añadir varios registros en caso de que se haya realizado análisis de IMS en distintos tejidos.

Para modificar un registro introducido debe seleccionarse dicho registro y hacer clic sobre el icono “modificar”

(  ). Para borrarlo deberá hacerse clic sobre el icono “borrar”(  )



➤ **Estudio genético:** si/no

En caso de que se haya realizado el análisis genético se puede añadir cada registro haciendo clic sobre el texto “nuevo estudio genético”, en el que se abrirá una ventana con las siguientes opciones:

- a. Gen analizado (MLH1/MSH2/MSH6/PMS2/APC/MUTYH/Epcam)
- b. Resultado (no evidencia de mutación/mutación patogénica/variante de significado incierto (VSI)/variante de susceptibilidad)
- c. Descripción del cambio (campo libre; especificar cambio en secuencia codificante (c.) y en la proteína (p.)

La información introducida quedará registrada en el cuadro. Se podrán añadir varios registros en caso de que se haya realizado análisis de IMS en distintos tejidos.

Para modificar un registro introducido debe seleccionarse dicho registro y hacer clic sobre el icono “modificar”

(  ). Para borrarlo deberá hacerse clic sobre el icono “borrar”(  )



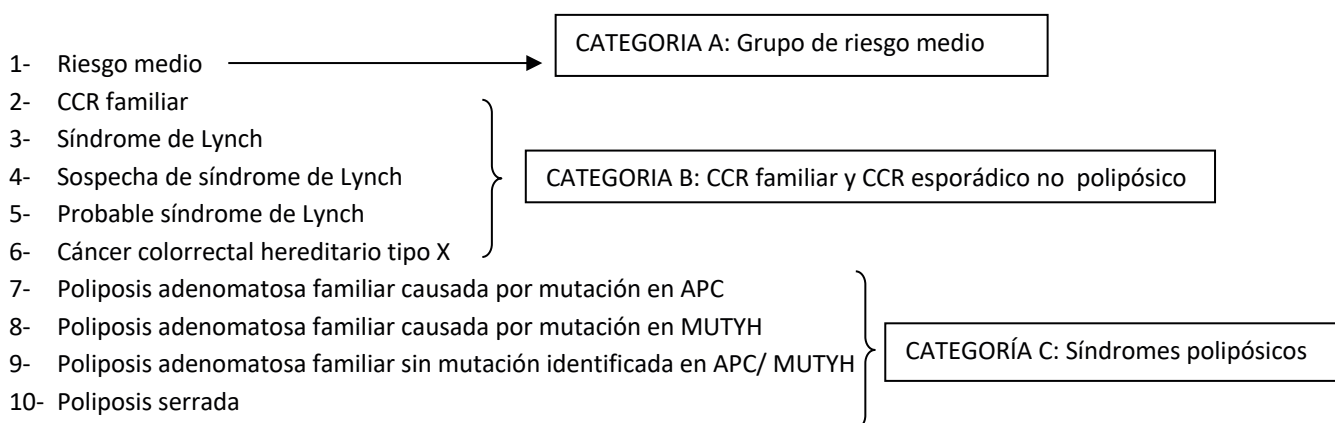
## Menú del paciente

1. Datos demográficos
2. Datos clínicos
- 3. Grupo de riesgo**
4. Antecedente personal de CCR
5. Colonoscopias

### 3. Grupo de riesgo:

Existirán 3 categorías diferentes en función del “Grupo de riesgo familiar” que se haya definido en la sección 2 del menú del paciente:

*Datos clínicos > variables de diagnóstico final >> grupo de riesgo familiar*



### Categoría A: Grupo de riesgo medio

➤ Antecedentes familiares CCR: Si /No

**\*Incluimos dentro de la definición de “grupo de riesgo medio” a aquellos individuos sin antecedentes familiares de CCR o un familiar de primer grado (FPG) con CCR >60 años o cualquier familiar de segundo grado**

En caso de que sí existan antecedentes familiares se podrán añadir cada uno de los distintos registros haciendo clic en “nuevo antecedentes familiares de CCR” y se cumplimentará el siguiente cuadro con las opciones:

- Parentesco → en el caso de los FSG se abrirá una opción con “rama” (materna/paterna)
- Sexo (hombre/mujer)
- Edad al diagnóstico de CCR- numérica
- Estado (vivo/fallecido)-en caso de que el familiar haya fallecido aparecerá la opción de: “edad de fallecimiento”


Los registros introducidos se podrán modificar  o borrar  haciendo clic sobre los iconos correspondientes

- Motivo de realización de la colonoscopia
  - Síntomas
  - Cribado : prueba de sangre oculta en heces positiva
  - Cribado: colonoscopia directa

### **Categoría B: CCR familiar y CCR esporádico no polipósico**



La base de datos debería permitir adjuntar un árbol genealógico escaneado en formato pdf/imagen.

- Identificador de la familia

Se asignará un identificador por familia  
Se podrá añadir archivo adjunto con el árbol genealógico
- Criterios clínicos: pueden consultarse los criterios clínicos realizando clic en el icono de ayuda 
  - Cumplimiento criterios de Ámsterdam I: si/no
  - Cumplimiento criterios de Ámsterdam II: si/no
  - Si el individuo ha tenido un CCR: cumplimiento de criterios revisados de Bethesda: si/no. Si la respuesta es sí, es posible clicar uno o más de las siguientes opciones: criterio 1, 2, 3, 4, 5)

#### **(apéndice 2)**

- Antecedentes personales
  - AP de CCR: en caso de que exista antecedente personal de CCR deberá cumplimentarse la información en el apartado correspondiente en el “menú del paciente”
  - AP de otras neoplasias: se podrá introducir el /los antecedentes personales de neoplasias “no CCR” haciendo clic en “nuevo antecedente personal de otras neoplasias” y cumplimentando los datos del cuadro accesorio en el que especifican:
    - Tipo de neoplasia
    - Edad al diagnóstico (numérico, texto libre)
    - Tratamiento (texto libre)

Se podrán modificar o borrar los registros en los botones correspondientes de modificar  y borrar 

- Antecedentes familiares
  - AF de CCR: Se podrán añadir el/los AF de CCR haciendo clic en “nuevo antecedente familiar de CCR” y cumplimentando los apartados del cuadro (igual que los descritos en la categoría A: grupo de riesgo medio)
  - AF de otras neoplasias: se pueden añadir haciendo clic en “Antecedente familiar de otras neoplasias” y cumplimentando los apartados del cuadro accesorio:
    - Tipo de neoplasia (seleccionar en el desplegable)
    - parentesco/ (rama)/sexo/edad/estado
- Cribado de otras neoplasias en el Síndrome de Lynch

- ¿realiza cribado de neoplasia ginecológica?--> en el caso de "SI"
  - Edad de inicio
  - ¿Qué prueba de cribado realiza? (posibilidad de marcar varias)
    - Ecografía de gónadas vía vaginal
    - Ecografía de gónadas vía abdominal
    - Biopsia endometrial
    - CA125
  - ¿Con qué periodicidad realiza las exploraciones?→ meses
  - ¿Se ha realizado cirugía ginecológica?--> en caso afirmativo
    - Tipo de intervención :histerectomía/histerectomía + doble anexectomía/otra (posibilidad de especificar el tipo de cirugía en un campo libre)
    - Edad de la intervención:
    - Motivo (profiláctica/neoplasia ginecológica)
  
- ¿realiza cribado de neoplasia gástrica?--> en caso afirmativo
  - Edad inicio
  - Tipo de exploración: texto libre
  - Intervalo entre exploraciones (meses): libre
  - Erradicación de H.pylori (si/no)
  - Lesión encontrada (la más significativa): normal/metaplasia completa/metaplasia incompleta/metaplasia con displasia/adenoma/cáncer/ otra (especificar))
  
- ¿realiza cribado de neoplasias de vías urinarias?--> en caso afirmativo
  - Edad inicio
  - Tipo de exploración: texto libre
  - Intervalo entre exploraciones (meses): libre
  
- ¿realiza cribado de otras neoplasias\*\*?--> en caso afirmativo
  - Edad inicio
  - Tipo de exploración: texto libre
  - Intervalo entre exploraciones (meses): libre

**\*\* Consideraciones: Si son más de un tipo puede especificarse cada modalidad de exploración e intervalo de seguimiento en el "texto libre"**

### **Categoría C: Síndromes polipósicos**

- Identificador de la familia
  - Se asignará un identificador por familia
  - Se podrá añadir archivo adjunto con el árbol genealógico
- Manejo de la poliposis
  - a) Endoscópico
  - b) Quirúrgico: en caso de respuesta afirmativa se abrirá el siguiente formulario:
    - Tipo de cirugía:
      - \*Resección anterior baja
      - \*Resección anterior alta
      - \*Sigmoidectomía

- \*Hemicolectomía izquierda
- \*Transversectomía
- \*Hemicolectomía derecha
- \*Hemicolectomía derecha ampliada
- \*Colectomía total
- \*Proctocolectomía total
- \*TEM
- \*Otro >> se abrirá un cuadro para especificar en un espacio libre el tipo de cirugía

-Hallazgo de CCR invasivo en la pieza quirúrgica: marcar si/no

**\*Definición de CCR invasivo: sobrepasa la mucosa**

-Número total de pólipos en la pieza quirúrgica: el número total de pólipos visualizados en la pieza quirúrgica. En caso de que no se nombre el número total este número será la suma de los descritos con anatomía patológica. En el caso de que se describan como “varios” o “múltiples” dejar este espacio en blanco

-¿Existen pólipos serrados? Si/No (sólo se tendrán en cuenta si se dispone de anatomía patológica)


- Los espacios específicos para registrar los pólipos serrados en la pieza quirúrgica son iguales que los que se describirán posteriormente en la información de las colonoscopias

-¿Existen adenomas? Si/No (sólo se tendrán en cuenta si se dispone de anatomía patológica)

- Los espacios específicos para registrar los adenomas en la pieza quirúrgica son iguales que los que se describirán posteriormente en la información de las colonoscopias


➤ Antecedentes personales de neoplasia

- AP de CCR: en caso de que exista antecedente personal de CCR deberá cumplimentarse la información en el apartado correspondiente en el “menú del paciente”
- AP de otras neoplasias: se podrá introducir el /los antecedentes personales de neoplasias “no CCR” haciendo clic en “nuevo antecedente personal de otras neoplasias” y cumplimentando los datos del cuadro accesorio en el que especifican:
  - Tipo de neoplasia
  - Edad al diagnóstico (numérico, texto libre)
  - Tratamiento (texto libre)

Se podrán modificar o borrar los registros en los botones correspondientes de modificar 

y borrar 

- AP de tumores desmoides
  - Número de desmoides....
  - Localización: intrabdominales/extrabdominales/ambos
  - Tratamiento : observación/AINE/Cirugía/Quimioterapia/Hormonoterapia (posibilidad de seleccionar más de uno)
- AP de afectación duodenal
  - Edad al diagnóstico....(años)
  - Localización: bulbo/primer porción/segunda porción/papila (posibilidad de marcar más de una localización)

- Número de adenomas...
- Tamaño del más grande... (mm)
- Adenoma(s) vellosos si/no
- Clasificación de Spigelman (**apéndice 3**): seleccionar estadio: I,II,III o IV  
Para consultar la clasificación de Spigelman se puede consultar haciendo clic en el icono de ayuda (  )
- Tratamiento: seleccionar entre endoscópico o quirúrgico.  
En caso de tratamiento quirúrgico → especificar el tipo de cirugía en el espacio libre

➤ Quimioprofilaxis: si/no

En caso afirmativo hacer clic en “nuevo quimioprofilaxis” y cumplimentar los apartados siguientes:

- Fecha de inicio
- ¿Continúa con el tratamiento?
  - Sí
  - No >> fecha de finalización
  - No disponible
- Fármaco
  - Sulindac/ Celecoxib/AAS
- Dosis:
  - 200mg/12h o 400mg/12h o 200mg/24h o 400mg/24h
- Indicación
  - Prevención de recurrencia de pólipos colorrectales
  - Prevención de recurrencia de pólipos gastroduodenales
  - Prevención primaria de pólipos colorrectales
  - Prevención primaria de pólipos gastroduodenales
  - Tratamiento previo a resección colorrectal
  - Tratamiento previo a resección gastroduodenal
  - Tratamiento alternativo a resección colorrectal
  - Tratamiento alternativo a resección colorrectal
  - Tratamiento tumor desmoide
  - Otro (espacio libre para especificar)

➤ Antecedentes familiares

- AF de CCR: Se podrán añadir el/los AF de CCR haciendo clic en “nuevo antecedente familiar de CCR” y cumplimentando los apartados del cuadro (igual que los descritos en las categorías A y B)
- AF de otras neoplasias: se pueden añadir haciendo clic en “Antecedente familiar de otras neoplasias” y cumplimentando los apartados del cuadro accesorio:
  - Tipo de neoplasia (seleccionar en el desplegable)
  - parentesco/ (rama)/sexo/edad/estado
- AF de manifestaciones extracólicas: se pueden añadir haciendo clic en “Antecedente familiar de manifestaciones extracólicas” y cumplimentando los apartados del cuadro accesorio:
  - Tipo de manifestación extracólica: tumor desmoide, adenomas duodenales, osteomas, otro (con espacio para especificar).
  - parentesco/ (rama)/sexo/edad/estado ((edad de fallecimiento)
- AF de síndrome de poliposis serrada: añadir cada familiar haciendo clic en “nuevo antecedente familiar de SPS”. Cumplimentar los datos de los familiares como sean

descrito en el resto de apartados de AF :  
parentesco/(rama)/sexo/edad/estado/(edad de fallecimiento)

#### Menú del paciente

1. Datos demográficos
2. Datos clínicos
3. Grupo de riesgo
4. **Antecedente personal de CCR**
5. Colonoscopias

#### 4. Antecedente personal de CCR

**NOTA: En esta sección incluir solo tumores infiltrantes (>T1). Para los adenocarcinomas intramucosos o intraepiteliales, rellenar la información en la sección de colonoscopías**

a) Indicación de la colonoscopia diagnóstica

Especificar motivo de petición de la colonoscopia en la que se diagnostica el cáncer:

- Síntomas: anemia, alteración del ritmo deposicional, rectorragias, etc.
- Cribado/vigilancia: pacientes asintomáticos

\*\*\*Consideraciones:

En el caso de que el cáncer invasivo haya sido diagnosticado en la pieza de colectomía, como puede ocurrir en los siguientes supuestos...

- 1- Colectomía indicada por poliposis florida no controlable endoscópicamente
- 2- Colectomía indicada por la detección de un CCR y se diagnostique otro CCR

sincrónico en la pieza de quirúrgicas

...la indicación de la "colonoscopia en la que se diagnostica el cáncer "será aquella en la que los hallazgos encontrados indicaron la intervención quirúrgica

b) Fecha de la colonoscopia diagnóstica

Esta fecha debe coincidir con la introducida en el apartado de colonoscopias

Si el CCR es detectado en la pieza de colectomía la fecha debería ser la misma fecha que la de la IQ

c) Edad al diagnóstico... (años)

d) Localización (recto/sigma/descendente/esplénico/transverso/ hepático/ascendente/ciego)

\*\*\*Consideraciones:

-Puede ocurrir que no se conozca la localización en la colonoscopia (normalmente porque no se ha especificado en el informe). En ese caso, la localización será la de la pieza quirúrgica

-En el caso de disponer de diferentes localizaciones en la colonoscopia diagnóstica y en la pieza de colectomía → marcar siempre la que se especifica en la pieza de colectomía

-Podría ocurrir que se reseque un pólipo en la colonoscopia sin que se informe de su localización en el colon (segmento); y que en la AP de este pólipo se informe de la

presencia de CCR invasivo. En este caso la localización es la de la pieza quirúrgica, o, en caso de no encontrarse resto de tejido tumoral en la pieza quirúrgica se intentará deducir la localización en el contexto del informe (ej distancia del margen anal).

- e) Tamaño...(cm): el diámetro mayor medido en la pieza de colectomía o el tamaño del pólipo en el que se detectó ADK invasivo en la colonoscopia diagnóstica en caso de que no quede tejido tumoral en dicha pieza quirúrgica
- f) Histología (adenocarcinoma / neuroendocrino/ escamoso / otros)
- g) Grado de diferenciación (bien/moderado/mal)
- h) Invasión vascular (Sí / No / No especificado)
- i) Infiltración linfoide (Sí / No / No especificado)
- j) Tumor mucinoso (Sí / No / No especificado)
- k) Margen resección (mm)
- l) Estadio T (Tx /T1/ T2 / T3 / T4)
- m) Estadio N (Nx / N0 / N1 / N2 /N3)
- n) Estadio M (Mx /Mo / M1)
- o) Estadio TNM : I,II,III o IV ( **Apéndice 4**)
- p) Tratamiento (No / endoscópico / quirúrgico)
- q) Tipo de IQ (resección anterior alta/ resección anterior baja / sigmoidectomía / hemicolectomía izquierda / transversectomía / hemicolectomía derecha / hemicolectomía derecha ampliada / colectomía total / proctocolectomía total / TEM/otra)
- r) Quimioterapia (No / preoperatoria / postoperatoria /pre-postoperatoria)
- s) Radioterapia (No / preoperatoria /postoperatoria)

#### Menú del paciente

1. Datos demográficos
2. Datos clínicos
3. Grupo de riesgo
4. Antecedente personal de CCR
5. **Colonoscopias**

## 5. Colonoscopias

### \*\*\*Consideraciones:

- Cada colonoscopia se añadirá como un nuevo registro.
- En caso de que se necesiten varias colonoscopias para la resección de múltiples pólipos → agrupar los datos en un mismo registro.

- En el caso de que exista una colonoscopia con preparación inadecuada y/o una exploración incompleta: tener en cuenta los datos de la colonoscopia correctamente adecuada/completa posterior a la misma o agrupar los datos de ambas exploraciones en un solo registro.
- En estos casos en los que se agrupen varias colonoscopias la fecha que se registre será la de la primera colonoscopia de la tanda

Ejemplo: sujeto que en enero del 2010 se realiza una colonoscopia de cribado por TSOF+ en la que se encuentran 8 pólipos en recto de entre 3-7mm. Se resecan 2 de ellos (AP: Pólipos serrados tipo hiperplásico, sin displasia). Se explora hasta unión rectosigmoidea por mala preparación. Se programa nueva colonoscopia en marzo del 2010, esta vez bien preparada, en la que se detectan 15 pólipos en todo el colon: 5 planos en colon derecho, 4 sesiles en colon descendente y 6 pólipos en recto.

Se resecan los 2 de colon derecho y todos los de colon izquierdo incluyendo el recto y se programa una nueva sesión para completar polipectomía. En junio del 2010 se lleva a cabo nueva colonoscopia en la que se resecan los 3 pólipos restantes en colon derecho (adenomas serrados sesiles).

Estas 3 colonoscopias (enero, marzo y mayo del 2010) se pueden agrupar como un mismo procedimiento registrándolo con la fecha de la primera exploración.

En el caso de SPS se consideraría resección completa cuando se hayan resecado todos los pólipos de tamaño >3mm.

- Fecha colonoscopia: dd/mm/aaaa (ver texto previo)
- Indicación: síntomas/cribado/vigilancia  
 Síntomas: cambio del ritmo deposicional, pérdida de peso, rectorragia, anemia, etc  
 Cribado: colonoscopia solicitada en individuo asintomático para screening de CCR, bien como prueba directa o tras un TSOF+  
 Vigilancia: colonoscopia de control tras otra prueba previa.  
**\*\*En el caso de que sea una colonoscopia sucesiva por exploración anterior mal preparada la indicación sería la de la anterior**
- Modalidad: colonoscopia/ colonoTC
- Tipo de colonoscopia: Convencional/alta definición
- Colonoscopia completa (definición: hasta fondo cecal): Sí / No
- Colonoscopia bien preparada: Sí / No
  - Si es posible utilizar la escala de Boston para limpieza del colon  
 Si algún segmento <1: se considera mal preparada  
 Si la suma de puntuaciones de todos los segmentos es <6: se considera mal preparada
  - Si en documento de endoscopia describe: preparación inadecuada, subóptima, mala o regular → se considera NO bien preparada
  - Si la preparación se describe como buena, adecuada o excelente → se considerará SI bien preparada

**\*\*\*Consideraciones:** en los casos en los que se “agrupen” distintas colonoscopías en una misma fecha porque alguna de ellas estaba mal preparada y/o incompleta y exista una exploración inmediatamente posterior adecuadamente preparada y/o completase tendrá en cuenta éstas últimas para responder a las preguntas **e** y **f**

- Cromoendoscopia
  - Tipo: no/ Indigo carmín/ NBI/FICE/ I-Scan/otro colorante (posibilidad de marcar más de uno)
  - Extensión: pancromoendoscopia/cromoendoscopia dirigida




h. Resultado colonoscopia

a) Normal

- Patología no neoplásica
- Diverticulosis
- Angiodisplasia
- EII
- Pólipos hamartomatosos
- Pólipos inflamatorios
- Otro → especificar

b) Pólipos

- ✓ **Número total de pólipos:** los “visualizados” en la colonoscopia, se hayan resecao o no
- ✓ **Resección completa** si/no

 En caso de poliposis serrada se considerará resección completa cuando se hayan resecao todos los pólipos >3mm

En caso afirmativo aparece la pregunta:

- ✓ **Número total de pólipos con AP (recuperados):** el número de pólipos de los que se dispone de anatomía patológica

- ✓ **¿Existen pólipos serrados?**

**Definición: pólipos hiperplásicos (PH), pólipo/adenoma serrados sésil (ASS), pólipo/adenoma serrado tradicional (AST)** (si/no): \_\_\_\_ Si la respuesta es sí:

-Número total de pólipos serrados (con AP)

-Tamaño del mayor (mm):

-Tamaño del menor (mm):

-¿Pólipos serrados en recto-sigma)?:

- Número de serrados en recto-sigma: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma de morfología plana (**definición: clasificación de Paris II**): \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma con DBG: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma con DAG: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma con histología de ASS: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma con histología de PH: \_\_\_\_
- Número de serrados en recto-sigma con histología de AST: \_\_\_\_

-¿Pólipos Serrados en colon descendente? (ángulo esplénico y colon descendente):

- Número de serrados en colon descendente: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente de morfología plana (**clasificación de Paris II**): \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente con DBG: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente con DAG: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente con histología de ASS: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente con histología de PH: \_\_\_\_
- Número de serrados en colon descendente con histología de AST: \_\_\_\_

-¿Pólipos serrados proximales (definición: colon transversal/ hepático/ascendente/ciego? :

- Número de serrados proximales: \_\_\_\_

- Número de serrados proximales  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales de morfología plana (definición: clasificación de Paris II): \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales con DBG: \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales con DAG: \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales con histología de ASS: \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales con histología de PH: \_\_\_\_\_
- Número de serrados proximales con histología de AST: \_\_\_\_\_

-¿Pólipos serrados  $\geq 10$  mm?:

- Número de serrados  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_\_
- Número serrados  $\geq 10$  mm en recto-sigma: \_\_\_\_\_
- Número serrados  $\geq 10$  mm en colon descendente: \_\_\_\_\_
- Número serrados  $\geq 10$  mm proximales: \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm de morfología plana (Paris II): \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm con DBG: \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm con DAG: \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm con histología de ASS: \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm con histología de PH: \_\_\_\_\_
- Número de serrados  $\geq 10$  mm con histología de AST: \_\_\_\_\_

-¿Pólipos serrados con DBG?:

- Número de serrados con displasia de bajo grado: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado en recto-sigma: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado en colon descendente: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado proximales: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado de morfología plana (Paris II): \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado con histología de ASS: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado con histología de PH: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de bajo grado con histología de AST: \_\_\_\_\_

-¿Pólipos serrados con displasia de alto grado (DAG)?: **El adenocarcinoma intramucoso e intraepitelial se consideran como displasia de alto grado. Aun así, registrar el número de adenomas con esta histología del total de pólipos con DAG**

- Número de serrados con displasia de alto grado (incluyendo adenocarcinoma intramucoso/intraepitelial): \_\_\_\_\_
- Número de serrados con AP de adenocarcinoma intramucoso/intraepitelial: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado  $\geq 10$  mm: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado en recto-sigma: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado en colon descendente: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado proximales: \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado de morfología plana (Paris II): \_\_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado con histología de ASS: \_\_\_\_\_

- Número de serrados con displasia de alto grado con histología de PH: \_\_\_\_
- Número de serrados con displasia de alto grado con histología de AST: \_\_\_\_

¿Pólipos serrados con morfología plana?: **Plana: clasificación de Paris II**

- Número de serrados de morfología plana: \_\_\_\_
- Número serrados de morfología plana en recto-sigma: \_\_\_\_
- Número serrados de morfología plana en colon descendente: \_\_\_\_
- Número serrados de morfología plana proximales: \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana de morfología plana (Paris II): \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana con DBG: \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana con DAG: \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana con histología de ASS: \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana con histología de PH: \_\_\_\_
- Número de serrados de morfología plana con histología de AST: \_\_\_\_

✓ **¿Existen adenomas?** Si la respuesta es sí:

- Tamaño del mayor (mm):
- Tamaño del menor (mm):
- Número total de adenomas:
- ¿Adenomas avanzados? **tamaño > 10 mm, histología vellosa o DAG**
  - Número total de adenomas avanzados:
  - Número de adenomas avanzados proximales (definición: colon Transverso/hepático/ascendente/ciego)
- ¿Adenomas planos?
  - Número total de adenomas planos:
  - Número de adenomas planos proximales:
- ¿Adenomas > 10 mm?:
  - Número de adenomas > 10 mm:
  - Número de adenomas > 10 mm con displasia de alto grado (DAG)
  - Número de adenomas > 10 mm proximales
  - Número de adenomas > 10 mm con AP vellosa (definición: vellosa o túbulo-vellosa)
  - Número de adenomas > 10 mm con morfología plana

¿Adenomas con displasia de alto grado (DAG)? **El adenocarcinoma intramucoso e intraepitelial se consideran como displasia de alto grado. Aun así, registrar el número de adenomas con esta histología del total de pólipos con DAG**

- Número de adenomas con DAG incluyendo adenocarcinoma intramucoso o intraepitelial:
- Número de adenomas con AP de adenocarcinoma intramucoso o intraepitelial:
- Número de adenomas con DAG > 10 mm:
- Número de adenomas con DAG proximales :
- Número de adenomas con DAG con AP vellosa o TV:
- Número de adenomas con DAG con morfología plana:

- ¿Adenomas con histología vellosa o túbulo-vellosa? **histología vellosa o túbulo-vellosa**

- Número de adenomas con histología vellosa o TV:

- Número de adenomas con histología vellosa o TV>10 mm
- Número de adenomas con histología vellosa o TV proximales
- Número de adenomas con histología vellosa o TV con morfología plana

## APENDICES

### APENDICE 1:

#### Definiciones de lesión personal:

1. **Colonoscopia normal** (definición: sin neoplasia colorrectal)
2. **Adenoma bajo riesgo** (definición: 1-2 adenomas tubulares <1 cm con DBG)
3. **Adenoma alto riesgo** (definición:  $\geq 3$  adenomas, o displasia de alto grado, o componente vellosa, o  $\geq 10$ mm)
4. **Pólipos serrados** (definición: presencia de pólipos serrados en ausencia de adenomas, excepto pólipos hiperplásicos aislados en recto-sigma)
5. **Adenomas y pólipos serrados** (definición: presencia concomitante de adenomas y pólipos serrados, excluyendo los pólipos hiperplásicos en recto-sigma)
6. **Cáncer colorrectal** (definición: cáncer colorrectal en ausencia de poliposis)
7. **Poliposis adenomatosa** (definición: presencia de  $\geq 20$  adenomas acumulados)
8. **Poliposis serrada** (definición según criterios de la OMS 2010)
  1.  $\geq 5$  pólipos serrados proximales al sigma (al menos 2  $\geq 10$ mm) ó
  2.  $\geq 20$  pólipos serrados de cualquier tamaño en todo el colon
  3. Cualquier número de pólipos serrados proximales en un individuo con un FPG con SPS

#### Definiciones de riesgo familiar:

1. **Riesgo medio** (definición: ausencia de antecedentes familiares de CCR o un familiar de primer grado (FPG) con CCR >60 años o cualquier familiar de segundo grado)
2. **CCR familiar** (definición: 1FPG  $\leq 60$  años o  $\geq 2$  FPG)
3. **Síndrome de Lynch** (definición: mutación causante en MLH1/MSH2/MSH6/PMS2/Epcam identificada)
4. **Sospecha de síndrome de Lynch** (definición: sospecha de síndrome de Lynch con estudio mutacional pendiente)
5. **Probable síndrome de Lynch** (definición: sospecha de síndrome de Lynch por presencia de tumor con alteración del sistema de reparación del ADN (excluyendo los casos con deficiencia de MLH1 por metilación) con estudio mutacional negativo o variante de significado incierto / VSI)
6. **Cáncer colorrectal hereditario tipo X** (definición: familia que cumple criterios de Ámsterdam I con sistema de reparación normal en el tumor)
7. **Poliposis adenomatosa familiar causada por mutación en APC**
8. **Poliposis adenomatosa familiar causada por mutación en MUTYH**
9. **Poliposis adenomatosa familiar sin mutación identificada en APC ni MUTYH**
10. **Poliposis serrada** (antecedente familiar de primer grado de individuo con SPS, con igual definición número 8 de "lesión personal")

### APENDICE 2

#### Criterios de Ámsterdam I

1. Tres o más familiares con CCR, uno de ellos familiar de primer grado de los otros dos, y
2. Dos generaciones sucesivas afectas, y
3. Un caso diagnosticado antes de los 50 años, y
4. Exclusión del diagnóstico de poliposis adenomatosa familiar (PAF), y
5. Confirmación de los diagnósticos anatomopatológicos.

#### **Criterios de Ámsterdam II**

1. Tres o más familiares con cáncer asociado al CCHNP (CCR, endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal), uno de ellos familiar de primer grado de los otros dos, y
2. Dos generaciones sucesivas afectas, y
3. Un caso diagnosticado antes de los 50 años, y
4. Exclusión del diagnóstico de poliposis adenomatosa familiar (PAF), y
5. Confirmación de los diagnósticos anatomopatológicos.

#### **Criterios revisados de Bethesda**

1. CCR diagnosticado antes de los 50 años, o
2. CCR sincrónico o metacrónico, u otro tumor asociado al CCHNP (1) , independiente de la edad al diagnóstico, o
3. CCR con histología de IMS (2) diagnosticado antes de los 60 años, o
4. CCR con  $\geq 1$  familiar de primer grado con un tumor asociado al CCHNP1, uno de los tumores diagnosticado antes de los 50 años, o
5. CCR con  $\geq 2$  familiares de primer o segundo grado con un tumor asociado al CCHNP1, independientemente de la edad.

<sup>1</sup>Tumores asociados al CCHNP: CCR, endometrio, estómago, ovario, páncreas, uréter y pelvis renal, vía biliar, cerebral (glioblastoma), adenomas sebáceos y queratoacantomas, e intestino delgado

<sup>2</sup>Presencia de linfocitos infiltrantes de tumor, reacción Crohn-like, diferenciación mucinosa/anillo de sello, o medular

### **APENDICE 3**

#### **Clasificación de Spigelman:**

<b>Variable</b>	<b>Puntuación</b>		
	<b>1 punto</b>	<b>2 puntos</b>	<b>3 puntos</b>
<b>Número de pólipos</b>	1-4	5-20	>20
<b>Tamaño de los pólipos (mm)</b>	1-4	5-10	>10
<b>Histología</b>	Tubular	Túbulo-veloso	Velloso
<b>Displasia</b>	Bajo grado	Bajo grado	Alto grado

Estadío 0, ausencia de pólipos; estadío 1, 4 puntos; estadío II, 5-6 puntos; estadío III, 7-8 puntos; estadío IV, 9-12 puntos.

## APENDICE 4

### Estadificación tumoral

Estadío 0 : T is N0 M0

Estadío I: T1 N0 M0, T2 N0 M0

Estadío II: T3 N0 M0, T4 N0 M0

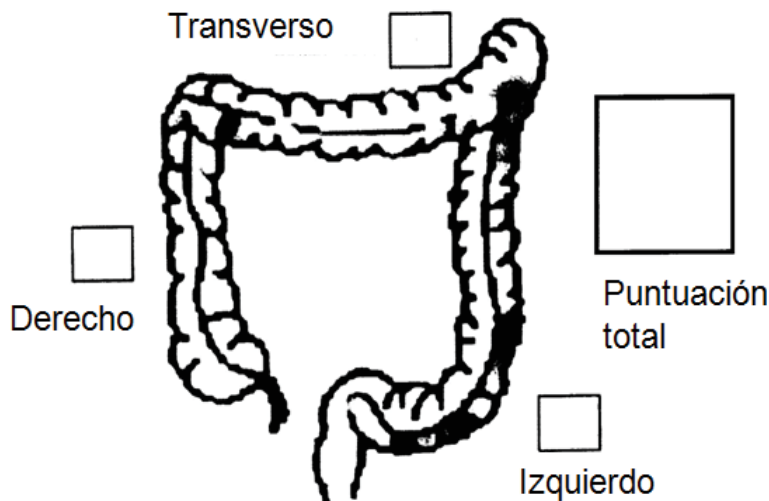
Estadío III: Cualquier T N1 M0, Cualquier T N2 M0

Etapa IV: Cualquier T , Cualquier N, M1

## APENDICE 5

### ARBOL GENEALÓGICO

### OTROS: ESCALA DE LIMPIEZA DEL COLON DE BOSTON



- 0 Segmento de colon cuya mucosa no pudo verse por la existencia de heces sólidas que no se pudieron eliminar
- 1 Porción de mucosa de un segmento colónico que pudo verse, pero otras áreas del segmento colónico no fueron vistas bien debido a suciedad, heces o a líquido opaco.
- 2 Pequeña cantidad de suciedad, pequeños fragmentos de heces y/o líquido opaco, pero la mucosa del segmento colónico pudo verse bien
- 3 Toda la mucosa del segmento colónico pudo verse bien sin suciedad residual, pequeños restos de heces y/o líquido opaco.

Si en algún segmento la puntuación fue de 0 o 1, debería repetirse la colonoscopia

## Anexo II: Dictamen favorable del comité ético de investigación clínica de Aragón (CEICA)



### Informe Dictamen Favorable Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. P114/0124

1 de abril de 2015

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

#### CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 01/04/2015, Acta N° CP05/2015 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

**Título: Nuevas Terapias y Sistemas de Diagnóstico para Colitis Ulcerosa y Cáncer colorectal mediante el estudio de la inflamación inducida por las granzimas.**

**Investigador Principal: Julián Pardo Jimeno. Universidad de Zaragoza**

**Versión protocolo: noviembre/2014**

**Versión hoja de información y consentimiento informado: 1/04/2015**

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE** a la realización del proyecto.

Lo que firmo en Zaragoza, a 01 de abril de 2015

Fdo:

Dña. María González Hinjos  
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Página 1 de 1

Tel. 976 71 48 57 Fax. 976 71 55 54 Correo electrónico: mgonzalezh.crica@aragon.es

**Anexo III:** Consentimiento informado para el uso de datos clínicos y muestras biológicas (Biobanco). Gobierno de Aragón. IACS (Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud).

**DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE**

**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.**

En el HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO LOZANO BLESA, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

**Solicitamos su autorización para incorporar al biobanco del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte de sus procesos asistenciales, se le han realizado o se le van a realizar en un futuro en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica. También pueden solicitarles pruebas complementarias no invasivas a su proceso asistencial de las cuales sería informado. En cualquier caso, estas pruebas adicionales no supondrán riesgo alguno para su salud.**

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta.

**¿Qué es un biobanco?:** *Institución para favorecer la investigación y la salud.*

Un biobanco es un establecimiento que custodia muestras biológicas, facilitando que se utilicen en investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

**Muestras biológicas e información asociada:** *en ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.*

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco (banco de muestras biológicas) de Aragón, en el nodo localizado en el HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO LOZANO BLESA, hasta su extinción. La titularidad del Biobanco del Sistema de Salud de Aragón corresponde al Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética de la Investigación. Dichas muestras y su información



asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre del informe favorable del Comité de Ética de la Investigación competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética de la Investigación correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

**Protección de datos y confidencialidad: las muestras se conservarán codificadas.**

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética de la Investigación, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos. La persona responsable de la custodia es el titular del Biobanco.

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose al Titular del Biobanco, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, con domicilio en el Centro de Investigación Biomédica de Aragón, Avda. San Juan Bosco, nº13, 50009, Zaragoza (tlf: 976715895); o solicitándolo a través del formulario electrónico al que se accede en esta dirección:

<http://www.iacs.aragon.es/awgc/inicio.peticionFormulario.do?file=contacto.jsp>

**Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Sistema de Salud de Aragón es gratuita.**

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.

**Participación voluntaria.** Su negativa **NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura**

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

**Revocación del consentimiento:** si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo, libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Titular del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

**Información sobre los resultados de la investigación:** se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

*Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.*

**Anexo IV:** Relación entre las diferentes zonas de tinción (tejido sano, peritumoral y tumoral) para la tinción estándar de IHQ GZMA y para todas las variables combinadas

Relación entre tejido sano-peritumoral

	S ESTÁNDAR	S CAT	S CAT2	S CAT3	S CAT4	S CAT5
<b>PT ESTÁNDAR</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT CAT</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT CAT2</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT CAT3</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT CAT4</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>PT CAT5</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<b>&lt;0,001</b>

Relación entre tejido sano-tumoral

	<b>S ESTÁNDAR</b>	<b>S CAT</b>	<b>S CAT2</b>	<b>S CAT3</b>	<b>S CAT4</b>	<b>S CAT5</b>
<b>T ESTÁNDAR</b>	0,483	0,673	0,243	0,312	0,340	0,734
<b>T CAT</b>	0,483	0,673	0,243	0,312	0,340	0,734
<b>T CAT2</b>	0,891	0,868	0,737	0,684	0,898	1,000
<b>T CAT3</b>	0,891	0,868	0,737	0,684	0,898	1,000
<b>T CAT4</b>	0,202	0,475	0,099	0,252	0,114	0,648
<b>T CAT5</b>	0,202	0,475	0,099	0,252	0,114	0,648

Relación entre tejido peritumoral-tumoral

	<b>PT ESTÁNDAR</b>	<b>PT CAT</b>	<b>PT CAT2</b>	<b>PT CAT3</b>	<b>PT CAT4</b>	<b>PT CAT5</b>
<b>T ESTÁNDAR</b>	<b>0,003</b>	<b>0,019</b>	<b>0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>0,002</b>	0,115
<b>T CAT</b>	<b>0,003</b>	<b>0,019</b>	<b>0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>0,002</b>	0,115
<b>T CAT2</b>	0,565	0,724	0,464	1,000	0,403	1,000
<b>T CAT3</b>	0,565	0,724	0,464	1,000	0,403	1,000
<b>T CAT4</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,050
<b>T CAT5</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,050

**ANEXO V: TABLAS APARTADO 5.4.1.1: VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DEL CCR**

-----summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos N=99	Pos++ N=24	p. overall	N
Segundo tumor:						0.694	204
No	189 (92.6%)	28 (93.3%)	47 (92.2%)	93 (93.9%)	21 (87.5%)		
Sí	15 (7.35%)	2 (6.67%)	4 (7.84%)	6 (6.06%)	3 (12.5%)		
Indicación colonoscopia:						0.491	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	1 (3.33%)	3 (5.88%)	2 (2.02%)	1 (4.17%)		
Síntomas	197 (96.6%)	29 (96.7%)	48 (94.1%)	97 (98.0%)	23 (95.8%)		
Localización tumor:						0.465	204
Colon	138 (67.6%)	22 (73.3%)	30 (58.8%)	69 (69.7%)	17 (70.8%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	21 (41.2%)	30 (30.3%)	7 (29.2%)		
Localización tumor:						0.097	204
Derecho	71 (34.8%)	7 (23.3%)	15 (29.4%)	36 (36.4%)	13 (54.2%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	15 (50.0%)	15 (29.4%)	33 (33.3%)	4 (16.7%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	21 (41.2%)	30 (30.3%)	7 (29.2%)		
Estadio inicial TNM:						.	196
I	31 (15.8%)	6 (20.7%)	8 (16.3%)	14 (14.9%)	3 (12.5%)		
II	72 (36.7%)	13 (44.8%)	21 (42.9%)	27 (28.7%)	11 (45.8%)		
III	67 (34.2%)	10 (34.5%)	16 (32.7%)	35 (37.2%)	6 (25.0%)		
IV	26 (13.3%)	0 (0.00%)	4 (8.16%)	18 (19.1%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial T:						.	197
T1	4 (2.03%)	1 (3.33%)	1 (2.08%)	1 (1.05%)	1 (4.17%)		
T2	34 (17.3%)	6 (20.0%)	9 (18.8%)	17 (17.9%)	2 (8.33%)		
T3	135 (68.5%)	19 (63.3%)	36 (75.0%)	65 (68.4%)	15 (62.5%)		
T4	24 (12.2%)	4 (13.3%)	2 (4.17%)	12 (12.6%)	6 (25.0%)		
Estadio inicial N:						0.150	194
N0	114 (58.8%)	19 (65.5%)	33 (64.7%)	45 (50.0%)	17 (70.8%)		
N1	52 (26.8%)	9 (31.0%)	11 (21.6%)	29 (32.2%)	3 (12.5%)		
N2	28 (14.4%)	1 (3.45%)	7 (13.7%)	16 (17.8%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial M:						0.028	203
M0	178 (87.7%)	30 (100%)	47 (92.2%)	81 (82.7%)	20 (83.3%)		
M1	25 (12.3%)	0 (0.00%)	4 (7.84%)	17 (17.3%)	4 (16.7%)		

-----summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos + Pos++ N=123	p.overall	N
Segundo tumor:					1.000	204
No	189 (92.6%)	28 (93.3%)	47 (92.2%)	114 (92.7%)		
Sí	15 (7.35%)	2 (6.67%)	4 (7.84%)	9 (7.32%)		
Indicación colonoscopia:					0.478	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	1 (3.33%)	3 (5.88%)	3 (2.44%)		
Síntomas	197 (96.6%)	29 (96.7%)	48 (94.1%)	120 (97.6%)		
Localización tumor:					0.280	204
Colon	138 (67.6%)	22 (73.3%)	30 (58.8%)	86 (69.9%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	21 (41.2%)	37 (30.1%)		
Localización tumor:					0.119	204
Derecho	71 (34.8%)	7 (23.3%)	15 (29.4%)	49 (39.8%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	15 (50.0%)	15 (29.4%)	37 (30.1%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	21 (41.2%)	37 (30.1%)		
Estadio inicial TNM:					0.097	196
I	31 (15.8%)	6 (20.7%)	8 (16.3%)	17 (14.4%)		
II	72 (36.7%)	13 (44.8%)	21 (42.9%)	38 (32.2%)		
III	67 (34.2%)	10 (34.5%)	16 (32.7%)	41 (34.7%)		
IV	26 (13.3%)	0 (0.00%)	4 (8.16%)	22 (18.6%)		
Estadio inicial T:					0.442	197
T1	4 (2.03%)	1 (3.33%)	1 (2.08%)	2 (1.68%)		
T2	34 (17.3%)	6 (20.0%)	9 (18.8%)	19 (16.0%)		
T3	135 (68.5%)	19 (63.3%)	36 (75.0%)	80 (67.2%)		
T4	24 (12.2%)	4 (13.3%)	2 (4.17%)	18 (15.1%)		
Estadio inicial N:					0.285	194
N0	114 (58.8%)	19 (65.5%)	33 (64.7%)	62 (54.4%)		
N1	52 (26.8%)	9 (31.0%)	11 (21.6%)	32 (28.1%)		
N2	28 (14.4%)	1 (3.45%)	7 (13.7%)	20 (17.5%)		
Estadio inicial M:					0.014	203
M0	178 (87.7%)	30 (100%)	47 (92.2%)	101 (82.8%)		
M1	25 (12.3%)	0 (0.00%)	4 (7.84%)	21 (17.2%)		

-----summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos N=99	Pos++ N=24	p.overall	N
Segundo tumor:					0.513	204
No	189 (92.6%)	75 (92.6%)	93 (93.9%)	21 (87.5%)		
Sí	15 (7.35%)	6 (7.41%)	6 (6.06%)	3 (12.5%)		
Indicación colonoscopia:					0.457	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	4 (4.94%)	2 (2.02%)	1 (4.17%)		
Síntomas	197 (96.6%)	77 (95.1%)	97 (98.0%)	23 (95.8%)		
Localización tumor:					0.690	204
Colon	138 (67.6%)	52 (64.2%)	69 (69.7%)	17 (70.8%)		
Recto	66 (32.4%)	29 (35.8%)	30 (30.3%)	7 (29.2%)		
Localización tumor:					0.143	204
Derecho	71 (34.8%)	22 (27.2%)	36 (36.4%)	13 (54.2%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	30 (37.0%)	33 (33.3%)	4 (16.7%)		
Recto	66 (32.4%)	29 (35.8%)	30 (30.3%)	7 (29.2%)		
Estadio inicial TNM:					0.065	196
I	31 (15.8%)	14 (17.9%)	14 (14.9%)	3 (12.5%)		
II	72 (36.7%)	34 (43.6%)	27 (28.7%)	11 (45.8%)		
III	67 (34.2%)	26 (33.3%)	35 (37.2%)	6 (25.0%)		
IV	26 (13.3%)	4 (5.13%)	18 (19.1%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial T:					0.263	197
T1	4 (2.03%)	2 (2.56%)	1 (1.05%)	1 (4.17%)		
T2	34 (17.3%)	15 (19.2%)	17 (17.9%)	2 (8.33%)		
T3	135 (68.5%)	55 (70.5%)	65 (68.4%)	15 (62.5%)		
T4	24 (12.2%)	6 (7.69%)	12 (12.6%)	6 (25.0%)		
Estadio inicial N:					0.122	194
N0	114 (58.8%)	52 (65.0%)	45 (50.0%)	17 (70.8%)		
N1	52 (26.8%)	20 (25.0%)	29 (32.2%)	3 (12.5%)		
N2	28 (14.4%)	8 (10.0%)	16 (17.8%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial M:					0.020	203
M0	178 (87.7%)	77 (95.1%)	81 (82.7%)	20 (83.3%)		
M1	25 (12.3%)	4 (4.94%)	17 (17.3%)	4 (16.7%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos + Pos++ N=123	p.overall	N
Segundo tumor:				1.000	204
No	189 (92.6%)	75 (92.6%)	114 (92.7%)		
Sí	15 (7.35%)	6 (7.41%)	9 (7.32%)		
Indicación colonoscopia:				0.439	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	4 (4.94%)	3 (2.44%)		
Síntomas	197 (96.6%)	77 (95.1%)	120 (97.6%)		
Localización tumor:				0.483	204
Colon	138 (67.6%)	52 (64.2%)	86 (69.9%)		
Recto	66 (32.4%)	29 (35.8%)	37 (30.1%)		
Localización tumor:				0.177	204
Derecho	71 (34.8%)	22 (27.2%)	49 (39.8%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	30 (37.0%)	37 (30.1%)		
Recto	66 (32.4%)	29 (35.8%)	37 (30.1%)		
Estadio inicial TNM:				0.036	196
I	31 (15.8%)	14 (17.9%)	17 (14.4%)		
II	72 (36.7%)	34 (43.6%)	38 (32.2%)		
III	67 (34.2%)	26 (33.3%)	41 (34.7%)		
IV	26 (13.3%)	4 (5.13%)	22 (18.6%)		
Estadio inicial T:				0.440	197
T1	4 (2.03%)	2 (2.56%)	2 (1.68%)		
T2	34 (17.3%)	15 (19.2%)	19 (16.0%)		
T3	135 (68.5%)	55 (70.5%)	80 (67.2%)		
T4	24 (12.2%)	6 (7.69%)	18 (15.1%)		
Estadio inicial N:				0.232	194
N0	114 (58.8%)	52 (65.0%)	62 (54.4%)		
N1	52 (26.8%)	20 (25.0%)	32 (28.1%)		
N2	28 (14.4%)	8 (10.0%)	20 (17.5%)		
Estadio inicial M:				0.017	203
M0	178 (87.7%)	77 (95.1%)	101 (82.8%)		
M1	25 (12.3%)	4 (4.94%)	21 (17.2%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos N=150	Pos++ N=24	p.overall	N
Segundo tumor:					0.543	204
No	189 (92.6%)	28 (93.3%)	140 (93.3%)	21 (87.5%)		
Sí	15 (7.35%)	2 (6.67%)	10 (6.67%)	3 (12.5%)		
Indicación colonoscopia:					0.837	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	1 (3.33%)	5 (3.33%)	1 (4.17%)		
Síntomas	197 (96.6%)	29 (96.7%)	145 (96.7%)	23 (95.8%)		
Localización tumor:					0.691	204
Colon	138 (67.6%)	22 (73.3%)	99 (66.0%)	17 (70.8%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	51 (34.0%)	7 (29.2%)		
Localización tumor:					0.064	204
Derecho	71 (34.8%)	7 (23.3%)	51 (34.0%)	13 (54.2%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	15 (50.0%)	48 (32.0%)	4 (16.7%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	51 (34.0%)	7 (29.2%)		
Estadio inicial TNM:					0.191	196
I	31 (15.8%)	6 (20.7%)	22 (15.4%)	3 (12.5%)		
II	72 (36.7%)	13 (44.8%)	48 (33.6%)	11 (45.8%)		
III	67 (34.2%)	10 (34.5%)	51 (35.7%)	6 (25.0%)		
IV	26 (13.3%)	0 (0.00%)	22 (15.4%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial T:					0.235	197
T1	4 (2.03%)	1 (3.33%)	2 (1.40%)	1 (4.17%)		
T2	34 (17.3%)	6 (20.0%)	26 (18.2%)	2 (8.33%)		
T3	135 (68.5%)	19 (63.3%)	101 (70.6%)	15 (62.5%)		
T4	24 (12.2%)	4 (13.3%)	14 (9.79%)	6 (25.0%)		
Estadio inicial N:					0.166	194
N0	114 (58.8%)	19 (65.5%)	78 (55.3%)	17 (70.8%)		
N1	52 (26.8%)	9 (31.0%)	40 (28.4%)	3 (12.5%)		
N2	28 (14.4%)	1 (3.45%)	23 (16.3%)	4 (16.7%)		
Estadio inicial M:					0.046	203
M0	178 (87.7%)	30 (100%)	128 (85.9%)	20 (83.3%)		
M1	25 (12.3%)	0 (0.00%)	21 (14.1%)	4 (16.7%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos + Pos++ N=174	p.overall	N
Segundo tumor:				1.000	204
No	189 (92.6%)	28 (93.3%)	161 (92.5%)		
Sí	15 (7.35%)	2 (6.67%)	13 (7.47%)		
Indicación colonoscopia:				1.000	204
Cribado-vigilancia	7 (3.43%)	1 (3.33%)	6 (3.45%)		
Síntomas	197 (96.6%)	29 (96.7%)	168 (96.6%)		
Localización tumor:				0.610	204
Colon	138 (67.6%)	22 (73.3%)	116 (66.7%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	58 (33.3%)		
Localización tumor:				0.089	204
Derecho	71 (34.8%)	7 (23.3%)	64 (36.8%)		
Izquierdo	67 (32.8%)	15 (50.0%)	52 (29.9%)		
Recto	66 (32.4%)	8 (26.7%)	58 (33.3%)		
Estadio inicial TNM:				0.073	196
I	31 (15.8%)	6 (20.7%)	25 (15.0%)		
II	72 (36.7%)	13 (44.8%)	59 (35.3%)		
III	67 (34.2%)	10 (34.5%)	57 (34.1%)		
IV	26 (13.3%)	0 (0.00%)	26 (15.6%)		
Estadio inicial T:				0.699	197
T1	4 (2.03%)	1 (3.33%)	3 (1.80%)		
T2	34 (17.3%)	6 (20.0%)	28 (16.8%)		
T3	135 (68.5%)	19 (63.3%)	116 (69.5%)		
T4	24 (12.2%)	4 (13.3%)	20 (12.0%)		
Estadio inicial N:				0.182	194
N0	114 (58.8%)	19 (65.5%)	95 (57.6%)		
N1	52 (26.8%)	9 (31.0%)	43 (26.1%)		
N2	28 (14.4%)	1 (3.45%)	27 (16.4%)		
Estadio inicial M:				0.030	203
M0	178 (87.7%)	30 (100%)	148 (85.5%)		
M1	25 (12.3%)	0 (0.00%)	25 (14.5%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos N=106	Pos++ N=84	p.overall	N
Segundo tumor:						0.561	237
No	210 (88.6%)	15 (78.9%)	25 (89.3%)	94 (88.7%)	76 (90.5%)		
Sí	27 (11.4%)	4 (21.1%)	3 (10.7%)	12 (11.3%)	8 (9.52%)		
Indicación colonoscopia:						0.469	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	1 (5.26%)	1 (3.57%)	3 (2.83%)	6 (7.14%)		
Síntomas	226 (95.4%)	18 (94.7%)	27 (96.4%)	103 (97.2%)	78 (92.9%)		
Localización tumor:						0.581	237
Colon	161 (67.9%)	14 (73.7%)	16 (57.1%)	74 (69.8%)	57 (67.9%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	12 (42.9%)	32 (30.2%)	27 (32.1%)		
Localización tumor:						0.700	237
Derecho	81 (34.2%)	8 (42.1%)	7 (25.0%)	34 (32.1%)	32 (38.1%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	6 (31.6%)	9 (32.1%)	40 (37.7%)	25 (29.8%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	12 (42.9%)	32 (30.2%)	27 (32.1%)		
Estadio inicial TNM:						.	228
I	35 (15.4%)	3 (15.8%)	3 (11.1%)	18 (17.8%)	11 (13.6%)		
II	82 (36.0%)	10 (52.6%)	11 (40.7%)	32 (31.7%)	29 (35.8%)		
III	82 (36.0%)	6 (31.6%)	9 (33.3%)	39 (38.6%)	28 (34.6%)		
IV	29 (12.7%)	0 (0.00%)	4 (14.8%)	12 (11.9%)	13 (16.0%)		
Estadio inicial T:						.	229
T1	6 (2.62%)	1 (5.56%)	0 (0.00%)	3 (2.94%)	2 (2.44%)		
T2	38 (16.6%)	4 (22.2%)	4 (14.8%)	18 (17.6%)	12 (14.6%)		
T3	155 (67.7%)	12 (66.7%)	17 (63.0%)	69 (67.6%)	57 (69.5%)		
T4	30 (13.1%)	1 (5.56%)	6 (22.2%)	12 (11.8%)	11 (13.4%)		
Estadio inicial N:						0.623	226
N0	129 (57.1%)	13 (68.4%)	15 (55.6%)	57 (56.4%)	44 (55.7%)		
N1	63 (27.9%)	6 (31.6%)	8 (29.6%)	28 (27.7%)	21 (26.6%)		
N2	34 (15.0%)	0 (0.00%)	4 (14.8%)	16 (15.8%)	14 (17.7%)		
Estadio inicial M:						0.340	236
M0	208 (88.1%)	19 (100%)	24 (85.7%)	94 (88.7%)	71 (85.5%)		
M1	28 (11.9%)	0 (0.00%)	4 (14.3%)	12 (11.3%)	12 (14.5%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos + Pos++ N=190	p.overall	N
Segundo tumor:					0.400	237
No	210 (88.6%)	15 (78.9%)	25 (89.3%)	170 (89.5%)		
Sí	27 (11.4%)	4 (21.1%)	3 (10.7%)	20 (10.5%)		
Indicación colonoscopia:					1.000	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	1 (5.26%)	1 (3.57%)	9 (4.74%)		
Síntomas	226 (95.4%)	18 (94.7%)	27 (96.4%)	181 (95.3%)		
Localización tumor:					0.392	237
Colon	161 (67.9%)	14 (73.7%)	16 (57.1%)	131 (68.9%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	12 (42.9%)	59 (31.1%)		
Localización tumor:					0.664	237
Derecho	81 (34.2%)	8 (42.1%)	7 (25.0%)	66 (34.7%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	6 (31.6%)	9 (32.1%)	65 (34.2%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	12 (42.9%)	59 (31.1%)		
Estadio inicial TNM:					0.522	228
I	35 (15.4%)	3 (15.8%)	3 (11.1%)	29 (15.9%)		
II	82 (36.0%)	10 (52.6%)	11 (40.7%)	61 (33.5%)		
III	82 (36.0%)	6 (31.6%)	9 (33.3%)	67 (36.8%)		
IV	29 (12.7%)	0 (0.00%)	4 (14.8%)	25 (13.7%)		
Estadio inicial T:					0.589	229
T1	6 (2.62%)	1 (5.56%)	0 (0.00%)	5 (2.72%)		
T2	38 (16.6%)	4 (22.2%)	4 (14.8%)	30 (16.3%)		
T3	155 (67.7%)	12 (66.7%)	17 (63.0%)	126 (68.5%)		
T4	30 (13.1%)	1 (5.56%)	6 (22.2%)	23 (12.5%)		
Estadio inicial N:					0.374	226
N0	129 (57.1%)	13 (68.4%)	15 (55.6%)	101 (56.1%)		
N1	63 (27.9%)	6 (31.6%)	8 (29.6%)	49 (27.2%)		
N2	34 (15.0%)	0 (0.00%)	4 (14.8%)	30 (16.7%)		
Estadio inicial M:					0.228	236
M0	208 (88.1%)	19 (100%)	24 (85.7%)	165 (87.3%)		
M1	28 (11.9%)	0 (0.00%)	4 (14.3%)	24 (12.7%)		



-----summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos N=106	Pos++ N=84	p.overall	N
Segundo tumor:					0.650	237
No	210 (88.6%)	40 (85.1%)	94 (88.7%)	76 (90.5%)		
Sí	27 (11.4%)	7 (14.9%)	12 (11.3%)	8 (9.52%)		
Indicación colonoscopia:					0.369	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	2 (4.26%)	3 (2.83%)	6 (7.14%)		
Síntomas	226 (95.4%)	45 (95.7%)	103 (97.2%)	78 (92.9%)		
Localización tumor:					0.765	237
Colon	161 (67.9%)	30 (63.8%)	74 (69.8%)	57 (67.9%)		
Recto	76 (32.1%)	17 (36.2%)	32 (30.2%)	27 (32.1%)		
Localización tumor:					0.756	237
Derecho	81 (34.2%)	15 (31.9%)	34 (32.1%)	32 (38.1%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	15 (31.9%)	40 (37.7%)	25 (29.8%)		
Recto	76 (32.1%)	17 (36.2%)	32 (30.2%)	27 (32.1%)		
Estadio inicial TNM:					0.653	228
I	35 (15.4%)	6 (13.0%)	18 (17.8%)	11 (13.6%)		
II	82 (36.0%)	21 (45.7%)	32 (31.7%)	29 (35.8%)		
III	82 (36.0%)	15 (32.6%)	39 (38.6%)	28 (34.6%)		
IV	29 (12.7%)	4 (8.70%)	12 (11.9%)	13 (16.0%)		
Estadio inicial T:					0.989	229
T1	6 (2.62%)	1 (2.22%)	3 (2.94%)	2 (2.44%)		
T2	38 (16.6%)	8 (17.8%)	18 (17.6%)	12 (14.6%)		
T3	155 (67.7%)	29 (64.4%)	69 (67.6%)	57 (69.5%)		
T4	30 (13.1%)	7 (15.6%)	12 (11.8%)	11 (13.4%)		
Estadio inicial N:					0.744	226
N0	129 (57.1%)	28 (60.9%)	57 (56.4%)	44 (55.7%)		
N1	63 (27.9%)	14 (30.4%)	28 (27.7%)	21 (26.6%)		
N2	34 (15.0%)	4 (8.70%)	16 (15.8%)	14 (17.7%)		
Estadio inicial M:					0.586	236
M0	208 (88.1%)	43 (91.5%)	94 (88.7%)	71 (85.5%)		
M1	28 (11.9%)	4 (8.51%)	12 (11.3%)	12 (14.5%)		

-----summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos + Pos++ N=190	p.overall	N
Segundo tumor:				0.557	237
No	210 (88.6%)	40 (85.1%)	170 (89.5%)		
Sí	27 (11.4%)	7 (14.9%)	20 (10.5%)		
Indicación colonoscopia:				1.000	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	2 (4.26%)	9 (4.74%)		
Síntomas	226 (95.4%)	45 (95.7%)	181 (95.3%)		
Localización tumor:				0.618	237
Colon	161 (67.9%)	30 (63.8%)	131 (68.9%)		
Recto	76 (32.1%)	17 (36.2%)	59 (31.1%)		
Localización tumor:				0.797	237
Derecho	81 (34.2%)	15 (31.9%)	66 (34.7%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	15 (31.9%)	65 (34.2%)		
Recto	76 (32.1%)	17 (36.2%)	59 (31.1%)		
Estadio inicial TNM:				0.454	228
I	35 (15.4%)	6 (13.0%)	29 (15.9%)		
II	82 (36.0%)	21 (45.7%)	61 (33.5%)		
III	82 (36.0%)	15 (32.6%)	67 (36.8%)		
IV	29 (12.7%)	4 (8.70%)	25 (13.7%)		
Estadio inicial T:				0.924	229
T1	6 (2.62%)	1 (2.22%)	5 (2.72%)		
T2	38 (16.6%)	8 (17.8%)	30 (16.3%)		
T3	155 (67.7%)	29 (64.4%)	126 (68.5%)		
T4	30 (13.1%)	7 (15.6%)	23 (12.5%)		
Estadio inicial N:				0.401	226
N0	129 (57.1%)	28 (60.9%)	101 (56.1%)		
N1	63 (27.9%)	14 (30.4%)	49 (27.2%)		
N2	34 (15.0%)	4 (8.70%)	30 (16.7%)		
Estadio inicial M:				0.587	236
M0	208 (88.1%)	43 (91.5%)	165 (87.3%)		
M1	28 (11.9%)	4 (8.51%)	24 (12.7%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos N=134	Pos++ N=84	p.overall	N
Segundo tumor:					0.373	237
No	210 (88.6%)	15 (78.9%)	119 (88.8%)	76 (90.5%)		
Sí	27 (11.4%)	4 (21.1%)	15 (11.2%)	8 (9.52%)		
Indicación colonoscopia:					0.248	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	1 (5.26%)	4 (2.99%)	6 (7.14%)		
Síntomas	226 (95.4%)	18 (94.7%)	130 (97.0%)	78 (92.9%)		
Localización tumor:					0.850	237
Colon	161 (67.9%)	14 (73.7%)	90 (67.2%)	57 (67.9%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	44 (32.8%)	27 (32.1%)		
Localización tumor:					0.701	237
Derecho	81 (34.2%)	8 (42.1%)	41 (30.6%)	32 (38.1%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	6 (31.6%)	49 (36.6%)	25 (29.8%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	44 (32.8%)	27 (32.1%)		
Estadio inicial TNM:					0.508	228
I	35 (15.4%)	3 (15.8%)	21 (16.4%)	11 (13.6%)		
II	82 (36.0%)	10 (52.6%)	43 (33.6%)	29 (35.8%)		
III	82 (36.0%)	6 (31.6%)	48 (37.5%)	28 (34.6%)		
IV	29 (12.7%)	0 (0.00%)	16 (12.5%)	13 (16.0%)		
Estadio inicial T:					0.847	229
T1	6 (2.62%)	1 (5.56%)	3 (2.33%)	2 (2.44%)		
T2	38 (16.6%)	4 (22.2%)	22 (17.1%)	12 (14.6%)		
T3	155 (67.7%)	12 (66.7%)	86 (66.7%)	57 (69.5%)		
T4	30 (13.1%)	1 (5.56%)	18 (14.0%)	11 (13.4%)		
Estadio inicial N:					0.370	226
N0	129 (57.1%)	13 (68.4%)	72 (56.2%)	44 (55.7%)		
N1	63 (27.9%)	6 (31.6%)	36 (28.1%)	21 (26.6%)		
N2	34 (15.0%)	0 (0.00%)	20 (15.6%)	14 (17.7%)		
Estadio inicial M:					0.208	236
M0	208 (88.1%)	19 (100%)	118 (88.1%)	71 (85.5%)		
M1	28 (11.9%)	0 (0.00%)	16 (11.9%)	12 (14.5%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos + Pos++ N=218	p.overall	N
Segundo tumor:				0.246	237
No	210 (88.6%)	15 (78.9%)	195 (89.4%)		
Sí	27 (11.4%)	4 (21.1%)	23 (10.6%)		
Indicación colonoscopia:				1.000	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	1 (5.26%)	10 (4.59%)		
Síntomas	226 (95.4%)	18 (94.7%)	208 (95.4%)		
Localización tumor:				0.761	237
Colon	161 (67.9%)	14 (73.7%)	147 (67.4%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	71 (32.6%)		
Localización tumor:				0.733	237
Derecho	81 (34.2%)	8 (42.1%)	73 (33.5%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	6 (31.6%)	74 (33.9%)		
Recto	76 (32.1%)	5 (26.3%)	71 (32.6%)		
Estadio inicial TNM:				0.232	228
I	35 (15.4%)	3 (15.8%)	32 (15.3%)		
II	82 (36.0%)	10 (52.6%)	72 (34.4%)		
III	82 (36.0%)	6 (31.6%)	76 (36.4%)		
IV	29 (12.7%)	0 (0.00%)	29 (13.9%)		
Estadio inicial T:				0.449	229
T1	6 (2.62%)	1 (5.56%)	5 (2.37%)		
T2	38 (16.6%)	4 (22.2%)	34 (16.1%)		
T3	155 (67.7%)	12 (66.7%)	143 (67.8%)		
T4	30 (13.1%)	1 (5.56%)	29 (13.7%)		
Estadio inicial N:				0.135	226
N0	129 (57.1%)	13 (68.4%)	116 (56.0%)		
N1	63 (27.9%)	6 (31.6%)	57 (27.5%)		
N2	34 (15.0%)	0 (0.00%)	34 (16.4%)		
Estadio inicial M:				0.140	236
M0	208 (88.1%)	19 (100%)	189 (87.1%)		
M1	28 (11.9%)	0 (0.00%)	28 (12.9%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos N=7	p. overall	N
Segundo tumor:					0.191	237
No	210 (88.6%)	157 (88.2%)	48 (92.3%)	5 (71.4%)		
Sí	27 (11.4%)	21 (11.8%)	4 (7.69%)	2 (28.6%)		
Indicación colonoscopia:					0.245	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	9 (5.06%)	1 (1.92%)	1 (14.3%)		
Síntomas	226 (95.4%)	169 (94.9%)	51 (98.1%)	6 (85.7%)		
Localización tumor:					0.545	237
Colon	162 (68.4%)	120 (67.4%)	38 (73.1%)	4 (57.1%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	14 (26.9%)	3 (42.9%)		
Localización tumor:					0.676	237
Derecho	82 (34.6%)	63 (35.4%)	18 (34.6%)	1 (14.3%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	57 (32.0%)	20 (38.5%)	3 (42.9%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	14 (26.9%)	3 (42.9%)		
Estadio inicial TNM:					0.725	229
I	35 (15.3%)	23 (13.5%)	10 (19.6%)	2 (28.6%)		
II	82 (35.8%)	63 (36.8%)	18 (35.3%)	1 (14.3%)		
III	83 (36.2%)	63 (36.8%)	17 (33.3%)	3 (42.9%)		
IV	29 (12.7%)	22 (12.9%)	6 (11.8%)	1 (14.3%)		
Estadio inicial T:					0.572	229
T1	6 (2.62%)	4 (2.33%)	2 (4.00%)	0 (0.00%)		
T2	38 (16.6%)	28 (16.3%)	8 (16.0%)	2 (28.6%)		
T3	155 (67.7%)	119 (69.2%)	33 (66.0%)	3 (42.9%)		
T4	30 (13.1%)	21 (12.2%)	7 (14.0%)	2 (28.6%)		
Estadio inicial N:					0.600	227
N0	129 (56.8%)	95 (55.2%)	30 (61.2%)	4 (66.7%)		
N1	64 (28.2%)	52 (30.2%)	10 (20.4%)	2 (33.3%)		
N2	34 (15.0%)	25 (14.5%)	9 (18.4%)	0 (0.00%)		
Estadio inicial M:					0.845	236
M0	208 (88.1%)	156 (87.6%)	46 (90.2%)	6 (85.7%)		
M1	28 (11.9%)	22 (12.4%)	5 (9.80%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos + Pos++ N=7	p. overall	N
Segundo tumor:					0.191	237
No	210 (88.6%)	157 (88.2%)	48 (92.3%)	5 (71.4%)		
Sí	27 (11.4%)	21 (11.8%)	4 (7.69%)	2 (28.6%)		
Indicación colonoscopia:					0.245	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	9 (5.06%)	1 (1.92%)	1 (14.3%)		
Síntomas	226 (95.4%)	169 (94.9%)	51 (98.1%)	6 (85.7%)		
Localización tumor:					0.545	237
Colon	162 (68.4%)	120 (67.4%)	38 (73.1%)	4 (57.1%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	14 (26.9%)	3 (42.9%)		
Localización tumor:					0.676	237
Derecho	82 (34.6%)	63 (35.4%)	18 (34.6%)	1 (14.3%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	57 (32.0%)	20 (38.5%)	3 (42.9%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	14 (26.9%)	3 (42.9%)		
Estadio inicial TNM:					0.725	229
I	35 (15.3%)	23 (13.5%)	10 (19.6%)	2 (28.6%)		
II	82 (35.8%)	63 (36.8%)	18 (35.3%)	1 (14.3%)		
III	83 (36.2%)	63 (36.8%)	17 (33.3%)	3 (42.9%)		
IV	29 (12.7%)	22 (12.9%)	6 (11.8%)	1 (14.3%)		
Estadio inicial T:					0.572	229
T1	6 (2.62%)	4 (2.33%)	2 (4.00%)	0 (0.00%)		
T2	38 (16.6%)	28 (16.3%)	8 (16.0%)	2 (28.6%)		
T3	155 (67.7%)	119 (69.2%)	33 (66.0%)	3 (42.9%)		
T4	30 (13.1%)	21 (12.2%)	7 (14.0%)	2 (28.6%)		
Estadio inicial N:					0.600	227
N0	129 (56.8%)	95 (55.2%)	30 (61.2%)	4 (66.7%)		
N1	64 (28.2%)	52 (30.2%)	10 (20.4%)	2 (33.3%)		
N2	34 (15.0%)	25 (14.5%)	9 (18.4%)	0 (0.00%)		
Estadio inicial M:					0.845	236
M0	208 (88.1%)	156 (87.6%)	46 (90.2%)	6 (85.7%)		
M1	28 (11.9%)	22 (12.4%)	5 (9.80%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos N=7	p.overall	N
Segundo tumor:				0.183	237
No	210 (88.6%)	205 (89.1%)	5 (71.4%)		
Sí	27 (11.4%)	25 (10.9%)	2 (28.6%)		
Indicación colonoscopia:				0.286	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	10 (4.35%)	1 (14.3%)		
Síntomas	226 (95.4%)	220 (95.7%)	6 (85.7%)		
Localización tumor:				0.682	237
Colon	162 (68.4%)	158 (68.7%)	4 (57.1%)		
Recto	75 (31.6%)	72 (31.3%)	3 (42.9%)		
Localización tumor:				0.571	237
Derecho	82 (34.6%)	81 (35.2%)	1 (14.3%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	77 (33.5%)	3 (42.9%)		
Recto	75 (31.6%)	72 (31.3%)	3 (42.9%)		
Estadio inicial TNM:				0.456	229
I	35 (15.3%)	33 (14.9%)	2 (28.6%)		
II	82 (35.8%)	81 (36.5%)	1 (14.3%)		
III	83 (36.2%)	80 (36.0%)	3 (42.9%)		
IV	29 (12.7%)	28 (12.6%)	1 (14.3%)		
Estadio inicial T:				0.294	229
T1	6 (2.62%)	6 (2.70%)	0 (0.00%)		
T2	38 (16.6%)	36 (16.2%)	2 (28.6%)		
T3	155 (67.7%)	152 (68.5%)	3 (42.9%)		
T4	30 (13.1%)	28 (12.6%)	2 (28.6%)		
Estadio inicial N:				0.730	227
N0	129 (56.8%)	125 (56.6%)	4 (66.7%)		
N1	64 (28.2%)	62 (28.1%)	2 (33.3%)		
N2	34 (15.0%)	34 (15.4%)	0 (0.00%)		
Estadio inicial M:				0.592	236
M0	208 (88.1%)	202 (88.2%)	6 (85.7%)		
M1	28 (11.9%)	27 (11.8%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos + Pos++ N=7	p.overall	N
Segundo tumor:				0.183	237
No	210 (88.6%)	205 (89.1%)	5 (71.4%)		
Sí	27 (11.4%)	25 (10.9%)	2 (28.6%)		
Indicación colonoscopia:				0.286	237
Cribado-vigilancia	11 (4.64%)	10 (4.35%)	1 (14.3%)		
Síntomas	226 (95.4%)	220 (95.7%)	6 (85.7%)		
Localización tumor:				0.682	237
Colon	162 (68.4%)	158 (68.7%)	4 (57.1%)		
Recto	75 (31.6%)	72 (31.3%)	3 (42.9%)		
Localización tumor:				0.571	237
Derecho	82 (34.6%)	81 (35.2%)	1 (14.3%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	77 (33.5%)	3 (42.9%)		
Recto	75 (31.6%)	72 (31.3%)	3 (42.9%)		
Estadio inicial TNM:				0.456	229
I	35 (15.3%)	33 (14.9%)	2 (28.6%)		
II	82 (35.8%)	81 (36.5%)	1 (14.3%)		
III	83 (36.2%)	80 (36.0%)	3 (42.9%)		
IV	29 (12.7%)	28 (12.6%)	1 (14.3%)		
Estadio inicial T:				0.294	229
T1	6 (2.62%)	6 (2.70%)	0 (0.00%)		
T2	38 (16.6%)	36 (16.2%)	2 (28.6%)		
T3	155 (67.7%)	152 (68.5%)	3 (42.9%)		
T4	30 (13.1%)	28 (12.6%)	2 (28.6%)		
Estadio inicial N:				0.730	227
N0	129 (56.8%)	125 (56.6%)	4 (66.7%)		
N1	64 (28.2%)	62 (28.1%)	2 (33.3%)		
N2	34 (15.0%)	34 (15.4%)	0 (0.00%)		
Estadio inicial M:				0.592	236
M0	208 (88.1%)	202 (88.2%)	6 (85.7%)		
M1	28 (11.9%)	27 (11.8%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos N=59	p.overall	N
Segundo tumor:				0.917	237
No	210 (88.6%)	157 (88.2%)	53 (89.8%)		
Sí	27 (11.4%)	21 (11.8%)	6 (10.2%)		
Indicación colonoscopia:				0.736	237
cribado-vigilancia	11 (4.64%)	9 (5.06%)	2 (3.39%)		
síntomas	226 (95.4%)	169 (94.9%)	57 (96.6%)		
Localización tumor:				0.705	237
Colon	162 (68.4%)	120 (67.4%)	42 (71.2%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	17 (28.8%)		
Localización tumor:				0.617	237
Derecho	82 (34.6%)	63 (35.4%)	19 (32.2%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	57 (32.0%)	23 (39.0%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	17 (28.8%)		
Estadio inicial TNM:				0.620	229
I	35 (15.3%)	23 (13.5%)	12 (20.7%)		
II	82 (35.8%)	63 (36.8%)	19 (32.8%)		
III	83 (36.2%)	63 (36.8%)	20 (34.5%)		
IV	29 (12.7%)	22 (12.9%)	7 (12.1%)		
Estadio inicial T:				0.743	229
T1	6 (2.62%)	4 (2.33%)	2 (3.51%)		
T2	38 (16.6%)	28 (16.3%)	10 (17.5%)		
T3	155 (67.7%)	119 (69.2%)	36 (63.2%)		
T4	30 (13.1%)	21 (12.2%)	9 (15.8%)		
Estadio inicial N:				0.482	227
N0	129 (56.8%)	95 (55.2%)	34 (61.8%)		
N1	64 (28.2%)	52 (30.2%)	12 (21.8%)		
N2	34 (15.0%)	25 (14.5%)	9 (16.4%)		
Estadio inicial M:				0.858	236
M0	208 (88.1%)	156 (87.6%)	52 (89.7%)		
M1	28 (11.9%)	22 (12.4%)	6 (10.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos + Pos++ N=59	p.overall	N
Segundo tumor:				0.917	237
No	210 (88.6%)	157 (88.2%)	53 (89.8%)		
Sí	27 (11.4%)	21 (11.8%)	6 (10.2%)		
Indicación colonoscopia:				0.736	237
cribado-vigilancia	11 (4.64%)	9 (5.06%)	2 (3.39%)		
síntomas	226 (95.4%)	169 (94.9%)	57 (96.6%)		
Localización tumor:				0.705	237
Colon	162 (68.4%)	120 (67.4%)	42 (71.2%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	17 (28.8%)		
Localización tumor:				0.617	237
Derecho	82 (34.6%)	63 (35.4%)	19 (32.2%)		
Izquierdo	80 (33.8%)	57 (32.0%)	23 (39.0%)		
Recto	75 (31.6%)	58 (32.6%)	17 (28.8%)		
Estadio inicial TNM:				0.620	229
I	35 (15.3%)	23 (13.5%)	12 (20.7%)		
II	82 (35.8%)	63 (36.8%)	19 (32.8%)		
III	83 (36.2%)	63 (36.8%)	20 (34.5%)		
IV	29 (12.7%)	22 (12.9%)	7 (12.1%)		
Estadio inicial T:				0.743	229
T1	6 (2.62%)	4 (2.33%)	2 (3.51%)		
T2	38 (16.6%)	28 (16.3%)	10 (17.5%)		
T3	155 (67.7%)	119 (69.2%)	36 (63.2%)		
T4	30 (13.1%)	21 (12.2%)	9 (15.8%)		
Estadio inicial N:				0.482	227
N0	129 (56.8%)	95 (55.2%)	34 (61.8%)		
N1	64 (28.2%)	52 (30.2%)	12 (21.8%)		
N2	34 (15.0%)	25 (14.5%)	9 (16.4%)		
Estadio inicial M:				0.858	236
M0	208 (88.1%)	156 (87.6%)	52 (89.7%)		
M1	28 (11.9%)	22 (12.4%)	6 (10.3%)		

**ANEXO VI:** TABLAS APARTADO 5.4.1.2 VARIABLES RELACIONADAS CON EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DEL CCR: DESCRIPCIÓN DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos N=99	Pos++ N=24	p. overall	N
Histología:						1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	30 (100%)	51 (100%)	98 (99.0%)	24 (100%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (1.01%)	0 (0.00%)		
Resección R0:						0.122	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (2.02%)	2 (8.33%)		
Sí	200 (98.0%)	30 (100%)	51 (100%)	97 (98.0%)	22 (91.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.78 (1.83)	4.56 (1.84)	4.54 (1.89)	5.36 (2.32)	0.303	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	65.6 (49.2)	61.8 (48.5)	73.3 (45.0)	74.4 (43.2)	0.517	181
Grado de diferenciación:						0.546	194
Bien	30 (15.5%)	5 (17.2%)	9 (18.8%)	10 (10.6%)	6 (26.1%)		
Moderado	123 (63.4%)	17 (58.6%)	29 (60.4%)	63 (67.0%)	14 (60.9%)		
Mal	41 (21.1%)	7 (24.1%)	10 (20.8%)	21 (22.3%)	3 (13.0%)		
Invasión vascular:						0.646	131
No	80 (61.1%)	13 (65.0%)	20 (66.7%)	38 (55.9%)	9 (69.2%)		
Sí	51 (38.9%)	7 (35.0%)	10 (33.3%)	30 (44.1%)	4 (30.8%)		
Infiltración linfoide:						0.033	75
No	28 (37.3%)	8 (61.5%)	7 (41.2%)	13 (35.1%)	0 (0.00%)		
Sí	47 (62.7%)	5 (38.5%)	10 (58.8%)	24 (64.9%)	8 (100%)		
Tumor mucinoso:						0.222	137
No	102 (74.5%)	18 (81.8%)	25 (64.1%)	49 (80.3%)	10 (66.7%)		
Sí	35 (25.5%)	4 (18.2%)	14 (35.9%)	12 (19.7%)	5 (33.3%)		
Estudio de IHQ de IMS:						0.808	204
No	188 (92.2%)	28 (93.3%)	48 (94.1%)	89 (89.9%)	23 (95.8%)		
Sí	16 (7.84%)	2 (6.67%)	3 (5.88%)	10 (10.1%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos + Pos++ N=123	p. overall	N
Histología:					1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	30 (100%)	51 (100%)	122 (99.2%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (0.81%)		
Resección R0:					0.479	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	4 (3.25%)		
Sí	200 (98.0%)	30 (100%)	51 (100%)	119 (96.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.78 (1.83)	4.56 (1.84)	4.70 (2.00)	0.875	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	65.6 (49.2)	61.8 (48.5)	73.5 (44.5)	0.321	181
Grado de diferenciación:					0.872	194
Bien	30 (15.5%)	5 (17.2%)	9 (18.8%)	16 (13.7%)		
Moderado	123 (63.4%)	17 (58.6%)	29 (60.4%)	77 (65.8%)		
Mal	41 (21.1%)	7 (24.1%)	10 (20.8%)	24 (20.5%)		
Invasión vascular:					0.657	131
No	80 (61.1%)	13 (65.0%)	20 (66.7%)	47 (58.0%)		
Sí	51 (38.9%)	7 (35.0%)	10 (33.3%)	34 (42.0%)		
Infiltración linfoide:					0.085	75
No	28 (37.3%)	8 (61.5%)	7 (41.2%)	13 (28.9%)		
Sí	47 (62.7%)	5 (38.5%)	10 (58.8%)	32 (71.1%)		
Tumor mucinoso:					0.199	137
No	102 (74.5%)	18 (81.8%)	25 (64.1%)	59 (77.6%)		
Sí	35 (25.5%)	4 (18.2%)	14 (35.9%)	17 (22.4%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.931	204
No	188 (92.2%)	28 (93.3%)	48 (94.1%)	112 (91.1%)		
Sí	16 (7.84%)	2 (6.67%)	3 (5.88%)	11 (8.94%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos N=99	Pos++ N=24	p.overall	N
Histología:					1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	81 (100%)	98 (99.0%)	24 (100%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	1 (1.01%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					0.037	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	2 (2.02%)	2 (8.33%)		
Sí	200 (98.0%)	81 (100%)	97 (98.0%)	22 (91.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.64 (1.83)	4.54 (1.89)	5.36 (2.32)	0.181	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	63.2 (48.4)	73.3 (45.0)	74.4 (43.2)	0.338	181
Grado de diferenciación:					0.322	194
Bien	30 (15.5%)	14 (18.2%)	10 (10.6%)	6 (26.1%)		
Moderado	123 (63.4%)	46 (59.7%)	63 (67.0%)	14 (60.9%)		
Mal	41 (21.1%)	17 (22.1%)	21 (22.3%)	3 (13.0%)		
Invasión vascular:					0.439	131
No	80 (61.1%)	33 (66.0%)	38 (55.9%)	9 (69.2%)		
Sí	51 (38.9%)	17 (34.0%)	30 (44.1%)	4 (30.8%)		
Infiltración linfoide:					0.027	75
No	28 (37.3%)	15 (50.0%)	13 (35.1%)	0 (0.00%)		
Sí	47 (62.7%)	15 (50.0%)	24 (64.9%)	8 (100%)		
Tumor mucinoso:					0.320	137
No	102 (74.5%)	43 (70.5%)	49 (80.3%)	10 (66.7%)		
Sí	35 (25.5%)	18 (29.5%)	12 (19.7%)	5 (33.3%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.571	204
No	188 (92.2%)	76 (93.8%)	89 (89.9%)	23 (95.8%)		
Sí	16 (7.84%)	5 (6.17%)	10 (10.1%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos + Pos++ N=123	p.overall	N
Histología:				1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	81 (100%)	122 (99.2%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	1 (0.81%)		
Resección R0:				0.153	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	4 (3.25%)		
Sí	200 (98.0%)	81 (100%)	119 (96.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.64 (1.83)	4.70 (2.00)	0.832	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	63.2 (48.4)	73.5 (44.5)	0.148	181
Grado de diferenciación:				0.627	194
Bien	30 (15.5%)	14 (18.2%)	16 (13.7%)		
Moderado	123 (63.4%)	46 (59.7%)	77 (65.8%)		
Mal	41 (21.1%)	17 (22.1%)	24 (20.5%)		
Invasión vascular:				0.468	131
No	80 (61.1%)	33 (66.0%)	47 (58.0%)		
Sí	51 (38.9%)	17 (34.0%)	34 (42.0%)		
Infiltración linfoide:				0.108	75
No	28 (37.3%)	15 (50.0%)	13 (28.9%)		
Sí	47 (62.7%)	15 (50.0%)	32 (71.1%)		
Tumor mucinoso:				0.450	137
No	102 (74.5%)	43 (70.5%)	59 (77.6%)		
Sí	35 (25.5%)	18 (29.5%)	17 (22.4%)		
Estudio de IHQ de IMS:				0.650	204
No	188 (92.2%)	76 (93.8%)	112 (91.1%)		
Sí	16 (7.84%)	5 (6.17%)	11 (8.94%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos N=150	Pos++ N=24	p.overall	N
Histología:					1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	30 (100%)	149 (99.3%)	24 (100%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	1 (0.67%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					0.102	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	2 (1.33%)	2 (8.33%)		
Sí	200 (98.0%)	30 (100%)	148 (98.7%)	22 (91.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.78 (1.83)	4.55 (1.87)	5.36 (2.32)	0.162	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	65.6 (49.2)	69.3 (46.4)	74.4 (43.2)	0.819	181
Grado de diferenciación:					0.517	194
Bien	30 (15.5%)	5 (17.2%)	19 (13.4%)	6 (26.1%)		
Moderado	123 (63.4%)	17 (58.6%)	92 (64.8%)	14 (60.9%)		
Mal	41 (21.1%)	7 (24.1%)	31 (21.8%)	3 (13.0%)		
Invasión vascular:					0.726	131
No	80 (61.1%)	13 (65.0%)	58 (59.2%)	9 (69.2%)		
Sí	51 (38.9%)	7 (35.0%)	40 (40.8%)	4 (30.8%)		
Infiltración linfoide:					0.011	75
No	28 (37.3%)	8 (61.5%)	20 (37.0%)	0 (0.00%)		
Sí	47 (62.7%)	5 (38.5%)	34 (63.0%)	8 (100%)		
Tumor mucinoso:					0.590	137
No	102 (74.5%)	18 (81.8%)	74 (74.0%)	10 (66.7%)		
Sí	35 (25.5%)	4 (18.2%)	26 (26.0%)	5 (33.3%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.912	204
No	188 (92.2%)	28 (93.3%)	137 (91.3%)	23 (95.8%)		
Sí	16 (7.84%)	2 (6.67%)	13 (8.67%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos + Pos++ N=174	p.overall	N
Histología:				1.000	204
Adenocarcinoma	203 (99.5%)	30 (100%)	173 (99.4%)		
Otros	1 (0.49%)	0 (0.00%)	1 (0.57%)		
Resección R0:				1.000	204
No	4 (1.96%)	0 (0.00%)	4 (2.30%)		
Sí	200 (98.0%)	30 (100%)	170 (97.7%)		
Tamaño tumoral	4.67 (1.93)	4.78 (1.83)	4.66 (1.95)	0.751	198
Margen de resección	69.4 (46.3)	65.6 (49.2)	70.0 (45.9)	0.682	181
Grado de diferenciación:				0.803	194
Bien	30 (15.5%)	5 (17.2%)	25 (15.2%)		
Moderado	123 (63.4%)	17 (58.6%)	106 (64.2%)		
Mal	41 (21.1%)	7 (24.1%)	34 (20.6%)		
Invasión vascular:				0.887	131
No	80 (61.1%)	13 (65.0%)	67 (60.4%)		
Sí	51 (38.9%)	7 (35.0%)	44 (39.6%)		
Infiltración linfoide:				0.062	75
No	28 (37.3%)	8 (61.5%)	20 (32.3%)		
Sí	47 (62.7%)	5 (38.5%)	42 (67.7%)		
Tumor mucinoso:				0.550	137
No	102 (74.5%)	18 (81.8%)	84 (73.0%)		
Sí	35 (25.5%)	4 (18.2%)	31 (27.0%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	204
No	188 (92.2%)	28 (93.3%)	160 (92.0%)		
Sí	16 (7.84%)	2 (6.67%)	14 (8.05%)		



-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos N=106	Pos++ N=84	p.overall	N
Histología:						1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	19 (100%)	28 (100%)	105 (99.1%)	84 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (0.94%)	0 (0.00%)		
Resección R0:						1.000	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (1.89%)	2 (2.38%)		
Sí	233 (98.3%)	19 (100%)	28 (100%)	104 (98.1%)	82 (97.6%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.36 (2.15)	5.42 (1.78)	4.46 (1.88)	4.85 (1.92)	0.099	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	69.4 (46.2)	55.9 (40.8)	69.8 (46.4)	70.6 (45.0)	0.588	209
Grado de diferenciación:						0.282	226
Bien	35 (15.5%)	5 (26.3%)	3 (11.5%)	16 (15.7%)	11 (13.9%)		
Moderado	146 (64.6%)	8 (42.1%)	17 (65.4%)	64 (62.7%)	57 (72.2%)		
Mal	45 (19.9%)	6 (31.6%)	6 (23.1%)	22 (21.6%)	11 (13.9%)		
Invasión vascular:						0.957	153
No	99 (64.7%)	10 (66.7%)	10 (58.8%)	46 (65.7%)	33 (64.7%)		
Sí	54 (35.3%)	5 (33.3%)	7 (41.2%)	24 (34.3%)	18 (35.3%)		
Infiltración linfoide:						0.031	90
No	34 (37.8%)	6 (66.7%)	5 (45.5%)	17 (43.6%)	6 (19.4%)		
Sí	56 (62.2%)	3 (33.3%)	6 (54.5%)	22 (56.4%)	25 (80.6%)		
Tumor mucinoso:						0.101	158
No	117 (74.1%)	8 (53.3%)	18 (90.0%)	54 (72.0%)	37 (77.1%)		
Sí	41 (25.9%)	7 (46.7%)	2 (10.0%)	21 (28.0%)	11 (22.9%)		
Estudio de IHQ de IMS:						1.000	237
No	217 (91.6%)	18 (94.7%)	26 (92.9%)	96 (90.6%)	77 (91.7%)		
Sí	20 (8.44%)	1 (5.26%)	2 (7.14%)	10 (9.43%)	7 (8.33%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos + Pos++ N=190	p.overall	N
Histología:					1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	19 (100%)	28 (100%)	189 (99.5%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (0.53%)		
Resección R0:					1.000	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	4 (2.11%)		
Sí	233 (98.3%)	19 (100%)	28 (100%)	186 (97.9%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.36 (2.15)	5.42 (1.78)	4.63 (1.90)	0.113	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	69.4 (46.2)	55.9 (40.8)	70.1 (45.7)	0.383	209
Grado de diferenciación:					0.241	226
Bien	35 (15.5%)	5 (26.3%)	3 (11.5%)	27 (14.9%)		
Moderado	146 (64.6%)	8 (42.1%)	17 (65.4%)	121 (66.9%)		
Mal	45 (19.9%)	6 (31.6%)	6 (23.1%)	33 (18.2%)		
Invasión vascular:					0.860	153
No	99 (64.7%)	10 (66.7%)	10 (58.8%)	79 (65.3%)		
Sí	54 (35.3%)	5 (33.3%)	7 (41.2%)	42 (34.7%)		
Infiltración linfoide:					0.108	90
No	34 (37.8%)	6 (66.7%)	5 (45.5%)	23 (32.9%)		
Sí	56 (62.2%)	3 (33.3%)	6 (54.5%)	47 (67.1%)		
Tumor mucinoso:					0.059	158
No	117 (74.1%)	8 (53.3%)	18 (90.0%)	91 (74.0%)		
Sí	41 (25.9%)	7 (46.7%)	2 (10.0%)	32 (26.0%)		
Estudio de IHQ de IMS:					1.000	237
No	217 (91.6%)	18 (94.7%)	26 (92.9%)	173 (91.1%)		
Sí	20 (8.44%)	1 (5.26%)	2 (7.14%)	17 (8.95%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos N=106	Pos++ N=84	p. overall	N
Histología:					1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	47 (100%)	105 (99.1%)	84 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (0.94%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					0.829	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	2 (1.89%)	2 (2.38%)		
Sí	233 (98.3%)	47 (100%)	104 (98.1%)	82 (97.6%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.97 (2.00)	4.46 (1.88)	4.85 (1.92)	0.229	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	62.0 (43.3)	69.8 (46.4)	70.6 (45.0)	0.592	209
Grado de diferenciación:					0.380	226
Bien	35 (15.5%)	8 (17.8%)	16 (15.7%)	11 (13.9%)		
Moderado	146 (64.6%)	25 (55.6%)	64 (62.7%)	57 (72.2%)		
Mal	45 (19.9%)	12 (26.7%)	22 (21.6%)	11 (13.9%)		
Invasión vascular:					0.952	153
No	99 (64.7%)	20 (62.5%)	46 (65.7%)	33 (64.7%)		
Sí	54 (35.3%)	12 (37.5%)	24 (34.3%)	18 (35.3%)		
Infiltración linfoide:					0.023	90
No	34 (37.8%)	11 (55.0%)	17 (43.6%)	6 (19.4%)		
Sí	56 (62.2%)	9 (45.0%)	22 (56.4%)	25 (80.6%)		
Tumor mucinoso:					0.821	158
No	117 (74.1%)	26 (74.3%)	54 (72.0%)	37 (77.1%)		
Sí	41 (25.9%)	9 (25.7%)	21 (28.0%)	11 (22.9%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.911	237
No	217 (91.6%)	44 (93.6%)	96 (90.6%)	77 (91.7%)		
Sí	20 (8.44%)	3 (6.38%)	10 (9.43%)	7 (8.33%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos + Pos++ N=190	p. overall	N
Histología:				1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	47 (100%)	189 (99.5%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (0.53%)		
Resección R0:				0.587	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	4 (2.11%)		
Sí	233 (98.3%)	47 (100%)	186 (97.9%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.97 (2.00)	4.63 (1.90)	0.320	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	62.0 (43.3)	70.1 (45.7)	0.295	209
Grado de diferenciación:				0.335	226
Bien	35 (15.5%)	8 (17.8%)	27 (14.9%)		
Moderado	146 (64.6%)	25 (55.6%)	121 (66.9%)		
Mal	45 (19.9%)	12 (26.7%)	33 (18.2%)		
Invasión vascular:				0.932	153
No	99 (64.7%)	20 (62.5%)	79 (65.3%)		
Sí	54 (35.3%)	12 (37.5%)	42 (34.7%)		
Infiltración linfoide:				0.124	90
No	34 (37.8%)	11 (55.0%)	23 (32.9%)		
Sí	56 (62.2%)	9 (45.0%)	47 (67.1%)		
Tumor mucinoso:				1.000	158
No	117 (74.1%)	26 (74.3%)	91 (74.0%)		
Sí	41 (25.9%)	9 (25.7%)	32 (26.0%)		
Estudio de IHQ de IMS:				0.772	237
No	217 (91.6%)	44 (93.6%)	173 (91.1%)		
Sí	20 (8.44%)	3 (6.38%)	17 (8.95%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos N=134	Pos++ N=84	p.overall	N
Histología:					1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	19 (100%)	133 (99.3%)	84 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (0.75%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					0.743	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	2 (1.49%)	2 (2.38%)		
Sí	233 (98.3%)	19 (100%)	132 (98.5%)	82 (97.6%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.36 (2.15)	4.65 (1.89)	4.85 (1.92)	0.553	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	69.4 (46.2)	67.3 (45.6)	70.6 (45.0)	0.887	209
Grado de diferenciación:					0.126	226
Bien	35 (15.5%)	5 (26.3%)	19 (14.8%)	11 (13.9%)		
Moderado	146 (64.6%)	8 (42.1%)	81 (63.3%)	57 (72.2%)		
Mal	45 (19.9%)	6 (31.6%)	28 (21.9%)	11 (13.9%)		
Invasión vascular:					0.985	153
No	99 (64.7%)	10 (66.7%)	56 (64.4%)	33 (64.7%)		
Sí	54 (35.3%)	5 (33.3%)	31 (35.6%)	18 (35.3%)		
Infiltración linfoide:					0.012	90
No	34 (37.8%)	6 (66.7%)	22 (44.0%)	6 (19.4%)		
Sí	56 (62.2%)	3 (33.3%)	28 (56.0%)	25 (80.6%)		
Tumor mucinoso:					0.178	158
No	117 (74.1%)	8 (53.3%)	72 (75.8%)	37 (77.1%)		
Sí	41 (25.9%)	7 (46.7%)	23 (24.2%)	11 (22.9%)		
Estudio de IHQ de IMS:					1.000	237
No	217 (91.6%)	18 (94.7%)	122 (91.0%)	77 (91.7%)		
Sí	20 (8.44%)	1 (5.26%)	12 (8.96%)	7 (8.33%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos + Pos++ N=218	p.overall	N
Histología:				1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	19 (100%)	217 (99.5%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (0.46%)		
Resección R0:				1.000	237
No	4 (1.69%)	0 (0.00%)	4 (1.83%)		
Sí	233 (98.3%)	19 (100%)	214 (98.2%)		
Tamaño tumoral	4.70 (1.92)	4.36 (2.15)	4.73 (1.90)	0.484	229
Margen de resección	68.6 (45.2)	69.4 (46.2)	68.5 (45.3)	0.934	209
Grado de diferenciación:				0.084	226
Bien	35 (15.5%)	5 (26.3%)	30 (14.5%)		
Moderado	146 (64.6%)	8 (42.1%)	138 (66.7%)		
Mal	45 (19.9%)	6 (31.6%)	39 (18.8%)		
Invasión vascular:				1.000	153
No	99 (64.7%)	10 (66.7%)	89 (64.5%)		
Sí	54 (35.3%)	5 (33.3%)	49 (35.5%)		
Infiltración linfoide:				0.077	90
No	34 (37.8%)	6 (66.7%)	28 (34.6%)		
Sí	56 (62.2%)	3 (33.3%)	53 (65.4%)		
Tumor mucinoso:				0.067	158
No	117 (74.1%)	8 (53.3%)	109 (76.2%)		
Sí	41 (25.9%)	7 (46.7%)	34 (23.8%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	237
No	217 (91.6%)	18 (94.7%)	199 (91.3%)		
Sí	20 (8.44%)	1 (5.26%)	19 (8.72%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos N=7	p.overall	N
Histología:					0.249	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	178 (100%)	51 (98.1%)	7 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					1.000	237
No	4 (1.69%)	3 (1.69%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
Sí	233 (98.3%)	175 (98.3%)	51 (98.1%)	7 (100%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.62 (1.95)	4.92 (1.82)	4.67 (2.14)	0.628	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	65.8 (43.0)	76.4 (51.4)	94.2 (53.7)	0.149	210
Grado de diferenciación:					0.220	227
Bien	35 (15.4%)	24 (14.1%)	10 (20.0%)	1 (14.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	107 (62.9%)	35 (70.0%)	4 (57.1%)		
Mal	46 (20.3%)	39 (22.9%)	5 (10.0%)	2 (28.6%)		
Invasión vascular:					0.503	154
No	100 (64.9%)	74 (62.2%)	23 (74.2%)	3 (75.0%)		
Sí	54 (35.1%)	45 (37.8%)	8 (25.8%)	1 (25.0%)		
Infiltración linfoide:					0.874	91
No	34 (37.4%)	27 (39.1%)	7 (33.3%)	0 (0.00%)		
Sí	57 (62.6%)	42 (60.9%)	14 (66.7%)	1 (100%)		
Tumor mucinoso:					0.069	159
No	118 (74.2%)	82 (69.5%)	32 (86.5%)	4 (100%)		
Sí	41 (25.8%)	36 (30.5%)	5 (13.5%)	0 (0.00%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.884	237
No	217 (91.6%)	163 (91.6%)	47 (90.4%)	7 (100%)		
Sí	20 (8.44%)	15 (8.43%)	5 (9.62%)	0 (0.00%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos + Pos++ N=7	p.overall	N
Histología:					0.249	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	178 (100%)	51 (98.1%)	7 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
Resección R0:					1.000	237
No	4 (1.69%)	3 (1.69%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
Sí	233 (98.3%)	175 (98.3%)	51 (98.1%)	7 (100%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.62 (1.95)	4.92 (1.82)	4.67 (2.14)	0.628	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	65.8 (43.0)	76.4 (51.4)	94.2 (53.7)	0.149	210
Grado de diferenciación:					0.220	227
Bien	35 (15.4%)	24 (14.1%)	10 (20.0%)	1 (14.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	107 (62.9%)	35 (70.0%)	4 (57.1%)		
Mal	46 (20.3%)	39 (22.9%)	5 (10.0%)	2 (28.6%)		
Invasión vascular:					0.503	154
No	100 (64.9%)	74 (62.2%)	23 (74.2%)	3 (75.0%)		
Sí	54 (35.1%)	45 (37.8%)	8 (25.8%)	1 (25.0%)		
Infiltración linfoide:					0.874	91
No	34 (37.4%)	27 (39.1%)	7 (33.3%)	0 (0.00%)		
Sí	57 (62.6%)	42 (60.9%)	14 (66.7%)	1 (100%)		
Tumor mucinoso:					0.069	159
No	118 (74.2%)	82 (69.5%)	32 (86.5%)	4 (100%)		
Sí	41 (25.8%)	36 (30.5%)	5 (13.5%)	0 (0.00%)		
Estudio de IHQ de IMS:					0.884	237
No	217 (91.6%)	163 (91.6%)	47 (90.4%)	7 (100%)		
Sí	20 (8.44%)	15 (8.43%)	5 (9.62%)	0 (0.00%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos N=7	p.overall	N
Histología:				1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	229 (99.6%)	7 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	1 (0.43%)	0 (0.00%)		
Resección R0:				1.000	237
No	4 (1.69%)	4 (1.74%)	0 (0.00%)		
Sí	233 (98.3%)	226 (98.3%)	7 (100%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.69 (1.92)	4.67 (2.14)	0.981	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	68.2 (45.1)	94.2 (53.7)	0.291	210
Grado de diferenciación:				0.852	227
Bien	35 (15.4%)	34 (15.5%)	1 (14.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	142 (64.5%)	4 (57.1%)		
Mal	46 (20.3%)	44 (20.0%)	2 (28.6%)		
Invasión vascular:				1.000	154
No	100 (64.9%)	97 (64.7%)	3 (75.0%)		
Sí	54 (35.1%)	53 (35.3%)	1 (25.0%)		
Infiltración linfoide:				1.000	91
No	34 (37.4%)	34 (37.8%)	0 (0.00%)		
Sí	57 (62.6%)	56 (62.2%)	1 (100%)		
Tumor mucinoso:				0.573	159
No	118 (74.2%)	114 (73.5%)	4 (100%)		
Sí	41 (25.8%)	41 (26.5%)	0 (0.00%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	237
No	217 (91.6%)	210 (91.3%)	7 (100%)		
Sí	20 (8.44%)	20 (8.70%)	0 (0.00%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos + Pos++ N=7	p.overall	N
Histología:				1.000	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	229 (99.6%)	7 (100%)		
Otros	1 (0.42%)	1 (0.43%)	0 (0.00%)		
Resección R0:				1.000	237
No	4 (1.69%)	4 (1.74%)	0 (0.00%)		
Sí	233 (98.3%)	226 (98.3%)	7 (100%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.69 (1.92)	4.67 (2.14)	0.981	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	68.2 (45.1)	94.2 (53.7)	0.291	210
Grado de diferenciación:				0.852	227
Bien	35 (15.4%)	34 (15.5%)	1 (14.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	142 (64.5%)	4 (57.1%)		
Mal	46 (20.3%)	44 (20.0%)	2 (28.6%)		
Invasión vascular:				1.000	154
No	100 (64.9%)	97 (64.7%)	3 (75.0%)		
Sí	54 (35.1%)	53 (35.3%)	1 (25.0%)		
Infiltración linfoide:				1.000	91
No	34 (37.4%)	34 (37.8%)	0 (0.00%)		
Sí	57 (62.6%)	56 (62.2%)	1 (100%)		
Tumor mucinoso:				0.573	159
No	118 (74.2%)	114 (73.5%)	4 (100%)		
Sí	41 (25.8%)	41 (26.5%)	0 (0.00%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	237
No	217 (91.6%)	210 (91.3%)	7 (100%)		
Sí	20 (8.44%)	20 (8.70%)	0 (0.00%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos N=59	p.overall	N
Histología:				0.249	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	178 (100%)	58 (98.3%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (1.69%)		
Resección R0:				1.000	237
No	4 (1.69%)	3 (1.69%)	1 (1.69%)		
Sí	233 (98.3%)	175 (98.3%)	58 (98.3%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.62 (1.95)	4.89 (1.83)	0.345	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	65.8 (43.0)	78.5 (51.4)	0.116	210
Grado de diferenciación:				0.189	227
Bien	35 (15.4%)	24 (14.1%)	11 (19.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	107 (62.9%)	39 (68.4%)		
Mal	46 (20.3%)	39 (22.9%)	7 (12.3%)		
Invasión vascular:				0.264	154
No	100 (64.9%)	74 (62.2%)	26 (74.3%)		
Sí	54 (35.1%)	45 (37.8%)	9 (25.7%)		
Infiltración linfoide:				0.716	91
No	34 (37.4%)	27 (39.1%)	7 (31.8%)		
Sí	57 (62.6%)	42 (60.9%)	15 (68.2%)		
Tumor mucinoso:				0.036	159
No	118 (74.2%)	82 (69.5%)	36 (87.8%)		
Sí	41 (25.8%)	36 (30.5%)	5 (12.2%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	237
No	217 (91.6%)	163 (91.6%)	54 (91.5%)		
Sí	20 (8.44%)	15 (8.43%)	5 (8.47%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos + Pos++ N=59	p.overall	N
Histología:				0.249	237
Adenocarcinoma	236 (99.6%)	178 (100%)	58 (98.3%)		
Otros	1 (0.42%)	0 (0.00%)	1 (1.69%)		
Resección R0:				1.000	237
No	4 (1.69%)	3 (1.69%)	1 (1.69%)		
Sí	233 (98.3%)	175 (98.3%)	58 (98.3%)		
Tamaño tumoral	4.69 (1.92)	4.62 (1.95)	4.89 (1.83)	0.345	229
Margen de resección	68.9 (45.4)	65.8 (43.0)	78.5 (51.4)	0.116	210
Grado de diferenciación:				0.189	227
Bien	35 (15.4%)	24 (14.1%)	11 (19.3%)		
Moderado	146 (64.3%)	107 (62.9%)	39 (68.4%)		
Mal	46 (20.3%)	39 (22.9%)	7 (12.3%)		
Invasión vascular:				0.264	154
No	100 (64.9%)	74 (62.2%)	26 (74.3%)		
Sí	54 (35.1%)	45 (37.8%)	9 (25.7%)		
Infiltración linfoide:				0.716	91
No	34 (37.4%)	27 (39.1%)	7 (31.8%)		
Sí	57 (62.6%)	42 (60.9%)	15 (68.2%)		
Tumor mucinoso:				0.036	159
No	118 (74.2%)	82 (69.5%)	36 (87.8%)		
Sí	41 (25.8%)	36 (30.5%)	5 (12.2%)		
Estudio de IHQ de IMS:				1.000	237
No	217 (91.6%)	163 (91.6%)	54 (91.5%)		
Sí	20 (8.44%)	15 (8.43%)	5 (8.47%)		

**ANEXO VII: TABLAS APARTADO 5.4.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL TIPO DE TRATAMIENTO ADMINISTRADO AL PACIENTE CON CCR Y LA RESPUESTA AL MISMO.**

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos N=99	Pos++ N=24	p.overall	N
Tratamiento resectivo: quirúrgico	204 (100%)	30 (100%)	51 (100%)	99 (100%)	24 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:						0.126	204
No	176 (86.3%)	29 (96.7%)	45 (88.2%)	80 (80.8%)	22 (91.7%)		
Sí	28 (13.7%)	1 (3.33%)	6 (11.8%)	19 (19.2%)	2 (8.33%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:						0.354	204
No TTO	176 (86.3%)	29 (96.7%)	45 (88.2%)	80 (80.8%)	22 (91.7%)		
RT	3 (1.47%)	0 (0.00%)	1 (1.96%)	1 (1.01%)	1 (4.17%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (2.02%)	0 (0.00%)		
RT+QT	23 (11.3%)	1 (3.33%)	5 (9.80%)	16 (16.2%)	1 (4.17%)		
Respuesta parcial:						0.678	26
No	6 (23.1%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	5 (29.4%)	0 (0.00%)		
No procede	7 (26.9%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	6 (35.3%)	0 (0.00%)		
Sí	13 (50.0%)	1 (100%)	4 (66.7%)	6 (35.3%)	2 (100%)		
Respuesta completa:						0.346	26
No	25 (96.2%)	1 (100%)	5 (83.3%)	17 (100%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.85%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:						0.168	204
No	122 (59.8%)	18 (60.0%)	35 (68.6%)	52 (52.5%)	17 (70.8%)		
Sí	82 (40.2%)	12 (40.0%)	16 (31.4%)	47 (47.5%)	7 (29.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:						.	204
No TTO	122 (59.8%)	18 (60.0%)	35 (68.6%)	52 (52.5%)	17 (70.8%)		
RT	5 (2.45%)	1 (3.33%)	1 (1.96%)	1 (1.01%)	2 (8.33%)		
QT	63 (30.9%)	10 (33.3%)	10 (19.6%)	40 (40.4%)	3 (12.5%)		
RT+QT	14 (6.86%)	1 (3.33%)	5 (9.80%)	6 (6.06%)	2 (8.33%)		
Quimioterapia paliativa:						0.080	204
No	172 (84.3%)	26 (86.7%)	46 (90.2%)	77 (77.8%)	23 (95.8%)		
Sí	32 (15.7%)	4 (13.3%)	5 (9.80%)	22 (22.2%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int N=51	Pos + Pos++ N=123	p.overall	N
Tratamiento resectivo: quirúrgico	204 (100%)	30 (100%)	51 (100%)	123 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:					0.130	204
No	176 (86.3%)	29 (96.7%)	45 (88.2%)	102 (82.9%)		
Sí	28 (13.7%)	1 (3.33%)	6 (11.8%)	21 (17.1%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.630	204
No TTO	176 (86.3%)	29 (96.7%)	45 (88.2%)	102 (82.9%)		
RT	3 (1.47%)	0 (0.00%)	1 (1.96%)	2 (1.63%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (1.63%)		
RT+QT	23 (11.3%)	1 (3.33%)	5 (9.80%)	17 (13.8%)		
Respuesta parcial:					0.857	26
No	6 (23.1%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	5 (26.3%)		
No procede	7 (26.9%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	6 (31.6%)		
Sí	13 (50.0%)	1 (100%)	4 (66.7%)	8 (42.1%)		
Respuesta completa:					0.269	26
No	25 (96.2%)	1 (100%)	5 (83.3%)	19 (100%)		
Sí	1 (3.85%)	0 (0.00%)	1 (16.7%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.308	204
No	122 (59.8%)	18 (60.0%)	35 (68.6%)	69 (56.1%)		
Sí	82 (40.2%)	12 (40.0%)	16 (31.4%)	54 (43.9%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.443	204
No TTO	122 (59.8%)	18 (60.0%)	35 (68.6%)	69 (56.1%)		
RT	5 (2.45%)	1 (3.33%)	1 (1.96%)	3 (2.44%)		
QT	63 (30.9%)	10 (33.3%)	10 (19.6%)	43 (35.0%)		
RT+QT	14 (6.86%)	1 (3.33%)	5 (9.80%)	8 (6.50%)		
Quimioterapia paliativa:					0.336	204
No	172 (84.3%)	26 (86.7%)	46 (90.2%)	100 (81.3%)		
Sí	32 (15.7%)	4 (13.3%)	5 (9.80%)	23 (18.7%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos N=99	Pos++ N=24	p.overall	N
Tratamiento resectivo: Quirúrgico	204 (100%)	81 (100%)	99 (100%)	24 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:					0.118	204
No	176 (86.3%)	74 (91.4%)	80 (80.8%)	22 (91.7%)		
Sí	28 (13.7%)	7 (8.64%)	19 (19.2%)	2 (8.33%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.166	204
No TTO	176 (86.3%)	74 (91.4%)	80 (80.8%)	22 (91.7%)		
RT	3 (1.47%)	1 (1.23%)	1 (1.01%)	1 (4.17%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	2 (2.02%)	0 (0.00%)		
RT+QT	23 (11.3%)	6 (7.41%)	16 (16.2%)	1 (4.17%)		
Respuesta parcial:					0.405	26
No	6 (23.1%)	1 (14.3%)	5 (29.4%)	0 (0.00%)		
No procede	7 (26.9%)	1 (14.3%)	6 (35.3%)	0 (0.00%)		
Sí	13 (50.0%)	5 (71.4%)	6 (35.3%)	2 (100%)		
Respuesta completa:					0.346	26
No	25 (96.2%)	6 (85.7%)	17 (100%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.85%)	1 (14.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.107	204
No	122 (59.8%)	53 (65.4%)	52 (52.5%)	17 (70.8%)		
Sí	82 (40.2%)	28 (34.6%)	47 (47.5%)	7 (29.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.033	204
No TTO	122 (59.8%)	53 (65.4%)	52 (52.5%)	17 (70.8%)		
RT	5 (2.45%)	2 (2.47%)	1 (1.01%)	2 (8.33%)		
QT	63 (30.9%)	20 (24.7%)	40 (40.4%)	3 (12.5%)		
RT+QT	14 (6.86%)	6 (7.41%)	6 (6.06%)	2 (8.33%)		
Quimioterapia paliativa:					0.036	204
No	172 (84.3%)	72 (88.9%)	77 (77.8%)	23 (95.8%)		
Sí	32 (15.7%)	9 (11.1%)	22 (22.2%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=204	Neg + Int N=81	Pos + Pos++ N=123	p.overall	N
Tratamiento resectivo: Quirúrgico	204 (100%)	81 (100%)	123 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:				0.132	204
No	176 (86.3%)	74 (91.4%)	102 (82.9%)		
Sí	28 (13.7%)	7 (8.64%)	21 (17.1%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.333	204
No TTO	176 (86.3%)	74 (91.4%)	102 (82.9%)		
RT	3 (1.47%)	1 (1.23%)	2 (1.63%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	2 (1.63%)		
RT+QT	23 (11.3%)	6 (7.41%)	17 (13.8%)		
Respuesta parcial:				0.521	26
No	6 (23.1%)	1 (14.3%)	5 (26.3%)		
No procede	7 (26.9%)	1 (14.3%)	6 (31.6%)		
Sí	13 (50.0%)	5 (71.4%)	8 (42.1%)		
Respuesta completa:				0.269	26
No	25 (96.2%)	6 (85.7%)	19 (100%)		
Sí	1 (3.85%)	1 (14.3%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				0.236	204
No	122 (59.8%)	53 (65.4%)	69 (56.1%)		
Sí	82 (40.2%)	28 (34.6%)	54 (43.9%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.465	204
No TTO	122 (59.8%)	53 (65.4%)	69 (56.1%)		
RT	5 (2.45%)	2 (2.47%)	3 (2.44%)		
QT	63 (30.9%)	20 (24.7%)	43 (35.0%)		
RT+QT	14 (6.86%)	6 (7.41%)	8 (6.50%)		
Quimioterapia paliativa:				0.207	204
No	172 (84.3%)	72 (88.9%)	100 (81.3%)		
Sí	32 (15.7%)	9 (11.1%)	23 (18.7%)		



-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos N=150	Pos++ N=24	p.overall	N
Tratamiento resectivo: Quirúrgico	204 (100%)	30 (100%)	150 (100%)	24 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:					0.116	204
No	176 (86.3%)	29 (96.7%)	125 (83.3%)	22 (91.7%)		
Sí	28 (13.7%)	1 (3.33%)	25 (16.7%)	2 (8.33%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.336	204
No TTO	176 (86.3%)	29 (96.7%)	125 (83.3%)	22 (91.7%)		
RT	3 (1.47%)	0 (0.00%)	2 (1.33%)	1 (4.17%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	2 (1.33%)	0 (0.00%)		
RT+QT	23 (11.3%)	1 (3.33%)	21 (14.0%)	1 (4.17%)		
Respuesta parcial:					0.740	26
No	6 (23.1%)	0 (0.00%)	6 (26.1%)	0 (0.00%)		
No procede	7 (26.9%)	0 (0.00%)	7 (30.4%)	0 (0.00%)		
Sí	13 (50.0%)	1 (100%)	10 (43.5%)	2 (100%)		
Respuesta completa:					1.000	26
No	25 (96.2%)	1 (100%)	22 (95.7%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.85%)	0 (0.00%)	1 (4.35%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.492	204
No	122 (59.8%)	18 (60.0%)	87 (58.0%)	17 (70.8%)		
Sí	82 (40.2%)	12 (40.0%)	63 (42.0%)	7 (29.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.143	204
No TTO	122 (59.8%)	18 (60.0%)	87 (58.0%)	17 (70.8%)		
RT	5 (2.45%)	1 (3.33%)	2 (1.33%)	2 (8.33%)		
QT	63 (30.9%)	10 (33.3%)	50 (33.3%)	3 (12.5%)		
RT+QT	14 (6.86%)	1 (3.33%)	11 (7.33%)	2 (8.33%)		
Quimioterapia paliativa:					0.232	204
No	172 (84.3%)	26 (86.7%)	123 (82.0%)	23 (95.8%)		
Sí	32 (15.7%)	4 (13.3%)	27 (18.0%)	1 (4.17%)		

-----Summary descriptives table by 'SANO\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=204	Neg N=30	Int + Pos + Pos++ N=174	p.overall	N
Tratamiento resectivo: Quirúrgico	204 (100%)	30 (100%)	174 (100%)	.	204
Tratamiento neoadyuvante:				0.087	204
No	176 (86.3%)	29 (96.7%)	147 (84.5%)		
Sí	28 (13.7%)	1 (3.33%)	27 (15.5%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.452	204
No TTO	176 (86.3%)	29 (96.7%)	147 (84.5%)		
RT	3 (1.47%)	0 (0.00%)	3 (1.72%)		
QT	2 (0.98%)	0 (0.00%)	2 (1.15%)		
RT+QT	23 (11.3%)	1 (3.33%)	22 (12.6%)		
Respuesta parcial:				1.000	26
No	6 (23.1%)	0 (0.00%)	6 (24.0%)		
No procede	7 (26.9%)	0 (0.00%)	7 (28.0%)		
Sí	13 (50.0%)	1 (100%)	12 (48.0%)		
Respuesta completa:				1.000	26
No	25 (96.2%)	1 (100%)	24 (96.0%)		
Sí	1 (3.85%)	0 (0.00%)	1 (4.00%)		
Tratamiento adyuvante:				1.000	204
No	122 (59.8%)	18 (60.0%)	104 (59.8%)		
Sí	82 (40.2%)	12 (40.0%)	70 (40.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.805	204
No TTO	122 (59.8%)	18 (60.0%)	104 (59.8%)		
RT	5 (2.45%)	1 (3.33%)	4 (2.30%)		
QT	63 (30.9%)	10 (33.3%)	53 (30.5%)		
RT+QT	14 (6.86%)	1 (3.33%)	13 (7.47%)		
Quimioterapia paliativa:				1.000	204
No	172 (84.3%)	26 (86.7%)	146 (83.9%)		
Sí	32 (15.7%)	4 (13.3%)	28 (16.1%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos N=106	Pos++ N=84	p.overall	N
Tratamiento resectivo:						0.504	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (2.83%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	19 (100%)	28 (100%)	103 (97.2%)	84 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:						0.304	237
No	204 (86.1%)	17 (89.5%)	26 (92.9%)	86 (81.1%)	75 (89.3%)		
Sí	33 (13.9%)	2 (10.5%)	2 (7.14%)	20 (18.9%)	9 (10.7%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:						0.760	237
No TTO	204 (86.1%)	17 (89.5%)	26 (92.9%)	86 (81.1%)	75 (89.3%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1 (0.94%)	1 (1.19%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (2.83%)	0 (0.00%)		
RT+QT	28 (11.8%)	2 (10.5%)	2 (7.14%)	16 (15.1%)	8 (9.52%)		
Respuesta parcial:						0.563	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	5 (29.4%)	1 (11.1%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (17.6%)	4 (44.4%)		
Sí	17 (56.7%)	2 (100%)	2 (100%)	9 (52.9%)	4 (44.4%)		
Respuesta completa:						0.133	30
No	29 (96.7%)	1 (50.0%)	2 (100%)	17 (100%)	9 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (50.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:						0.721	237
No	136 (57.4%)	13 (68.4%)	17 (60.7%)	60 (56.6%)	46 (54.8%)		
Sí	101 (42.6%)	6 (31.6%)	11 (39.3%)	46 (43.4%)	38 (45.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:						.	237
No TTO	136 (57.4%)	13 (68.4%)	17 (60.7%)	60 (56.6%)	46 (54.8%)		
RT	6 (2.53%)	0 (0.00%)	1 (3.57%)	1 (0.94%)	4 (4.76%)		
QT	77 (32.5%)	6 (31.6%)	9 (32.1%)	38 (35.8%)	24 (28.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	0 (0.00%)	1 (3.57%)	7 (6.60%)	10 (11.9%)		
Quimioterapia paliativa:						0.482	237
No	199 (84.0%)	18 (94.7%)	22 (78.6%)	90 (84.9%)	69 (82.1%)		
Sí	38 (16.0%)	1 (5.26%)	6 (21.4%)	16 (15.1%)	15 (17.9%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int N=28	Pos + Pos++ N=190	p.overall	N
Tratamiento resectivo:					1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (1.58%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	19 (100%)	28 (100%)	187 (98.4%)		
Tratamiento neoadyuvante:					0.609	237
No	204 (86.1%)	17 (89.5%)	26 (92.9%)	161 (84.7%)		
Sí	33 (13.9%)	2 (10.5%)	2 (7.14%)	29 (15.3%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.938	237
No TTO	204 (86.1%)	17 (89.5%)	26 (92.9%)	161 (84.7%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (1.05%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	3 (1.58%)		
RT+QT	28 (11.8%)	2 (10.5%)	2 (7.14%)	24 (12.6%)		
Respuesta parcial:					1.000	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	6 (23.1%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	7 (26.9%)		
Sí	17 (56.7%)	2 (100%)	2 (100%)	13 (50.0%)		
Respuesta completa:					0.133	30
No	29 (96.7%)	1 (50.0%)	2 (100%)	26 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (50.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.530	237
No	136 (57.4%)	13 (68.4%)	17 (60.7%)	106 (55.8%)		
Sí	101 (42.6%)	6 (31.6%)	11 (39.3%)	84 (44.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.826	237
No TTO	136 (57.4%)	13 (68.4%)	17 (60.7%)	106 (55.8%)		
RT	6 (2.53%)	0 (0.00%)	1 (3.57%)	5 (2.63%)		
QT	77 (32.5%)	6 (31.6%)	9 (32.1%)	62 (32.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	0 (0.00%)	1 (3.57%)	17 (8.95%)		
Quimioterapia paliativa:					0.306	237
No	199 (84.0%)	18 (94.7%)	22 (78.6%)	159 (83.7%)		
Sí	38 (16.0%)	1 (5.26%)	6 (21.4%)	31 (16.3%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos N=106	Pos++ N=84	p.overall	N
Tratamiento resectivo:					0.308	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (2.83%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	47 (100%)	103 (97.2%)	84 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:					0.133	237
No	204 (86.1%)	43 (91.5%)	86 (81.1%)	75 (89.3%)		
Sí	33 (13.9%)	4 (8.51%)	20 (18.9%)	9 (10.7%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.458	237
No TTO	204 (86.1%)	43 (91.5%)	86 (81.1%)	75 (89.3%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	1 (0.94%)	1 (1.19%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (2.83%)	0 (0.00%)		
RT+QT	28 (11.8%)	4 (8.51%)	16 (15.1%)	8 (9.52%)		
Respuesta parcial:					0.253	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	5 (29.4%)	1 (11.1%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	3 (17.6%)	4 (44.4%)		
Sí	17 (56.7%)	4 (100%)	9 (52.9%)	4 (44.4%)		
Respuesta completa:					0.133	30
No	29 (96.7%)	3 (75.0%)	17 (100%)	9 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (25.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.588	237
No	136 (57.4%)	30 (63.8%)	60 (56.6%)	46 (54.8%)		
Sí	101 (42.6%)	17 (36.2%)	46 (43.4%)	38 (45.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.254	237
No TTO	136 (57.4%)	30 (63.8%)	60 (56.6%)	46 (54.8%)		
RT	6 (2.53%)	1 (2.13%)	1 (0.94%)	4 (4.76%)		
QT	77 (32.5%)	15 (31.9%)	38 (35.8%)	24 (28.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	1 (2.13%)	7 (6.60%)	10 (11.9%)		
Quimioterapia paliativa:					0.851	237
No	199 (84.0%)	40 (85.1%)	90 (84.9%)	69 (82.1%)		
Sí	38 (16.0%)	7 (14.9%)	16 (15.1%)	15 (17.9%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=47	Pos + Pos++ N=190	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (1.58%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	47 (100%)	187 (98.4%)		
Tratamiento neoadyuvante:				0.336	237
No	204 (86.1%)	43 (91.5%)	161 (84.7%)		
Sí	33 (13.9%)	4 (8.51%)	29 (15.3%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.874	237
No TTO	204 (86.1%)	43 (91.5%)	161 (84.7%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	2 (1.05%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (1.58%)		
RT+QT	28 (11.8%)	4 (8.51%)	24 (12.6%)		
Respuesta parcial:				0.365	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	6 (23.1%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	7 (26.9%)		
Sí	17 (56.7%)	4 (100%)	13 (50.0%)		
Respuesta completa:				0.133	30
No	29 (96.7%)	3 (75.0%)	26 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (25.0%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				0.405	237
No	136 (57.4%)	30 (63.8%)	106 (55.8%)		
Sí	101 (42.6%)	17 (36.2%)	84 (44.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.426	237
No TTO	136 (57.4%)	30 (63.8%)	106 (55.8%)		
RT	6 (2.53%)	1 (2.13%)	5 (2.63%)		
QT	77 (32.5%)	15 (31.9%)	62 (32.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	1 (2.13%)	17 (8.95%)		
Quimioterapia paliativa:				0.987	237
No	199 (84.0%)	40 (85.1%)	159 (83.7%)		
Sí	38 (16.0%)	7 (14.9%)	31 (16.3%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos N=134	Pos++ N=84	p.overall	N
Tratamiento resectivo:					0.445	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (2.24%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	19 (100%)	131 (97.8%)	84 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:					0.478	237
No	204 (86.1%)	17 (89.5%)	112 (83.6%)	75 (89.3%)		
Sí	33 (13.9%)	2 (10.5%)	22 (16.4%)	9 (10.7%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.763	237
No TTO	204 (86.1%)	17 (89.5%)	112 (83.6%)	75 (89.3%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	1 (0.75%)	1 (1.19%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (2.24%)	0 (0.00%)		
RT+QT	28 (11.8%)	2 (10.5%)	18 (13.4%)	8 (9.52%)		
Respuesta parcial:					0.447	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	5 (26.3%)	1 (11.1%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	3 (15.8%)	4 (44.4%)		
Sí	17 (56.7%)	2 (100%)	11 (57.9%)	4 (44.4%)		
Respuesta completa:					0.067	30
No	29 (96.7%)	1 (50.0%)	19 (100%)	9 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (50.0%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.554	237
No	136 (57.4%)	13 (68.4%)	77 (57.5%)	46 (54.8%)		
Sí	101 (42.6%)	6 (31.6%)	57 (42.5%)	38 (45.2%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.331	237
No TTO	136 (57.4%)	13 (68.4%)	77 (57.5%)	46 (54.8%)		
RT	6 (2.53%)	0 (0.00%)	2 (1.49%)	4 (4.76%)		
QT	77 (32.5%)	6 (31.6%)	47 (35.1%)	24 (28.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	0 (0.00%)	8 (5.97%)	10 (11.9%)		
Quimioterapia paliativa:					0.497	237
No	199 (84.0%)	18 (94.7%)	112 (83.6%)	69 (82.1%)		
Sí	38 (16.0%)	1 (5.26%)	22 (16.4%)	15 (17.9%)		

-----Summary descriptives table by 'PERITUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=19	Int + Pos + Pos++ N=218	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (1.38%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	19 (100%)	215 (98.6%)		
Tratamiento neoadyuvante:				1.000	237
No	204 (86.1%)	17 (89.5%)	187 (85.8%)		
Sí	33 (13.9%)	2 (10.5%)	31 (14.2%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				1.000	237
No TTO	204 (86.1%)	17 (89.5%)	187 (85.8%)		
RT	2 (0.84%)	0 (0.00%)	2 (0.92%)		
QT	3 (1.27%)	0 (0.00%)	3 (1.38%)		
RT+QT	28 (11.8%)	2 (10.5%)	26 (11.9%)		
Respuesta parcial:				1.000	30
No	6 (20.0%)	0 (0.00%)	6 (21.4%)		
No procede	7 (23.3%)	0 (0.00%)	7 (25.0%)		
Sí	17 (56.7%)	2 (100%)	15 (53.6%)		
Respuesta completa:				0.067	30
No	29 (96.7%)	1 (50.0%)	28 (100%)		
Sí	1 (3.33%)	1 (50.0%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				0.440	237
No	136 (57.4%)	13 (68.4%)	123 (56.4%)		
Sí	101 (42.6%)	6 (31.6%)	95 (43.6%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.711	237
No TTO	136 (57.4%)	13 (68.4%)	123 (56.4%)		
RT	6 (2.53%)	0 (0.00%)	6 (2.75%)		
QT	77 (32.5%)	6 (31.6%)	71 (32.6%)		
RT+QT	18 (7.59%)	0 (0.00%)	18 (8.26%)		
Quimioterapia paliativa:				0.325	237
No	199 (84.0%)	18 (94.7%)	181 (83.0%)		
Sí	38 (16.0%)	1 (5.26%)	37 (17.0%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_Estándar'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos N=7	p.overall	N
Tratamiento resectivo:					1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	175 (98.3%)	52 (100%)	7 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:					0.249	237
No	205 (86.5%)	153 (86.0%)	47 (90.4%)	5 (71.4%)		
Sí	32 (13.5%)	25 (14.0%)	5 (9.62%)	2 (28.6%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.376	237
No TTO	205 (86.5%)	153 (86.0%)	47 (90.4%)	5 (71.4%)		
RT	2 (0.84%)	1 (0.56%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	21 (11.8%)	4 (7.69%)	2 (28.6%)		
Respuesta parcial:					0.749	29
No	6 (20.7%)	5 (22.7%)	1 (20.0%)	0 (0.00%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (27.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	11 (50.0%)	4 (80.0%)	2 (100%)		
Respuesta completa:					1.000	29
No	28 (96.6%)	21 (95.5%)	5 (100%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (4.55%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.332	237
No	136 (57.4%)	102 (57.3%)	28 (53.8%)	6 (85.7%)		
Sí	101 (42.6%)	76 (42.7%)	24 (46.2%)	1 (14.3%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.489	237
No TTO	136 (57.4%)	102 (57.3%)	28 (53.8%)	6 (85.7%)		
RT	6 (2.53%)	5 (2.81%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
QT	77 (32.5%)	58 (32.6%)	19 (36.5%)	0 (0.00%)		
RT+QT	18 (7.59%)	13 (7.30%)	4 (7.69%)	1 (14.3%)		
Quimioterapia paliativa:					0.160	237
No	199 (84.0%)	145 (81.5%)	48 (92.3%)	6 (85.7%)		
Sí	38 (16.0%)	33 (18.5%)	4 (7.69%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int N=52	Pos + Pos++ N=7	p.overall	N
Tratamiento resectivo:					1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	175 (98.3%)	52 (100%)	7 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:					0.249	237
No	205 (86.5%)	153 (86.0%)	47 (90.4%)	5 (71.4%)		
Sí	32 (13.5%)	25 (14.0%)	5 (9.62%)	2 (28.6%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:					0.376	237
No TTO	205 (86.5%)	153 (86.0%)	47 (90.4%)	5 (71.4%)		
RT	2 (0.84%)	1 (0.56%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	21 (11.8%)	4 (7.69%)	2 (28.6%)		
Respuesta parcial:					0.749	29
No	6 (20.7%)	5 (22.7%)	1 (20.0%)	0 (0.00%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (27.3%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	11 (50.0%)	4 (80.0%)	2 (100%)		
Respuesta completa:					1.000	29
No	28 (96.6%)	21 (95.5%)	5 (100%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (4.55%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:					0.332	237
No	136 (57.4%)	102 (57.3%)	28 (53.8%)	6 (85.7%)		
Sí	101 (42.6%)	76 (42.7%)	24 (46.2%)	1 (14.3%)		
Tipo tratamiento adyuvante:					0.489	237
No TTO	136 (57.4%)	102 (57.3%)	28 (53.8%)	6 (85.7%)		
RT	6 (2.53%)	5 (2.81%)	1 (1.92%)	0 (0.00%)		
QT	77 (32.5%)	58 (32.6%)	19 (36.5%)	0 (0.00%)		
RT+QT	18 (7.59%)	13 (7.30%)	4 (7.69%)	1 (14.3%)		
Quimioterapia paliativa:					0.160	237
No	199 (84.0%)	145 (81.5%)	48 (92.3%)	6 (85.7%)		
Sí	38 (16.0%)	33 (18.5%)	4 (7.69%)	1 (14.3%)		

-----summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT2'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos N=7	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.30%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	227 (98.7%)	7 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:				0.241	237
No	205 (86.5%)	200 (87.0%)	5 (71.4%)		
Sí	32 (13.5%)	30 (13.0%)	2 (28.6%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.304	237
No TTO	205 (86.5%)	200 (87.0%)	5 (71.4%)		
RT	2 (0.84%)	2 (0.87%)	0 (0.00%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.30%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	25 (10.9%)	2 (28.6%)		
Respuesta parcial:				1.000	29
No	6 (20.7%)	6 (22.2%)	0 (0.00%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (22.2%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	15 (55.6%)	2 (100%)		
Respuesta completa:				1.000	29
No	28 (96.6%)	26 (96.3%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (3.70%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				0.244	237
No	136 (57.4%)	130 (56.5%)	6 (85.7%)		
Sí	101 (42.6%)	100 (43.5%)	1 (14.3%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.154	237
No TTO	136 (57.4%)	130 (56.5%)	6 (85.7%)		
RT	6 (2.53%)	6 (2.61%)	0 (0.00%)		
QT	77 (32.5%)	77 (33.5%)	0 (0.00%)		
RT+QT	18 (7.59%)	17 (7.39%)	1 (14.3%)		
Quimioterapia paliativa:				1.000	237
No	199 (84.0%)	193 (83.9%)	6 (85.7%)		
Sí	38 (16.0%)	37 (16.1%)	1 (14.3%)		

-----summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT3'-----

	[ALL] N=237	Neg + Int N=230	Pos + Pos++ N=7	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				1.000	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.30%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	227 (98.7%)	7 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:				0.241	237
No	205 (86.5%)	200 (87.0%)	5 (71.4%)		
Sí	32 (13.5%)	30 (13.0%)	2 (28.6%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.304	237
No TTO	205 (86.5%)	200 (87.0%)	5 (71.4%)		
RT	2 (0.84%)	2 (0.87%)	0 (0.00%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.30%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	25 (10.9%)	2 (28.6%)		
Respuesta parcial:				1.000	29
No	6 (20.7%)	6 (22.2%)	0 (0.00%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (22.2%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	15 (55.6%)	2 (100%)		
Respuesta completa:				1.000	29
No	28 (96.6%)	26 (96.3%)	2 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (3.70%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				0.244	237
No	136 (57.4%)	130 (56.5%)	6 (85.7%)		
Sí	101 (42.6%)	100 (43.5%)	1 (14.3%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.154	237
No TTO	136 (57.4%)	130 (56.5%)	6 (85.7%)		
RT	6 (2.53%)	6 (2.61%)	0 (0.00%)		
QT	77 (32.5%)	77 (33.5%)	0 (0.00%)		
RT+QT	18 (7.59%)	17 (7.39%)	1 (14.3%)		
Quimioterapia paliativa:				1.000	237
No	199 (84.0%)	193 (83.9%)	6 (85.7%)		
Sí	38 (16.0%)	37 (16.1%)	1 (14.3%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT4'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos N=59	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				0.576	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	175 (98.3%)	59 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:				0.838	237
No	205 (86.5%)	153 (86.0%)	52 (88.1%)		
Sí	32 (13.5%)	25 (14.0%)	7 (11.9%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.631	237
No TTO	205 (86.5%)	153 (86.0%)	52 (88.1%)		
RT	2 (0.84%)	1 (0.56%)	1 (1.69%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	21 (11.8%)	6 (10.2%)		
Respuesta parcial:				0.261	29
No	6 (20.7%)	5 (22.7%)	1 (14.3%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (27.3%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	11 (50.0%)	6 (85.7%)		
Respuesta completa:				1.000	29
No	28 (96.6%)	21 (95.5%)	7 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (4.55%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				1.000	237
No	136 (57.4%)	102 (57.3%)	34 (57.6%)		
Sí	101 (42.6%)	76 (42.7%)	25 (42.4%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.980	237
No TTO	136 (57.4%)	102 (57.3%)	34 (57.6%)		
RT	6 (2.53%)	5 (2.81%)	1 (1.69%)		
QT	77 (32.5%)	58 (32.6%)	19 (32.2%)		
RT+QT	18 (7.59%)	13 (7.30%)	5 (8.47%)		
Quimioterapia paliativa:				0.105	237
No	199 (84.0%)	145 (81.5%)	54 (91.5%)		
Sí	38 (16.0%)	33 (18.5%)	5 (8.47%)		

-----Summary descriptives table by 'TUMORAL\_IHQ\_CAT5'-----

	[ALL] N=237	Neg N=178	Int + Pos + Pos++ N=59	p.overall	N
Tratamiento resectivo:				0.576	237
Endoscópico	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)		
Quirúrgico	234 (98.7%)	175 (98.3%)	59 (100%)		
Tratamiento neoadyuvante:				0.838	237
No	205 (86.5%)	153 (86.0%)	52 (88.1%)		
Sí	32 (13.5%)	25 (14.0%)	7 (11.9%)		
Tipo tratamiento neoadyuvante:				0.631	237
No TTO	205 (86.5%)	153 (86.0%)	52 (88.1%)		
RT	2 (0.84%)	1 (0.56%)	1 (1.69%)		
QT	3 (1.27%)	3 (1.69%)	0 (0.00%)		
RT+QT	27 (11.4%)	21 (11.8%)	6 (10.2%)		
Respuesta parcial:				0.261	29
No	6 (20.7%)	5 (22.7%)	1 (14.3%)		
No procede	6 (20.7%)	6 (27.3%)	0 (0.00%)		
Sí	17 (58.6%)	11 (50.0%)	6 (85.7%)		
Respuesta completa:				1.000	29
No	28 (96.6%)	21 (95.5%)	7 (100%)		
Sí	1 (3.45%)	1 (4.55%)	0 (0.00%)		
Tratamiento adyuvante:				1.000	237
No	136 (57.4%)	102 (57.3%)	34 (57.6%)		
Sí	101 (42.6%)	76 (42.7%)	25 (42.4%)		
Tipo tratamiento adyuvante:				0.980	237
No TTO	136 (57.4%)	102 (57.3%)	34 (57.6%)		
RT	6 (2.53%)	5 (2.81%)	1 (1.69%)		
QT	77 (32.5%)	58 (32.6%)	19 (32.2%)		
RT+QT	18 (7.59%)	13 (7.30%)	5 (8.47%)		
Quimioterapia paliativa:				0.105	237
No	199 (84.0%)	145 (81.5%)	54 (91.5%)		
Sí	38 (16.0%)	33 (18.5%)	5 (8.47%)		

**ANEXO VIII: TABLAS APARTADO 5.4.3.1. RECURRENCIA CCR**

-----Summary descriptives table by 'Recurrencia'-----

	[ALL] N=197	No event N=149	Event N=48	HR	p. overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.844	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.4%)	7 (14.6%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	37 (24.8%)	12 (25.0%)	1.10 [0.43; 2.80]		
Pos	96 (48.7%)	72 (48.3%)	24 (50.0%)	1.39 [0.60; 3.25]		
Pos++	22 (11.2%)	17 (11.4%)	5 (10.4%)	1.18 [0.37; 3.74]		
SANO_IHQ_CAT:					0.705	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.4%)	7 (14.6%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	37 (24.8%)	12 (25.0%)	1.10 [0.43; 2.80]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	89 (59.7%)	29 (60.4%)	1.35 [0.59; 3.10]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.674	197
Neg + Int	79 (40.1%)	60 (40.3%)	19 (39.6%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	72 (48.3%)	24 (50.0%)	1.31 [0.72; 2.40]		
Pos++	22 (11.2%)	17 (11.4%)	5 (10.4%)	1.12 [0.42; 2.99]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.415	197
Neg + Int	79 (40.1%)	60 (40.3%)	19 (39.6%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	89 (59.7%)	29 (60.4%)	1.27 [0.71; 2.28]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.836	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.4%)	7 (14.6%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	109 (73.2%)	36 (75.0%)	1.28 [0.57; 2.88]		
Pos++	22 (11.2%)	17 (11.4%)	5 (10.4%)	1.18 [0.37; 3.74]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.566	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.4%)	7 (14.6%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	126 (84.6%)	41 (85.4%)	1.27 [0.57; 2.83]		

-----Summary descriptives table by 'Recurrencia'-----

	[ALL] N=224	No event N=168	Event N=56	HR	p. overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.544	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.33%)	2 (3.57%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (12.5%)	7 (12.5%)	2.13 [0.44; 10.2]		
Pos	101 (45.1%)	75 (44.6%)	26 (46.4%)	2.53 [0.60; 10.7]		
Pos++	79 (35.3%)	58 (34.5%)	21 (37.5%)	2.73 [0.64; 11.6]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.355	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.33%)	2 (3.57%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (12.5%)	7 (12.5%)	2.13 [0.44; 10.2]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	133 (79.2%)	47 (83.9%)	2.61 [0.63; 10.8]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.477	224
Neg + Int	44 (19.6%)	35 (20.8%)	9 (16.1%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	75 (44.6%)	26 (46.4%)	1.49 [0.70; 3.18]		
Pos++	79 (35.3%)	58 (34.5%)	21 (37.5%)	1.60 [0.73; 3.51]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.235	224
Neg + Int	44 (19.6%)	35 (20.8%)	9 (16.1%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	133 (79.2%)	47 (83.9%)	1.54 [0.75; 3.14]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.373	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.33%)	2 (3.57%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	96 (57.1%)	33 (58.9%)	2.43 [0.58; 10.1]		
Pos++	79 (35.3%)	58 (34.5%)	21 (37.5%)	2.72 [0.64; 11.6]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.180	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.33%)	2 (3.57%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	154 (91.7%)	54 (96.4%)	2.54 [0.62; 10.4]		



-----Summary descriptives table by 'Recurrencia'-----

	[ALL] N=224	No event N=168	Event N=56	HR	p. overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.043	224
Neg	168 (75.0%)	119 (70.8%)	49 (87.5%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	43 (25.6%)	7 (12.5%)	0.43 [0.19;0.94]		
Pos	6 (2.68%)	6 (3.57%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;. ]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.043	224
Neg	168 (75.0%)	119 (70.8%)	49 (87.5%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	43 (25.6%)	7 (12.5%)	0.43 [0.19;0.94]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (3.57%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;. ]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.224	224
Neg + Int	218 (97.3%)	162 (96.4%)	56 (100%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	6 (3.57%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;. ]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.224	224
Neg + Int	218 (97.3%)	162 (96.4%)	56 (100%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (3.57%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;. ]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.015	224
Neg	168 (75.0%)	119 (70.8%)	49 (87.5%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	49 (29.2%)	7 (12.5%)	0.39 [0.18;0.85]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.015	224
Neg	168 (75.0%)	119 (70.8%)	49 (87.5%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	49 (29.2%)	7 (12.5%)	0.39 [0.18;0.85]		

#### **ANEXO IX: TABLAS APARTADO 5.4.3.2. PROGRESIÓN CCR**

-----Summary descriptives table by 'Progresión'-----

	[ALL] N=197	No event N=159	Event N=38	HR	p. overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.208	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.4%)	4 (10.5%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	43 (27.0%)	6 (15.8%)	0.93 [0.26;3.29]		
Pos	96 (48.7%)	72 (45.3%)	24 (63.2%)	2.09 [0.72;6.02]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.3%)	4 (10.5%)	1.49 [0.37;5.96]		
SANO_IHQ_CAT:					0.131	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.4%)	4 (10.5%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	43 (27.0%)	6 (15.8%)	0.93 [0.26;3.29]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	90 (56.6%)	28 (73.7%)	1.98 [0.69;5.63]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.103	197
Neg + Int	79 (40.1%)	69 (43.4%)	10 (26.3%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	72 (45.3%)	24 (63.2%)	2.19 [1.05;4.58]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.3%)	4 (10.5%)	1.56 [0.49;4.98]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.044	197
Neg + Int	79 (40.1%)	69 (43.4%)	10 (26.3%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	90 (56.6%)	28 (73.7%)	2.07 [1.00;4.26]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.623	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.4%)	4 (10.5%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	115 (72.3%)	30 (78.9%)	1.67 [0.59;4.74]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.3%)	4 (10.5%)	1.49 [0.37;5.96]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.343	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.4%)	4 (10.5%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	133 (83.6%)	34 (89.5%)	1.65 [0.58;4.64]		

-----Summary descriptives table by 'Progresión'-----

	[ALL] N=224	No event N=180	Event N=44	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar :					0.421	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.78%)	2 (4.55%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (11.7%)	7 (15.9%)	2.07 [0.43; 9.96]		
Pos	101 (45.1%)	85 (47.2%)	16 (36.4%)	1.35 [0.31; 5.88]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.3%)	19 (43.2%)	2.16 [0.50; 9.28]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT :					0.650	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.78%)	2 (4.55%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (11.7%)	7 (15.9%)	2.07 [0.43; 9.96]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	145 (80.6%)	35 (79.5%)	1.70 [0.41; 7.06]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2 :					0.376	224
Neg + Int	44 (19.6%)	35 (19.4%)	9 (20.5%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	85 (47.2%)	16 (36.4%)	0.81 [0.36; 1.83]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.3%)	19 (43.2%)	1.29 [0.58; 2.86]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3 :					0.971	224
Neg + Int	44 (19.6%)	35 (19.4%)	9 (20.5%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	145 (80.6%)	35 (79.5%)	1.01 [0.49; 2.11]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4 :					0.367	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.78%)	2 (4.55%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	106 (58.9%)	23 (52.3%)	1.51 [0.36; 6.42]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.3%)	19 (43.2%)	2.16 [0.50; 9.28]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5 :					0.432	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.78%)	2 (4.55%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	166 (92.2%)	42 (95.5%)	1.75 [0.42; 7.23]		

-----Summary descriptives table by 'Progresión'-----

	[ALL] N=224	No event N=180	Event N=44	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar :					0.310	224
Neg	168 (75.0%)	131 (72.8%)	37 (84.1%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	44 (24.4%)	6 (13.6%)	0.52 [0.22; 1.22]		
Pos	6 (2.68%)	5 (2.78%)	1 (2.27%)	0.85 [0.12; 6.18]		
TUMORAL_IHQ_CAT :					0.310	224
Neg	168 (75.0%)	131 (72.8%)	37 (84.1%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	44 (24.4%)	6 (13.6%)	0.52 [0.22; 1.22]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	5 (2.78%)	1 (2.27%)	0.85 [0.12; 6.18]		
TUMORAL_IHQ_CAT2 :					0.971	224
Neg + Int	218 (97.3%)	175 (97.2%)	43 (97.7%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	5 (2.78%)	1 (2.27%)	0.96 [0.13; 6.96]		
TUMORAL_IHQ_CAT3 :					0.971	224
Neg + Int	218 (97.3%)	175 (97.2%)	43 (97.7%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	5 (2.78%)	1 (2.27%)	0.96 [0.13; 6.96]		
TUMORAL_IHQ_CAT4 :					0.138	224
Neg	168 (75.0%)	131 (72.8%)	37 (84.1%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	49 (27.2%)	7 (15.9%)	0.55 [0.24; 1.23]		
TUMORAL_IHQ_CAT5 :					0.138	224
Neg	168 (75.0%)	131 (72.8%)	37 (84.1%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	49 (27.2%)	7 (15.9%)	0.55 [0.24; 1.23]		

**ANEXO X: TABLAS APARTADO 5.4.3.3.1. MORTALIDAD POR TODAS LAS CAUSAS 1AÑO**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=176	Event N=21	HR	p. overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.480	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.9%)	2 (9.52%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	46 (26.1%)	3 (14.3%)	0.92 [0.15; 5.52]		
Pos	96 (48.7%)	83 (47.2%)	13 (61.9%)	2.09 [0.47; 9.24]		
Pos++	22 (11.2%)	19 (10.8%)	3 (14.3%)	2.07 [0.35; 12.4]		
SANO_IHQ_CAT:					0.290	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.9%)	2 (9.52%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	46 (26.1%)	3 (14.3%)	0.92 [0.15; 5.52]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	102 (58.0%)	16 (76.2%)	2.08 [0.48; 9.06]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.291	197
Neg + Int	79 (40.1%)	74 (42.0%)	5 (23.8%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	83 (47.2%)	13 (61.9%)	2.19 [0.78; 6.14]		
Pos++	22 (11.2%)	19 (10.8%)	3 (14.3%)	2.18 [0.52; 9.11]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.116	197
Neg + Int	79 (40.1%)	74 (42.0%)	5 (23.8%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	102 (58.0%)	16 (76.2%)	2.19 [0.80; 5.97]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.709	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.9%)	2 (9.52%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	129 (73.3%)	16 (76.2%)	1.69 [0.39; 7.34]		
Pos++	22 (11.2%)	19 (10.8%)	3 (14.3%)	2.07 [0.35; 12.4]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.451	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.9%)	2 (9.52%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	148 (84.1%)	19 (90.5%)	1.74 [0.40; 7.46]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=202	Event N=22	HR	p. overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.548	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.43%)	1 (4.55%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	27 (13.4%)	1 (4.55%)	0.58 [0.04; 9.23]		
Pos	101 (45.1%)	91 (45.0%)	10 (45.5%)	1.63 [0.21; 12.7]		
Pos++	79 (35.3%)	69 (34.2%)	10 (45.5%)	2.11 [0.27; 16.5]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.420	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.43%)	1 (4.55%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	27 (13.4%)	1 (4.55%)	0.58 [0.04; 9.23]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	160 (79.2%)	20 (90.9%)	1.84 [0.25; 13.7]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.359	224
Neg + Int	44 (19.6%)	42 (20.8%)	2 (9.09%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	91 (45.0%)	10 (45.5%)	2.23 [0.49; 10.2]		
Pos++	79 (35.3%)	69 (34.2%)	10 (45.5%)	2.89 [0.63; 13.2]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.197	224
Neg + Int	44 (19.6%)	42 (20.8%)	2 (9.09%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	160 (79.2%)	20 (90.9%)	2.52 [0.59; 10.8]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.553	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.43%)	1 (4.55%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	118 (58.4%)	11 (50.0%)	1.40 [0.18; 10.8]		
Pos++	79 (35.3%)	69 (34.2%)	10 (45.5%)	2.11 [0.27; 16.5]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.614	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.43%)	1 (4.55%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	187 (92.6%)	21 (95.5%)	1.67 [0.22; 12.4]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=202	Event N=22	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.097	224
Neg	168 (75.0%)	153 (75.7%)	15 (68.2%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	45 (22.3%)	5 (22.7%)	1.12 [0.41;3.09]		
Pos	6 (2.68%)	4 (1.98%)	2 (9.09%)	4.50 [1.03;19.7]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.097	224
Neg	168 (75.0%)	153 (75.7%)	15 (68.2%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	45 (22.3%)	5 (22.7%)	1.12 [0.41;3.09]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (1.98%)	2 (9.09%)	4.50 [1.03;19.7]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.032	224
Neg + Int	218 (97.3%)	198 (98.0%)	20 (90.9%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	4 (1.98%)	2 (9.09%)	4.37 [1.02;18.7]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.032	224
Neg + Int	218 (97.3%)	198 (98.0%)	20 (90.9%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (1.98%)	2 (9.09%)	4.37 [1.02;18.7]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.434	224
Neg	168 (75.0%)	153 (75.7%)	15 (68.2%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	49 (24.3%)	7 (31.8%)	1.43 [0.58;3.51]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.434	224
Neg	168 (75.0%)	153 (75.7%)	15 (68.2%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	49 (24.3%)	7 (31.8%)	1.43 [0.58;3.51]		

#### **ANEXO XI: TABLAS APARTADO 5.4.3.3.1. MORTALIDAD POR TODAS LAS CAUSAS 5 AÑOS**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=125	Event N=72	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.261	197
Neg	30 (15.2%)	22 (17.6%)	8 (11.1%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	34 (27.2%)	15 (20.8%)	1.14 [0.48;2.69]		
Pos	96 (48.7%)	55 (44.0%)	41 (56.9%)	1.82 [0.85;3.87]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (11.2%)	8 (11.1%)	1.45 [0.54;3.87]		
SANO_IHQ_CAT:					0.164	197
Neg	30 (15.2%)	22 (17.6%)	8 (11.1%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	34 (27.2%)	15 (20.8%)	1.14 [0.48;2.69]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	69 (55.2%)	49 (68.1%)	1.74 [0.83;3.68]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.140	197
Neg + Int	79 (40.1%)	56 (44.8%)	23 (31.9%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	55 (44.0%)	41 (56.9%)	1.67 [1.00;2.78]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (11.2%)	8 (11.1%)	1.33 [0.60;2.98]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.060	197
Neg + Int	79 (40.1%)	56 (44.8%)	23 (31.9%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	69 (55.2%)	49 (68.1%)	1.60 [0.98;2.63]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.487	197
Neg	30 (15.2%)	22 (17.6%)	8 (11.1%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	89 (71.2%)	56 (77.8%)	1.57 [0.75;3.29]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (11.2%)	8 (11.1%)	1.45 [0.54;3.87]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.237	197
Neg	30 (15.2%)	22 (17.6%)	8 (11.1%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	103 (82.4%)	64 (88.9%)	1.55 [0.74;3.24]		

-----summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=140	Event N=84	HR	p. overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.463	224
Neg	16 (7.14%)	13 (9.29%)	3 (3.57%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	18 (12.9%)	10 (11.9%)	2.04 [0.56;7.42]		
Pos	101 (45.1%)	62 (44.3%)	39 (46.4%)	2.39 [0.74;7.74]		
Pos++	79 (35.3%)	47 (33.6%)	32 (38.1%)	2.46 [0.75;8.03]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.279	224
Neg	16 (7.14%)	13 (9.29%)	3 (3.57%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	18 (12.9%)	10 (11.9%)	2.04 [0.56;7.42]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	109 (77.9%)	71 (84.5%)	2.42 [0.76;7.69]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.434	224
Neg + Int	44 (19.6%)	31 (22.1%)	13 (15.5%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	62 (44.3%)	39 (46.4%)	1.45 [0.77;2.72]		
Pos++	79 (35.3%)	47 (33.6%)	32 (38.1%)	1.49 [0.78;2.84]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.198	224
Neg + Int	44 (19.6%)	31 (22.1%)	13 (15.5%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	109 (77.9%)	71 (84.5%)	1.47 [0.81;2.66]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.307	224
Neg	16 (7.14%)	13 (9.29%)	3 (3.57%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	80 (57.1%)	49 (58.3%)	2.31 [0.72;7.41]		
Pos++	79 (35.3%)	47 (33.6%)	32 (38.1%)	2.46 [0.75;8.03]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.131	224
Neg	16 (7.14%)	13 (9.29%)	3 (3.57%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	127 (90.7%)	81 (96.4%)	2.37 [0.75;7.49]		

-----summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=140	Event N=84	HR	p. overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.848	224
Neg	168 (75.0%)	103 (73.6%)	65 (77.4%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	33 (23.6%)	17 (20.2%)	0.86 [0.50;1.46]		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.86%)	2 (2.38%)	0.99 [0.24;4.04]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.848	224
Neg	168 (75.0%)	103 (73.6%)	65 (77.4%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	33 (23.6%)	17 (20.2%)	0.86 [0.50;1.46]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.86%)	2 (2.38%)	0.99 [0.24;4.04]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.976	224
Neg + Int	218 (97.3%)	136 (97.1%)	82 (97.6%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.86%)	2 (2.38%)	1.02 [0.25;4.16]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.976	224
Neg + Int	218 (97.3%)	136 (97.1%)	82 (97.6%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.86%)	2 (2.38%)	1.02 [0.25;4.16]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.586	224
Neg	168 (75.0%)	103 (73.6%)	65 (77.4%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	37 (26.4%)	19 (22.6%)	0.87 [0.52;1.45]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.586	224
Neg	168 (75.0%)	103 (73.6%)	65 (77.4%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	37 (26.4%)	19 (22.6%)	0.87 [0.52;1.45]		

**ANEXO XII: TABLAS APARTADO 5.4.3.3.1. MORTALIDAD POR TODAS LAS CAUSAS TOTAL SEGUIMIENTO**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=106	Event N=91	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.246	197
Neg	30 (15.2%)	17 (16.0%)	13 (14.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	27 (25.5%)	22 (24.2%)	1.14 [0.57; 2.27]		
Pos	96 (48.7%)	48 (45.3%)	48 (52.7%)	1.66 [0.89; 3.09]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (13.2%)	8 (8.79%)	1.07 [0.44; 2.58]		
SANO_IHQ_CAT:					0.271	197
Neg	30 (15.2%)	17 (16.0%)	13 (14.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	27 (25.5%)	22 (24.2%)	1.14 [0.57; 2.26]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	62 (58.5%)	56 (61.5%)	1.53 [0.83; 2.82]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.134	197
Neg + Int	79 (40.1%)	44 (41.5%)	35 (38.5%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	48 (45.3%)	48 (52.7%)	1.53 [0.98; 2.38]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (13.2%)	8 (8.79%)	0.98 [0.46; 2.12]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.114	197
Neg + Int	79 (40.1%)	44 (41.5%)	35 (38.5%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	62 (58.5%)	56 (61.5%)	1.41 [0.92; 2.17]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.390	197
Neg	30 (15.2%)	17 (16.0%)	13 (14.3%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	75 (70.8%)	70 (76.9%)	1.44 [0.79; 2.62]		
Pos++	22 (11.2%)	14 (13.2%)	8 (8.79%)	1.06 [0.44; 2.56]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.278	197
Neg	30 (15.2%)	17 (16.0%)	13 (14.3%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	89 (84.0%)	78 (85.7%)	1.39 [0.77; 2.51]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=120	Event N=104	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.125	224
Neg	16 (7.14%)	13 (10.8%)	3 (2.88%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	11 (9.17%)	17 (16.3%)	3.78 [1.11; 12.9]		
Pos	101 (45.1%)	56 (46.7%)	45 (43.3%)	3.29 [1.02; 10.6]		
Pos++	79 (35.3%)	40 (33.3%)	39 (37.5%)	3.74 [1.15; 12.2]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.068	224
Neg	16 (7.14%)	13 (10.8%)	3 (2.88%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	11 (9.17%)	17 (16.3%)	3.78 [1.11; 12.9]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	96 (80.0%)	84 (80.8%)	3.48 [1.10; 11.1]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.481	224
Neg + Int	44 (19.6%)	24 (20.0%)	20 (19.2%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	56 (46.7%)	45 (43.3%)	1.23 [0.72; 2.09]		
Pos++	79 (35.3%)	40 (33.3%)	39 (37.5%)	1.40 [0.81; 2.41]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.292	224
Neg + Int	44 (19.6%)	24 (20.0%)	20 (19.2%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	96 (80.0%)	84 (80.8%)	1.30 [0.80; 2.13]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.064	224
Neg	16 (7.14%)	13 (10.8%)	3 (2.88%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	67 (55.8%)	62 (59.6%)	3.42 [1.07; 10.9]		
Pos++	79 (35.3%)	40 (33.3%)	39 (37.5%)	3.75 [1.15; 12.2]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.022	224
Neg	16 (7.14%)	13 (10.8%)	3 (2.88%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	107 (89.2%)	101 (97.1%)	3.53 [1.12; 11.2]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_TodasLasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=120	Event N=104	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.513	224
Neg	168 (75.0%)	86 (71.7%)	82 (78.8%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	31 (25.8%)	19 (18.3%)	0.75 [0.45;1.23]		
Pos	6 (2.68%)	3 (2.50%)	3 (2.88%)	1.02 [0.32;3.23]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.513	224
Neg	168 (75.0%)	86 (71.7%)	82 (78.8%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	31 (25.8%)	19 (18.3%)	0.75 [0.45;1.23]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	3 (2.50%)	3 (2.88%)	1.02 [0.32;3.23]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.893	224
Neg + Int	218 (97.3%)	117 (97.5%)	101 (97.1%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	3 (2.50%)	3 (2.88%)	1.08 [0.34;3.42]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.893	224
Neg + Int	218 (97.3%)	117 (97.5%)	101 (97.1%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	3 (2.50%)	3 (2.88%)	1.08 [0.34;3.42]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.288	224
Neg	168 (75.0%)	86 (71.7%)	82 (78.8%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	34 (28.3%)	22 (21.2%)	0.78 [0.48;1.24]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.288	224
Neg	168 (75.0%)	86 (71.7%)	82 (78.8%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	34 (28.3%)	22 (21.2%)	0.78 [0.48;1.24]		

### ANEXO XIII: TABLAS APARTADO 5.4.3.3.2. MORTALIDAD POR CCR 1AÑO

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_CCR'-----

	[ALL] N=197	No event N=190	Event N=7	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.322	197
Neg	30 (15.2%)	30 (15.8%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	48 (25.3%)	1 (14.3%)	52967147 [0.00;.]		
Pos	96 (48.7%)	92 (48.4%)	4 (57.1%)	111698179 [0.00;.]		
Pos++	22 (11.2%)	20 (10.5%)	2 (28.6%)	243432711 [0.00;.]		
SANO_IHQ_CAT:					0.323	197
Neg	30 (15.2%)	30 (15.8%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	48 (25.3%)	1 (14.3%)	43763540 [0.00;.]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	112 (58.9%)	6 (85.7%)	112593777 [0.00;.]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.194	197
Neg + Int	79 (40.1%)	78 (41.1%)	1 (14.3%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	92 (48.4%)	4 (57.1%)	3.40 [0.38;30.4]		
Pos++	22 (11.2%)	20 (10.5%)	2 (28.6%)	7.41 [0.67;81.7]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.153	197
Neg + Int	79 (40.1%)	78 (41.1%)	1 (14.3%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	112 (58.9%)	6 (85.7%)	4.15 [0.50;34.4]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.219	197
Neg	30 (15.2%)	30 (15.8%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	140 (73.7%)	5 (71.4%)	89829840 [0.00;.]		
Pos++	22 (11.2%)	20 (10.5%)	2 (28.6%)	239179907 [0.00;.]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.257	197
Neg	30 (15.2%)	30 (15.8%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	160 (84.2%)	7 (100%)	86046681 [0.00;.]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=217	Event N=7	HR	p. overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar :					0.620	224
Neg	16 (7.14%)	16 (7.37%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	28 (12.9%)	0 (0.00%)	1.00 [0.00;.]		
Pos	101 (45.1%)	97 (44.7%)	4 (57.1%)	95191349 [0.00;.]		
Pos++	79 (35.3%)	76 (35.0%)	3 (42.9%)	93785192 [0.00;.]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.411	224
Neg	16 (7.14%)	16 (7.37%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	28 (12.9%)	0 (0.00%)	1.00 [0.00;.]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	173 (79.7%)	7 (100%)	94579770 [0.00;.]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.411	224
Neg + Int	44 (19.6%)	44 (20.3%)	0 (0.00%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	97 (44.7%)	4 (57.1%)	95195287 [0.00;.]		
Pos++	79 (35.3%)	76 (35.0%)	3 (42.9%)	93789071 [0.00;.]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.182	224
Neg + Int	44 (19.6%)	44 (20.3%)	0 (0.00%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	173 (79.7%)	7 (100%)	94583770 [0.00;.]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.720	224
Neg	16 (7.14%)	16 (7.37%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	125 (57.6%)	4 (57.1%)	25008603 [0.00;.]		
Pos++	79 (35.3%)	76 (35.0%)	3 (42.9%)	31659665 [0.00;.]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.456	224
Neg	16 (7.14%)	16 (7.37%)	0 (0.00%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	201 (92.6%)	7 (100%)	27267839 [0.00;.]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=217	Event N=7	HR	p. overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar :					0.863	224
Neg	168 (75.0%)	163 (75.1%)	5 (71.4%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	48 (22.1%)	2 (28.6%)	1.36 [0.26;7.01]		
Pos	6 (2.68%)	6 (2.76%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.863	224
Neg	168 (75.0%)	163 (75.1%)	5 (71.4%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	48 (22.1%)	2 (28.6%)	1.36 [0.26;7.01]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (2.76%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.694	224
Neg + Int	218 (97.3%)	211 (97.2%)	7 (100%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	6 (2.76%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.694	224
Neg + Int	218 (97.3%)	211 (97.2%)	7 (100%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (2.76%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.797	224
Neg	168 (75.0%)	163 (75.1%)	5 (71.4%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	54 (24.9%)	2 (28.6%)	1.24 [0.24;6.39]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.797	224
Neg	168 (75.0%)	163 (75.1%)	5 (71.4%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	54 (24.9%)	2 (28.6%)	1.24 [0.24;6.39]		



**ANEXO XIV:** TABLAS APARTADO 5.4.3.3.2. MORTALIDAD POR CCR 5 AÑOS

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_CCR'-----

	[ALL] N=197	No event N=158	Event N=39	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.124	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.5%)	4 (10.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	43 (27.2%)	6 (15.4%)	0.91 [0.26; 3.21]		
Pos	96 (48.7%)	71 (44.9%)	25 (64.1%)	2.24 [0.78; 6.43]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.4%)	4 (10.3%)	1.46 [0.37; 5.84]		
SANO_IHQ_CAT:					0.085	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.5%)	4 (10.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	43 (27.2%)	6 (15.4%)	0.91 [0.26; 3.21]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	89 (56.3%)	29 (74.4%)	2.08 [0.73; 5.93]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.057	197
Neg + Int	79 (40.1%)	69 (43.7%)	10 (25.6%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	71 (44.9%)	25 (64.1%)	2.37 [1.14; 4.94]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.4%)	4 (10.3%)	1.55 [0.49; 4.95]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.027	197
Neg + Int	79 (40.1%)	69 (43.7%)	10 (25.6%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	89 (56.3%)	29 (74.4%)	2.21 [1.08; 4.54]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.560	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.5%)	4 (10.3%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	114 (72.2%)	31 (79.5%)	1.74 [0.61; 4.93]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.4%)	4 (10.3%)	1.46 [0.37; 5.84]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.307	197
Neg	30 (15.2%)	26 (16.5%)	4 (10.3%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	132 (83.5%)	35 (89.7%)	1.70 [0.61; 4.80]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=177	Event N=47	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.460	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.47%)	1 (2.13%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (11.9%)	7 (14.9%)	4.29 [0.53; 34.9]		
Pos	101 (45.1%)	81 (45.8%)	20 (42.6%)	3.70 [0.50; 27.6]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.9%)	19 (40.4%)	4.40 [0.59; 32.9]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.320	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.47%)	1 (2.13%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	21 (11.9%)	7 (14.9%)	4.29 [0.53; 34.9]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	141 (79.7%)	39 (83.0%)	4.01 [0.55; 29.2]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.663	224
Neg + Int	44 (19.6%)	36 (20.3%)	8 (17.0%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	81 (45.8%)	20 (42.6%)	1.22 [0.54; 2.76]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.9%)	19 (40.4%)	1.45 [0.63; 3.31]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.473	224
Neg + Int	44 (19.6%)	36 (20.3%)	8 (17.0%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	141 (79.7%)	39 (83.0%)	1.32 [0.62; 2.82]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.290	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.47%)	1 (2.13%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	102 (57.6%)	27 (57.4%)	3.84 [0.52; 28.2]		
Pos++	79 (35.3%)	60 (33.9%)	19 (40.4%)	4.40 [0.59; 32.9]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.133	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.47%)	1 (2.13%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	162 (91.5%)	46 (97.9%)	4.05 [0.56; 29.4]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=177	Event N=47	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.333	224
Neg	168 (75.0%)	129 (72.9%)	39 (83.0%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	42 (23.7%)	8 (17.0%)	0.67 [0.31;1.44]		
Pos	6 (2.68%)	6 (3.39%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.333	224
Neg	168 (75.0%)	129 (72.9%)	39 (83.0%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	42 (23.7%)	8 (17.0%)	0.67 [0.31;1.44]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (3.39%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.292	224
Neg + Int	218 (97.3%)	171 (96.6%)	47 (100%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	6 (3.39%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.292	224
Neg + Int	218 (97.3%)	171 (96.6%)	47 (100%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	6 (3.39%)	0 (0.00%)	0.00 [0.00;.]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.199	224
Neg	168 (75.0%)	129 (72.9%)	39 (83.0%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	48 (27.1%)	8 (17.0%)	0.61 [0.29;1.31]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.199	224
Neg	168 (75.0%)	129 (72.9%)	39 (83.0%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	48 (27.1%)	8 (17.0%)	0.61 [0.29;1.31]		

#### **ANEXO XV: TABLAS APARTADO 5.4.3.3.2. MORTALIDAD POR CCR TOTAL SEGUIMIENTO**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_CCR'-----

	[ALL] N=197	No event N=150	Event N=47	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.093	197
Neg	30 (15.2%)	24 (16.0%)	6 (12.8%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	41 (27.3%)	8 (17.0%)	0.85 [0.30;2.47]		
Pos	96 (48.7%)	67 (44.7%)	29 (61.7%)	1.99 [0.82;4.83]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (12.0%)	4 (8.51%)	1.09 [0.31;3.88]		
SANO_IHQ_CAT:					0.093	197
Neg	30 (15.2%)	24 (16.0%)	6 (12.8%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	41 (27.3%)	8 (17.0%)	0.85 [0.30;2.46]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	85 (56.7%)	33 (70.2%)	1.80 [0.75;4.34]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.042	197
Neg + Int	79 (40.1%)	65 (43.3%)	14 (29.8%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	67 (44.7%)	29 (61.7%)	2.18 [1.15;4.15]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (12.0%)	4 (8.51%)	1.20 [0.39;3.64]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.030	197
Neg + Int	79 (40.1%)	65 (43.3%)	14 (29.8%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	85 (56.7%)	33 (70.2%)	1.98 [1.06;3.72]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.535	197
Neg	30 (15.2%)	24 (16.0%)	6 (12.8%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	108 (72.0%)	37 (78.7%)	1.53 [0.64;3.65]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (12.0%)	4 (8.51%)	1.08 [0.30;3.85]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.376	197
Neg	30 (15.2%)	24 (16.0%)	6 (12.8%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	126 (84.0%)	41 (87.2%)	1.47 [0.62;3.48]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=169	Event N=55	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.203	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.88%)	1 (1.82%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	19 (11.2%)	9 (16.4%)	5.84 [0.74;46.1]		
Pos	101 (45.1%)	79 (46.7%)	22 (40.0%)	4.51 [0.61;33.5]		
Pos++	79 (35.3%)	56 (33.1%)	23 (41.8%)	6.10 [0.82;45.3]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.171	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.88%)	1 (1.82%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	19 (11.2%)	9 (16.4%)	5.84 [0.74;46.1]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	135 (79.9%)	45 (81.8%)	5.20 [0.71;37.8]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.427	224
Neg + Int	44 (19.6%)	34 (20.1%)	10 (18.2%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	79 (46.7%)	22 (40.0%)	1.14 [0.54;2.42]		
Pos++	79 (35.3%)	56 (33.1%)	23 (41.8%)	1.55 [0.73;3.26]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.430	224
Neg + Int	44 (19.6%)	34 (20.1%)	10 (18.2%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	135 (79.9%)	45 (81.8%)	1.32 [0.66;2.62]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.123	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.88%)	1 (1.82%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	98 (58.0%)	31 (56.4%)	4.84 [0.66;35.5]		
Pos++	79 (35.3%)	56 (33.1%)	23 (41.8%)	6.11 [0.82;45.4]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.064	224
Neg	16 (7.14%)	15 (8.88%)	1 (1.82%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	154 (91.1%)	54 (98.2%)	5.30 [0.73;38.4]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_CCR'-----

	[ALL] N=224	No event N=169	Event N=55	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.305	224
Neg	168 (75.0%)	122 (72.2%)	46 (83.6%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	42 (24.9%)	8 (14.5%)	0.57 [0.27;1.20]		
Pos	6 (2.68%)	5 (2.96%)	1 (1.82%)	0.63 [0.09;4.61]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.305	224
Neg	168 (75.0%)	122 (72.2%)	46 (83.6%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	42 (24.9%)	8 (14.5%)	0.57 [0.27;1.20]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	5 (2.96%)	1 (1.82%)	0.63 [0.09;4.61]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.730	224
Neg + Int	218 (97.3%)	164 (97.0%)	54 (98.2%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	5 (2.96%)	1 (1.82%)	0.71 [0.10;5.11]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.730	224
Neg + Int	218 (97.3%)	164 (97.0%)	54 (98.2%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	5 (2.96%)	1 (1.82%)	0.71 [0.10;5.11]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.124	224
Neg	168 (75.0%)	122 (72.2%)	46 (83.6%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	47 (27.8%)	9 (16.4%)	0.57 [0.28;1.17]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.124	224
Neg	168 (75.0%)	122 (72.2%)	46 (83.6%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	47 (27.8%)	9 (16.4%)	0.57 [0.28;1.17]		

**ANEXO XVI: TABLAS MORTALIDAD POR CAUSAS NO RELACIONADAS CON CCR 1AÑO**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=183	Event N=14	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.656	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.3%)	2 (14.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	47 (25.7%)	2 (14.3%)	0.62 [0.09;4.37]		
Pos	96 (48.7%)	87 (47.5%)	9 (64.3%)	1.44 [0.31;6.65]		
Pos++	22 (11.2%)	21 (11.5%)	1 (7.14%)	0.69 [0.06;7.56]		
SANO_IHQ_CAT:					0.608	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.3%)	2 (14.3%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	47 (25.7%)	2 (14.3%)	0.62 [0.09;4.37]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	108 (59.0%)	10 (71.4%)	1.29 [0.28;5.91]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.485	197
Neg + Int	79 (40.1%)	75 (41.0%)	4 (28.6%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	87 (47.5%)	9 (64.3%)	1.89 [0.58;6.12]		
Pos++	22 (11.2%)	21 (11.5%)	1 (7.14%)	0.90 [0.10;8.05]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.363	197
Neg + Int	79 (40.1%)	75 (41.0%)	4 (28.6%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	108 (59.0%)	10 (71.4%)	1.70 [0.53;5.42]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.872	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.3%)	2 (14.3%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	134 (73.2%)	11 (78.6%)	1.16 [0.26;5.22]		
Pos++	22 (11.2%)	21 (11.5%)	1 (7.14%)	0.69 [0.06;7.56]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.906	197
Neg	30 (15.2%)	28 (15.3%)	2 (14.3%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	155 (84.7%)	12 (85.7%)	1.09 [0.24;4.89]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=209	Event N=15	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.775	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.18%)	1 (6.67%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	27 (12.9%)	1 (6.67%)	0.58 [0.04;9.28]		
Pos	101 (45.1%)	95 (45.5%)	6 (40.0%)	0.98 [0.12;8.14]		
Pos++	79 (35.3%)	72 (34.4%)	7 (46.7%)	1.47 [0.18;12.0]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.771	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.18%)	1 (6.67%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	27 (12.9%)	1 (6.67%)	0.58 [0.04;9.28]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	167 (79.9%)	13 (86.7%)	1.20 [0.16;9.14]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.605	224
Neg + Int	44 (19.6%)	42 (20.1%)	2 (13.3%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	95 (45.5%)	6 (40.0%)	1.33 [0.27;6.61]		
Pos++	79 (35.3%)	72 (34.4%)	7 (46.7%)	2.01 [0.42;9.65]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.518	224
Neg + Int	44 (19.6%)	42 (20.1%)	2 (13.3%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	167 (79.9%)	13 (86.7%)	1.63 [0.37;7.21]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.634	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.18%)	1 (6.67%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	122 (58.4%)	7 (46.7%)	0.89 [0.11;7.25]		
Pos++	79 (35.3%)	72 (34.4%)	7 (46.7%)	1.47 [0.18;12.0]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.920	224
Neg	16 (7.14%)	15 (7.18%)	1 (6.67%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	194 (92.8%)	14 (93.3%)	1.11 [0.15;8.45]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_1\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=209	Event N=15	HR	p. overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar :					0.018	224
Neg	168 (75.0%)	158 (75.6%)	10 (66.7%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	47 (22.5%)	3 (20.0%)	1.01 [0.28;3.66]		
Pos	6 (2.68%)	4 (1.91%)	2 (13.3%)	6.56 [1.44;30.0]		
TUMORAL_IHQ_CAT :					0.018	224
Neg	168 (75.0%)	158 (75.6%)	10 (66.7%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	47 (22.5%)	3 (20.0%)	1.01 [0.28;3.66]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (1.91%)	2 (13.3%)	6.56 [1.44;30.0]		
TUMORAL_IHQ_CAT2 :					0.005	224
Neg + Int	218 (97.3%)	205 (98.1%)	13 (86.7%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	4 (1.91%)	2 (13.3%)	6.55 [1.48;29.1]		
TUMORAL_IHQ_CAT3 :					0.005	224
Neg + Int	218 (97.3%)	205 (98.1%)	13 (86.7%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (1.91%)	2 (13.3%)	6.55 [1.48;29.1]		
TUMORAL_IHQ_CAT4 :					0.441	224
Neg	168 (75.0%)	158 (75.6%)	10 (66.7%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	51 (24.4%)	5 (33.3%)	1.52 [0.52;4.46]		
TUMORAL_IHQ_CAT5 :					0.441	224
Neg	168 (75.0%)	158 (75.6%)	10 (66.7%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	51 (24.4%)	5 (33.3%)	1.52 [0.52;4.46]		

## **ANEXO XVII: TABLAS MORTALIDAD POR CAUSAS NO RELACIONADAS CON CCR 5 AÑOS**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=164	Event N=33	HR	p. overall	N
SANO_IHQ_Estándar :					0.939	197
Neg	30 (15.2%)	26 (15.9%)	4 (12.1%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	40 (24.4%)	9 (27.3%)	1.38 [0.43;4.48]		
Pos	96 (48.7%)	80 (48.8%)	16 (48.5%)	1.40 [0.47;4.19]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.0%)	4 (12.1%)	1.44 [0.36;5.76]		
SANO_IHQ_CAT :					0.818	197
Neg	30 (15.2%)	26 (15.9%)	4 (12.1%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	40 (24.4%)	9 (27.3%)	1.38 [0.43;4.48]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	98 (59.8%)	20 (60.6%)	1.41 [0.48;4.12]		
SANO_IHQ_CAT2 :					0.934	197
Neg + Int	79 (40.1%)	66 (40.2%)	13 (39.4%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	80 (48.8%)	16 (48.5%)	1.13 [0.54;2.35]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.0%)	4 (12.1%)	1.17 [0.38;3.58]		
SANO_IHQ_CAT3 :					0.716	197
Neg + Int	79 (40.1%)	66 (40.2%)	13 (39.4%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	98 (59.8%)	20 (60.6%)	1.14 [0.57;2.29]		
SANO_IHQ_CAT4 :					0.817	197
Neg	30 (15.2%)	26 (15.9%)	4 (12.1%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	120 (73.2%)	25 (75.8%)	1.39 [0.48;4.00]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.0%)	4 (12.1%)	1.44 [0.36;5.76]		
SANO_IHQ_CAT5 :					0.527	197
Neg	30 (15.2%)	26 (15.9%)	4 (12.1%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	138 (84.1%)	29 (87.9%)	1.40 [0.49;3.98]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=187	Event N=37	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar :					0.687	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.49%)	2 (5.41%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	25 (13.4%)	3 (8.11%)	0.92 [0.15;5.50]		
Pos	101 (45.1%)	82 (43.9%)	19 (51.4%)	1.73 [0.40;7.43]		
Pos++	79 (35.3%)	66 (35.3%)	13 (35.1%)	1.49 [0.34;6.59]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT :					0.528	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.49%)	2 (5.41%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	25 (13.4%)	3 (8.11%)	0.92 [0.15;5.50]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	148 (79.1%)	32 (86.5%)	1.62 [0.39;6.77]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2 :					0.479	224
Neg + Int	44 (19.6%)	39 (20.9%)	5 (13.5%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	82 (43.9%)	19 (51.4%)	1.82 [0.68;4.88]		
Pos++	79 (35.3%)	66 (35.3%)	13 (35.1%)	1.57 [0.56;4.39]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3 :					0.259	224
Neg + Int	44 (19.6%)	39 (20.9%)	5 (13.5%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	148 (79.1%)	32 (86.5%)	1.71 [0.67;4.38]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4 :					0.839	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.49%)	2 (5.41%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	107 (57.2%)	22 (59.5%)	1.54 [0.36;6.57]		
Pos++	79 (35.3%)	66 (35.3%)	13 (35.1%)	1.49 [0.34;6.59]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5 :					0.561	224
Neg	16 (7.14%)	14 (7.49%)	2 (5.41%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	173 (92.5%)	35 (94.6%)	1.52 [0.37;6.33]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_5\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=187	Event N=37	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar :					0.456	224
Neg	168 (75.0%)	142 (75.9%)	26 (70.3%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	41 (21.9%)	9 (24.3%)	1.13 [0.53;2.41]		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.14%)	2 (5.41%)	2.44 [0.58;10.3]		
TUMORAL_IHQ_CAT :					0.456	224
Neg	168 (75.0%)	142 (75.9%)	26 (70.3%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	41 (21.9%)	9 (24.3%)	1.13 [0.53;2.41]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.14%)	2 (5.41%)	2.44 [0.58;10.3]		
TUMORAL_IHQ_CAT2 :					0.225	224
Neg + Int	218 (97.3%)	183 (97.9%)	35 (94.6%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.14%)	2 (5.41%)	2.36 [0.57;9.83]		
TUMORAL_IHQ_CAT3 :					0.225	224
Neg + Int	218 (97.3%)	183 (97.9%)	35 (94.6%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.14%)	2 (5.41%)	2.36 [0.57;9.83]		
TUMORAL_IHQ_CAT4 :					0.530	224
Neg	168 (75.0%)	142 (75.9%)	26 (70.3%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	45 (24.1%)	11 (29.7%)	1.25 [0.62;2.54]		
TUMORAL_IHQ_CAT5 :					0.530	224
Neg	168 (75.0%)	142 (75.9%)	26 (70.3%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	45 (24.1%)	11 (29.7%)	1.25 [0.62;2.54]		

**ANEXO XVIII: TABLAS MORTALIDAD POR CAUSAS NO RELACIONADAS CON CCR TOTAL DE SEGUIMIENTO**

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=197	No event N=153	Event N=44	HR	p.overall	N
SANO_IHQ_Estándar:					0.871	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.0%)	7 (15.9%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	35 (22.9%)	14 (31.8%)	1.41 [0.56; 3.50]		
Pos	96 (48.7%)	77 (50.3%)	19 (43.2%)	1.31 [0.54; 3.18]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.8%)	4 (9.09%)	1.04 [0.30; 3.58]		
SANO_IHQ_CAT:					0.764	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.0%)	7 (15.9%)	Ref.		
Int	49 (24.9%)	35 (22.9%)	14 (31.8%)	1.40 [0.56; 3.50]		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	95 (62.1%)	23 (52.3%)	1.25 [0.53; 2.97]		
SANO_IHQ_CAT2:					0.918	197
Neg + Int	79 (40.1%)	58 (37.9%)	21 (47.7%)	Ref.		
Pos	96 (48.7%)	77 (50.3%)	19 (43.2%)	1.05 [0.56; 1.99]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.8%)	4 (9.09%)	0.84 [0.29; 2.45]		
SANO_IHQ_CAT3:					0.984	197
Neg + Int	79 (40.1%)	58 (37.9%)	21 (47.7%)	Ref.		
Pos + Pos++	118 (59.9%)	95 (62.1%)	23 (52.3%)	1.01 [0.55; 1.84]		
SANO_IHQ_CAT4:					0.716	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.0%)	7 (15.9%)	Ref.		
Int + Pos	145 (73.6%)	112 (73.2%)	33 (75.0%)	1.35 [0.59; 3.09]		
Pos++	22 (11.2%)	18 (11.8%)	4 (9.09%)	1.04 [0.30; 3.59]		
SANO_IHQ_CAT5:					0.519	197
Neg	30 (15.2%)	23 (15.0%)	7 (15.9%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	167 (84.8%)	130 (85.0%)	37 (84.1%)	1.31 [0.58; 2.97]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_otrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=175	Event N=49	HR	p.overall	N
PERITUMORAL_IHQ_Estándar:					0.570	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.00%)	2 (4.08%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	20 (11.4%)	8 (16.3%)	2.74 [0.58; 12.9]		
Pos	101 (45.1%)	78 (44.6%)	23 (46.9%)	2.70 [0.63; 11.5]		
Pos++	79 (35.3%)	63 (36.0%)	16 (32.7%)	2.50 [0.57; 11.0]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT:					0.377	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.00%)	2 (4.08%)	Ref.		
Int	28 (12.5%)	20 (11.4%)	8 (16.3%)	2.74 [0.58; 12.9]		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	141 (80.6%)	39 (79.6%)	2.62 [0.63; 10.9]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT2:					0.762	224
Neg + Int	44 (19.6%)	34 (19.4%)	10 (20.4%)	Ref.		
Pos	101 (45.1%)	78 (44.6%)	23 (46.9%)	1.32 [0.63; 2.80]		
Pos++	79 (35.3%)	63 (36.0%)	16 (32.7%)	1.23 [0.55; 2.73]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT3:					0.486	224
Neg + Int	44 (19.6%)	34 (19.4%)	10 (20.4%)	Ref.		
Pos + Pos++	180 (80.4%)	141 (80.6%)	39 (79.6%)	1.28 [0.63; 2.59]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT4:					0.366	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.00%)	2 (4.08%)	Ref.		
Int + Pos	129 (57.6%)	98 (56.0%)	31 (63.3%)	2.71 [0.65; 11.4]		
Pos++	79 (35.3%)	63 (36.0%)	16 (32.7%)	2.51 [0.57; 11.0]		
PERITUMORAL_IHQ_CAT5:					0.164	224
Neg	16 (7.14%)	14 (8.00%)	2 (4.08%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	208 (92.9%)	161 (92.0%)	47 (95.9%)	2.64 [0.64; 10.9]		

-----Summary descriptives table by 'Mortalidad\_total\_OtrasCausas'-----

	[ALL] N=224	No event N=175	Event N=49	HR	p.overall	N
TUMORAL_IHQ_Estándar:					0.861	224
Neg	168 (75.0%)	132 (75.4%)	36 (73.5%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	39 (22.3%)	11 (22.4%)	0.97 [0.49;1.91]		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.29%)	2 (4.08%)	1.47 [0.35;6.14]		
TUMORAL_IHQ_CAT:					0.861	224
Neg	168 (75.0%)	132 (75.4%)	36 (73.5%)	Ref.		
Int	50 (22.3%)	39 (22.3%)	11 (22.4%)	0.97 [0.49;1.91]		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.29%)	2 (4.08%)	1.47 [0.35;6.14]		
TUMORAL_IHQ_CAT2:					0.588	224
Neg + Int	218 (97.3%)	171 (97.7%)	47 (95.9%)	Ref.		
Pos	6 (2.68%)	4 (2.29%)	2 (4.08%)	1.48 [0.36;6.13]		
TUMORAL_IHQ_CAT3:					0.588	224
Neg + Int	218 (97.3%)	171 (97.7%)	47 (95.9%)	Ref.		
Pos + Pos++	6 (2.68%)	4 (2.29%)	2 (4.08%)	1.48 [0.36;6.13]		
TUMORAL_IHQ_CAT4:					0.940	224
Neg	168 (75.0%)	132 (75.4%)	36 (73.5%)	Ref.		
Int + Pos	56 (25.0%)	43 (24.6%)	13 (26.5%)	1.03 [0.54;1.93]		
TUMORAL_IHQ_CAT5:					0.940	224
Neg	168 (75.0%)	132 (75.4%)	36 (73.5%)	Ref.		
Int + Pos + Pos++	56 (25.0%)	43 (24.6%)	13 (26.5%)	1.03 [0.54;1.93]		



## 9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018 11;68(6):394-424.
- (2) Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet* 2019 10 19;;394(10207):1467-1480.
- (3) Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017 04;66(4):683-691.
- (4) Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019 12;16(12):713-732.
- (5) Cancer today. Available at: <http://gco.iarc.fr/today/home>. Accessed Apr 19, 2020.
- (6) Siegel RL, Fedewa SA, Anderson WF, Miller KD, Ma J, Rosenberg PS, et al. Colorectal Cancer Incidence Patterns in the United States, 1974-2013. *J Natl Cancer Inst* 2017 08 01;;109(8).
- (7) Bailey CE, Hu C, You YN, Bednarski BK, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, et al. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010. *JAMA Surg* 2015 Jan;150(1):17-22.
- (8) Cubiella J, Marzo-Castillejo M, Mascort-Roca JJ, Amador-Romero FJ, Bellas-Beceiro B, Clofent-Vilaplana J, et al. Clinical practice guideline. Diagnosis and prevention of colorectal cancer. 2018 Update. *Gastroenterol Hepatol* 2018 Nov;41(9):585-596.
- (9) Kasi PM, Shahjehan F, Cochuyt JJ, Li Z, Colibaseanu DT, Merchea A. Rising Proportion of Young Individuals With Rectal and Colon Cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2019 03;18(1):e87-e95.
- (10) Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. *Int J Cancer* 2002 May 10;;99(2):260-266.
- (11) Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 2010 Jun;138(6):2044-2058.
- (12) Jiao S, Peters U, Berndt S, Brenner H, Butterbach K, Caan BJ, et al. Estimating the heritability of colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 2014 Jul 15;;23(14):3898-3905.
- (13) Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L. Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012 Jun;10(6):639-645.
- (14) Brenner H, Chang-Claude J, Seiler CM, Rickert A, Hoffmeister M. Protection from colorectal cancer after colonoscopy: a population-based, case-control study. *Ann Intern Med* 2011 Jan 04;;154(1):22-30.

- (15) Cottet V, Jooste V, Fournel I, Bouvier A, Faivre J, Bonithon-Kopp C. Long-term risk of colorectal cancer after adenoma removal: a population-based cohort study. *Gut* 2012 Aug;61(8):1180-1186.
- (16) Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 2008 Dec 17;;300(23):2765-2778.
- (17) Cai S, Li Y, Ding Y, Chen K, Jin M. Alcohol drinking and the risk of colorectal cancer death: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 2014 Nov;23(6):532-539.
- (18) Kyrgiou M, Kalliala I, Markozannes G, Gunter MJ, Paraskevaidis E, Gabra H, et al. Adiposity and cancer at major anatomical sites: umbrella review of the literature. *BMJ* 2017 Feb 28;;356:j477.
- (19) Chan DSM, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PLoS ONE* 2011;6(6):e20456.
- (20) Krämer HU, Schöttker B, Raum E, Brenner H. Type 2 diabetes mellitus and colorectal cancer: meta-analysis on sex-specific differences. *Eur J Cancer* 2012 Jun;48(9):1269-1282.
- (21) Nakatsu G, Li X, Zhou H, Sheng J, Wong SH, Wu WKK, et al. Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat Commun* 2015 Oct 30;;6:8727.
- (22) Kwong TNY, Wang X, Nakatsu G, Chow TC, Tipoe T, Dai RZW, et al. Association Between Bacteremia From Specific Microbes and Subsequent Diagnosis of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2018 08;155(2):383-390.e8.
- (23) Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013 Aug 14;;14(2):207-215.
- (24) Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's GASTROINTESTINAL AND LIVER DISEASE. 10th ed. Philadelphia, PA, United States of America: Elsevier; 2016.
- (25) Medema JP. Cancer stem cells: the challenges ahead. *Nat Cell Biol* 2013 Apr;15(4):338-344.
- (26) Nassar D, Blanpain C. Cancer Stem Cells: Basic Concepts and Therapeutic Implications. *Annu Rev Pathol* 2016 05 23;;11:47-76.
- (27) Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F. Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol* 2013 Oct;43(4):973-984.
- (28) Brenner H, Hoffmeister M, Stegmaier C, Brenner G, Altenhofen L, Haug U. Risk of progression of advanced adenomas to colorectal cancer by age and sex: estimates based on 840,149 screening colonoscopies. *Gut* 2007 Nov;56(11):1585-1589.
- (29) Strum WB. Colorectal Adenomas. *N Engl J Med* 2016 Mar 17;;374(11):1065-1075.

- (30) East JE, Atkin WS, Bateman AC, Clark SK, Dolwani S, Ket SN, et al. British Society of Gastroenterology position statement on serrated polyps in the colon and rectum. *Gut* 2017 07;66(7):1181-1196.
- (31) Sideris M, Papagrigroriadis S. Molecular biomarkers and classification models in the evaluation of the prognosis of colorectal cancer. *Anticancer Res* 2014 May;34(5):2061-2068.
- (32) Jackman RJ, Mayo CW. The adenoma-carcinoma sequence in cancer of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1951 Sep;93(3):327-330.
- (33) Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990 Jun 01;61(5):759-767.
- (34) IJspeert JEG, Medema JP, Dekker E. Colorectal neoplasia pathways: state of the art. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2015 Apr;25(2):169-182.
- (35) Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010 Jun;138(6):2088-2100.
- (36) Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010 Jun;138(6):2073-2087.e3.
- (37) Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology* 2010 Jun;138(6):2059-2072.
- (38) Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 2007 Jan;50(1):113-130.
- (39) Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998 Dec 17;396(6712):643-649.
- (40) Muto T, Bussey HJ, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1975 Dec;36(6):2251-2270.
- (41) Dow LE, O'Rourke KP, Simon J, Tschaharganeh DF, van Es JH, Clevers H, et al. Apc Restoration Promotes Cellular Differentiation and Reestablishes Crypt Homeostasis in Colorectal Cancer. *Cell* 2015 Jun 18;161(7):1539-1552.
- (42) Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012 Jan;5(1):19-27.
- (43) Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF. Overview of natural history, pathology, molecular genetics and management of HNPCC (Lynch Syndrome). *Int J Cancer* 1996 Feb 20;69(1):38-43.
- (44) Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer* 2010 Oct;46(15):2788-2798.
- (45) Passardi A, Canale M, Valgiusti M, Ulivi P. Immune Checkpoints as a Target for Colorectal Cancer Treatment. *Int J Mol Sci* 2017 Jun 21;18(6).

- (46) Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. WHO classification of tumours of the digestive system. 2010(Ed. 4).
- (47) Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011 Jan;42(1):1-10.
- (48) Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 Jul 20;;96(15):8681-8686.
- (49) Abdeljawad K, Vemulapalli KC, Kahi CJ, Cummings OW, Snover DC, Rex DK. Sessile serrated polyp prevalence determined by a colonoscopist with a high lesion detection rate and an experienced pathologist. *Gastrointest Endosc* 2015 Mar;81(3):517-524.
- (50) Hazewinkel Y, de Wijkerslooth TR, Stoop EM, Bossuyt PM, Biermann K, van de Vijver, Marc J., et al. Prevalence of serrated polyps and association with synchronous advanced neoplasia in screening colonoscopy. *Endoscopy* 2014 Mar;46(3):219-224.
- (51) O'Brien MJ, Yang S, Mack C, Xu H, Huang CS, Mulcahy E, et al. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points. *Am J Surg Pathol* 2006 Dec;30(12):1491-1501.
- (52) Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD, Passarelli MN, Phipps AI, Wurscher MA, et al. Genomic aberrations occurring in subsets of serrated colorectal lesions but not conventional adenomas. *Cancer Res* 2013 May 01;;73(9):2863-2872.
- (53) Fernando WC, Miranda MS, Worthley DL, Togashi K, Watters DJ, Leggett BA, et al. The CIMP Phenotype in BRAF Mutant Serrated Polyps from a Prospective Colonoscopy Patient Cohort. *Gastroenterol Res Pract* 2014;2014:374926.
- (54) Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, et al. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 2012 Sep;107(9):1315-1329; quiz 1314, 1330.
- (55) Lash RH, Genta RM, Schuler CM. Sessile serrated adenomas: prevalence of dysplasia and carcinoma in 2139 patients. *J Clin Pathol* 2010 Aug;63(8):681-686.
- (56) Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 Jul 20;;96(15):8681-8686.
- (57) Chan AO, Issa JJ, Morris JS, Hamilton SR, Rashid A. Concordant CpG island methylation in hyperplastic polyposis. *Am J Pathol* 2002 Feb;160(2):529-536.
- (58) Yamamoto H, Min Y, Itoh F, Imsumran A, Horiuchi S, Yoshida M, et al. Differential involvement of the hypermethylator phenotype in hereditary and sporadic colorectal cancers with high-frequency microsatellite instability. *Genes Chromosomes Cancer* 2002 Mar;33(3):322-325.
- (59) Kambara T, Simms LA, Whitehall VLJ, Spring KJ, Wynter CVA, Walsh MD, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut* 2004 Aug;53(8):1137-1144.

- (60) Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002 Aug 29;;418(6901):934.
- (61) Kriegl L, Neumann J, Vieth M, Greten FR, Reu S, Jung A, et al. Up and downregulation of p16(Ink4a) expression in BRAF-mutated polyps/adenomas indicates a senescence barrier in the serrated route to colon cancer. *Mod Pathol* 2011 Jul;24(7):1015-1022.
- (62) Wajapeyee N, Serra RW, Zhu X, Mahalingam M, Green MR. Oncogenic BRAF induces senescence and apoptosis through pathways mediated by the secreted protein IGFBP7. *Cell* 2008 Feb 08;;132(3):363-374.
- (63) Crockett SD, Snover DC, Ahnen DJ, Baron JA. Sessile serrated adenomas: an evidence-based guide to management. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015 Jan;13(1):11-26.e1.
- (64) Li F, Lai M. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B* 2009 Mar;10(3):219-229.
- (65) Drewes JL, Housseau F, Sears CL. Sporadic colorectal cancer: microbial contributors to disease prevention, development and therapy. *Br J Cancer* 2016 Jul 26;;115(3):273-280.
- (66) Murphy N, Ward HA, Jenab M, Rothwell JA, Boutron-Ruault M, Carbonnel F, et al. Heterogeneity of Colorectal Cancer Risk Factors by Anatomical Subsite in 10 European Countries: A Multinational Cohort Study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019 06;17(7):1323-1331.e6.
- (67) Yang L, Xiong Z, He W, Xie K, Liu S, Kong P, et al. Proximal shift of colorectal cancer with increasing age in different ethnicities. *Cancer Manag Res* 2018;10:2663-2673.
- (68) Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, Di Narzo AF, Sonesson C, Budinska E, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol* 2014 Oct;25(10):1995-2001.
- (69) Loree JM, Pereira AAL, Lam M, Willauer AN, Raghav K, Dasari A, et al. Classifying Colorectal Cancer by Tumor Location Rather than Sidedness Highlights a Continuum in Mutation Profiles and Consensus Molecular Subtypes. *Clin Cancer Res* 2018 03 01;;24(5):1062-1072.
- (70) Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Sonesson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* 2015 Nov;21(11):1350-1356.
- (71) Fessler E, Medema JP. Colorectal Cancer Subtypes: Developmental Origin and Microenvironmental Regulation. *Trends Cancer* 2016 09;2(9):505-518.
- (72) Jordan P. Colorectal Cancer Subtypes - The Current Portrait. *Adv Exp Med Biol* 2018;1110:1-6.
- (73) De Sousa E Melo, Felipe, Wang X, Jansen M, Fessler E, Trinh A, de Rooij, Laura P. M. H., et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med* 2013 May;19(5):614-618.

- (74) Alwers E, Jia M, Kloor M, Bläker H, Brenner H, Hoffmeister M. Associations Between Molecular Classifications of Colorectal Cancer and Patient Survival: A Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019 02;17(3):402-410.e2.
- (75) Levi Z, Rozen P, Hazazi R, Vilkin A, Waked A, Maoz E, et al. A quantitative immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2007 Feb 20;146(4):244-255.
- (76) Guittet L, Bouvier V, Mariotte N, Vallee JP, Arsène D, Boutreux S, et al. Comparison of a guaiac based and an immunochemical faecal occult blood test in screening for colorectal cancer in a general average risk population. *Gut* 2007 Feb;56(2):210-214.
- (77) Haug U, Hundt S, Brenner H. Quantitative immunochemical fecal occult blood testing for colorectal adenoma detection: evaluation in the target population of screening and comparison with qualitative tests. *Am J Gastroenterol* 2010 Mar;105(3):682-690.
- (78) de Wijkerslooth TR, Stoop EM, Bossuyt PM, Meijer GA, van Ballegooijen M, van Roon, A. H. C., et al. Immunochemical fecal occult blood testing is equally sensitive for proximal and distal advanced neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2012 Oct;107(10):1570-1578.
- (79) Grazzini G, Visioli CB, Zorzi M, Ciatto S, Banovich F, Bonanomi AG, et al. Immunochemical faecal occult blood test: number of samples and positivity cutoff. What is the best strategy for colorectal cancer screening? *Br J Cancer* 2009 Jan 27;100(2):259-265.
- (80) Hamza S, Dancourt V, Lejeune C, Bidan JM, Lepage C, Faivre J. Diagnostic yield of a one sample immunochemical test at different cut-off values in an organised screening programme for colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2013 Aug;49(12):2727-2733.
- (81) Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Smith RA, Brooks D, Andrews KS, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin* 2008 May-Jun;58(3):130-160.
- (82) Mangas-Sanjuan C, Jover R, Cubiella J, Marzo-Castillejo M, Balaguer F, Bessa X, et al. Endoscopic surveillance after colonic polyps and colorectal cancer resection. 2018 update. *Gastroenterol Hepatol* 2019 Mar;42(3):188-201.
- (83) Hassan C, Quintero E, Dumonceau J, Regula J, Brandão C, Chaussade S, et al. Post-polypectomy colonoscopy surveillance: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy* 2013 Oct;45(10):842-851.
- (84) Hassan C, Antonelli G, Dumonceau J, Regula J, Bretthauer M, Chaussade S, et al. Post-polypectomy colonoscopy surveillance: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline - Update 2020. *Endoscopy* 2020 Aug;52(8):687-700.
- (85) Piñol V, Andreu M, Castells A, Payá A, Bessa X, Rodrigo J. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer and other colorectal cancer familial forms in Spain: a multicentre, prospective, nationwide study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004 Jan;16(1):39-45.
- (86) Carla Jerusalem Gargallo Puyuelo. Susceptibilidad genética del cáncer colorrectal: influencia de polimorfismos genéticos en el desarrollo de cáncer colorrectal y lesiones preneoplásicas en

familiares de primer grado de  
pacientes con cáncer colorrectal . Zaragoza: Universidad de Zaragoza; 2016.

(87) Kaminski MF, Regula J, Kraszewska E, Polkowski M, Wojciechowska U, Didkowska J, et al. Quality indicators for colonoscopy and the risk of interval cancer. *N Engl J Med* 2010 May 13;362(19):1795-1803.

(88) Shaikat A, Rector TS, Church TR, Lederle FA, Kim AS, Rank JM, et al. Longer Withdrawal Time Is Associated With a Reduced Incidence of Interval Cancer After Screening Colonoscopy. *Gastroenterology* 2015 Oct;149(4):952-957.

(89) Corley DA, Jensen CD, Marks AR, Zhao WK, Lee JK, Doubeni CA, et al. Adenoma detection rate and risk of colorectal cancer and death. *N Engl J Med* 2014 Apr 03;370(14):1298-1306.

(90) Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen Y, Ciombor KK, et al. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *J Natl Compr Canc Netw* 2018 Apr;16(4):359-369.

(91) Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017 07 28;357(6349):409-413.

(92) Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010 Jul 10;28(20):3219-3226.

(93) Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou F, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 2018 05 26;391(10135):2128-2139.

(94) Amin M. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed.: Springer; 2017.

(95) Nakadoi K, Tanaka S, Kanao H, Terasaki M, Takata S, Oka S, et al. Management of T1 colorectal carcinoma with special reference to criteria for curative endoscopic resection. *J Gastroenterol Hepatol* 2012 Jun;27(6):1057-1062.

(96) Suh JH, Han KS, Kim BC, Hong CW, Sohn DK, Chang HJ, et al. Predictors for lymph node metastasis in T1 colorectal cancer. *Endoscopy* 2012 Jun;44(6):590-595.

(97) Hassan C, Pickhardt PJ, Di Giulio E, Hunink MGM, Zullo A, Nardelli BB. Value-of-information analysis to guide future research in the management of the colorectal malignant polyp. *Dis Colon Rectum* 2010 Feb;53(2):135-142.

(98) Albéniz E, Pellisé M, Gimeno García AZ, Lucendo AJ, Alonso Aguirre PA, Herreros de Tejada A, et al. Clinical guidelines for endoscopic mucosal resection of non-pedunculated colorectal lesions. *Gastroenterol Hepatol* 2018 Mar;41(3):175-190.

(99) Emmanuel A, Haji A. Complete mesocolic excision and extended (D3) lymphadenectomy for colonic cancer: is it worth that extra effort? A review of the literature. *Int J Colorectal Dis* 2016 Apr;31(4):797-804.

(100) Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen Y, Ciombor KK, et al. Rectal Cancer, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2018 07;16(7):874-901.

(101) Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandalà M, Cervantes A, et al. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013 Oct;24 Suppl 6:vi64-72.

(102) Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Fitzgibbons PL, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med* 2009 Oct;133(10):1539-1551.

(103) Benson AB, Bekaii-Saab T, Chan E, Chen Y, Choti MA, Cooper HS, et al. Localized colon cancer, version 3.2013: featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2013 May 01;11(5):519-528.

(104) Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E, Brown G, Rödel C, Cervantes A, et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017 07 01;28(suppl\_4):iv22-iv40.

(105) Burdan F, Sudol-Szopinska I, Staroslawska E, Kolodziejczak M, Klepacz R, Mocarska A, et al. Magnetic resonance imaging and endorectal ultrasound for diagnosis of rectal lesions. *Eur J Med Res* 2015 Jan 14;20:4.

(106) Bach SP, Hill J, Monson JRT, Simson JNL, Lane L, Merrie A, et al. A predictive model for local recurrence after transanal endoscopic microsurgery for rectal cancer. *Br J Surg* 2009 Mar;96(3):280-290.

(107) Junginger T, Goenner U, Hitzler M, Trinh TT, Heintz A, Wollschlaeger D, et al. Long-term Oncologic Outcome After Transanal Endoscopic Microsurgery for Rectal Carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2016 Jan;59(1):8-15.

(108) Stornes T, Wibe A, Nesbakken A, Myklebust TÅ, Endreseth BH. National Early Rectal Cancer Treatment Revisited. *Dis Colon Rectum* 2016 Jul;59(7):623-629.

(109) Quirke P, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Couture J, et al. Effect of the plane of surgery achieved on local recurrence in patients with operable rectal cancer: a prospective study using data from the MRC CR07 and NCIC-CTG CO16 randomised clinical trial. *Lancet* 2009 Mar 07;373(9666):821-828.

(110) Taylor FGM, Quirke P, Heald RJ, Moran B, Blomqvist L, Swift I, et al. Preoperative high-resolution magnetic resonance imaging can identify good prognosis stage I, II, and III rectal cancer best managed by surgery alone: a prospective, multicenter, European study. *Ann Surg* 2011 Apr;253(4):711-719.

(111) Hunter CJ, Garant A, Vuong T, Artho G, Lisbona R, Tekkis P, et al. Adverse features on rectal MRI identify a high-risk group that may benefit from more intensive preoperative staging and treatment. *Ann Surg Oncol* 2012 Apr;19(4):1199-1205.

(112) Taylor FGM, Quirke P, Heald RJ, Moran BJ, Blomqvist L, Swift IR, et al. Preoperative magnetic resonance imaging assessment of circumferential resection margin predicts disease-



free survival and local recurrence: 5-year follow-up results of the MERCURY study. *J Clin Oncol* 2014 Jan 01;;32(1):34-43.

(113) Yang Y, Cao L, Li Z, Zhao L, Wu H, Yue D, et al. Fluorouracil-based neoadjuvant chemoradiotherapy with or without oxaliplatin for treatment of locally advanced rectal cancer: An updated systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2016 Jul 19;;7(29):45513-45524.

(114) Braendengen M, Tveit KM, Berglund A, Birkemeyer E, Frykholm G, Pahlman L, et al. Randomized phase III study comparing preoperative radiotherapy with chemoradiotherapy in nonresectable rectal cancer. *J Clin Oncol* 2008 Aug 01;;26(22):3687-3694.

(115) Battersby NJ, How P, Moran B, Stelzner S, West NP, Branagan G, et al. Prospective Validation of a Low Rectal Cancer Magnetic Resonance Imaging Staging System and Development of a Local Recurrence Risk Stratification Model: The MERCURY II Study. *Ann Surg* 2016 Apr;;263(4):751-760.

(116) van der Paardt, Marije P., Zagers MB, Beets-Tan RGH, Stoker J, Bipat S. Patients who undergo preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer restaged by using diagnostic MR imaging: a systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2013 Oct;;269(1):101-112.

(117) Loughrey MB. Standards and datasets for reporting cancers. Dataset for colorectal cancer histopathology reports . 2014; Available at: <https://www.rcpath.org/>. Accessed 01/06/, 2020.

(118) Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004 Oct 21;;351(17):1731-1740.

(119) Sebag-Montefiore D, Stephens RJ, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, et al. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial. *Lancet* 2009 Mar 07;;373(9666):811-820.

(120) Niekel MC, Bipat S, Stoker J. Diagnostic imaging of colorectal liver metastases with CT, MR imaging, FDG PET, and/or FDG PET/CT: a meta-analysis of prospective studies including patients who have not previously undergone treatment. *Radiology* 2010 Dec;;257(3):674-684.

(121) Thirunavukarasu P, Sukumar S, Sathaiah M, Mahan M, Pragasheeshwar KD, Pingpank JF, et al. C-stage in colon cancer: implications of carcinoembryonic antigen biomarker in staging, prognosis, and management. *J Natl Cancer Inst* 2011 Apr 20;;103(8):689-697.

(122) Guidelines. Available at: <https://www.esmo.org/guidelines>. Accessed Apr 19, 2020.

(123) Grothey A, Sobrero AF, Shields AF, Yoshino T, Paul J, Taieb J, et al. Duration of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med* 2018 Mar 29;;378(13):1177-1188.

(124) Abdel-Rahman O, Cheung WY. Integrating Systemic Therapies into the Multimodality Treatment of Resectable Colorectal Liver Metastases. *Gastroenterol Res Pract* 2018;2018:4326082.

- (125) Baratti D, Kusamura S, Pietrantonio F, Guaglio M, Nigam M, Deraco M. Progress in treatments for colorectal cancer peritoneal metastases during the years 2010-2015. A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016 Apr;100:209-222.
- (126) Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol* 2007 May 01;25(13):1670-1676.
- (127) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004 Jun 03;350(23):2335-2342.
- (128) Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008 Apr 20;26(12):2013-2019.
- (129) Cunningham D, Lang I, Marcuello E, Lorusso V, Ocvirk J, Shin DB, et al. Bevacizumab plus capecitabine versus capecitabine alone in elderly patients with previously untreated metastatic colorectal cancer (AVEX): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013 Oct;14(11):1077-1085.
- (130) Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, Prenen H, Prausová J, Macarulla T, et al. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 2012 Oct 01;30(28):3499-3506.
- (131) Tabernero J, Yoshino T, Cohn AL, Obermannova R, Bodoky G, Garcia-Carbonero R, et al. Ramucicromab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015 May;16(5):499-508.
- (132) Ursem C, Venook AP. The Developing Role of Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Agents in the Treatment of Advanced or Metastatic Colorectal Cancer. *Oncology (Williston Park, N Y)* 2017 11 15;31(11):785-788, 802.
- (133) Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran S, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014 Sep;15(10):1065-1075.
- (134) Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz H, Innocenti F, Fruth B, Meyerhardt JA, et al. Effect of First-Line Chemotherapy Combined With Cetuximab or Bevacizumab on Overall Survival in Patients With KRAS Wild-Type Advanced or Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2017 06 20;317(23):2392-2401.
- (135) Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010 Jan 20;28(3):466-474.

- (136) Yoshino T, Arnold D, Taniguchi H, Pentheroudakis G, Yamazaki K, Xu R-, et al. Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer: a JSMO-ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. *Ann Oncol* 2018 01 01;;29(1):44-70.
- (137) Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 2015 Jun 25;;372(26):2509-2520.
- (138) Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz H, Morse MA, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017 09;18(9):1182-1191.
- (139) Ganesh K, Stadler ZK, Cercek A, Mendelsohn RB, Shia J, Segal NH, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019 06;16(6):361-375.
- (140) Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK, Van den Berg, José G., Aalbers AG, Sikorska K, et al. Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat Med* 2020 Apr;26(4):566-576.
- (141) Tsikitis VL, Malireddy K, Green EA, Christensen B, Whelan R, Hyder J, et al. Postoperative surveillance recommendations for early stage colon cancer based on results from the clinical outcomes of surgical therapy trial. *J Clin Oncol* 2009 Aug 01;;27(22):3671-3676.
- (142) Hassan C, Wysocki PT, Fuccio L, Seufferlein T, Dinis-Ribeiro M, Brandão C, et al. Endoscopic surveillance after surgical or endoscopic resection for colorectal cancer: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) and European Society of Digestive Oncology (ESDO) Guideline. *Endoscopy* 2019 03;51(3):266-277.
- (143) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011 Mar 04;;144(5):646-674.
- (144) West NR, McCuaig S, Franchini F, Powrie F. Emerging cytokine networks in colorectal cancer. *Nat Rev Immunol* 2015 Oct;15(10):615-629.
- (145) Shalapour S, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil. *J Clin Invest* 2015 Sep;125(9):3347-3355.
- (146) Lasry A, Zinger A, Ben-Neriah Y. Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nat Immunol* 2016 Mar;17(3):230-240.
- (147) Shenoy AK, Fisher RC, Butterworth EA, Pi L, Chang L, Appelman HD, et al. Transition from colitis to cancer: high Wnt activity sustains the tumor-initiating potential of colon cancer stem cell precursors. *Cancer Res* 2012 Oct 01;;72(19):5091-5100.
- (148) Li Y, Laterra J. Cancer stem cells: distinct entities or dynamically regulated phenotypes? *Cancer Res* 2012 Feb 01;;72(3):576-580.
- (149) Karin M. The NF-kappa B activation pathway: its regulation and role in inflammation and cell survival. *Cancer J Sci Am* 1998 May;4 Suppl 1:92.

- (150) Kaler P, Godasi BN, Augenlicht L, Klampfer L. The NF- $\kappa$ B/AKT-dependent Induction of Wnt Signaling in Colon Cancer Cells by Macrophages and IL-1 $\beta$ . *Cancer Microenviron* 2009 Dec;2(1):69-80.
- (151) Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014 Mar;15(3):178-196.
- (152) Busch EL, McGraw KA, Sandler RS. The potential for markers of epithelial-mesenchymal transition to improve colorectal cancer outcomes: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014 Jul;23(7):1164-1175.
- (153) Findlay VJ, Wang C, Watson DK, Camp ER. Epithelial-to-mesenchymal transition and the cancer stem cell phenotype: insights from cancer biology with therapeutic implications for colorectal cancer. *Cancer Gene Ther* 2014 May;21(5):181-187.
- (154) Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015 Mar;65(2):87-108.
- (155) Schaeffer D, Somarelli JA, Hanna G, Palmer GM, Garcia-Blanco MA. Cellular migration and invasion uncoupled: increased migration is not an inexorable consequence of epithelial-to-mesenchymal transition. *Mol Cell Biol* 2014 Sep 15;34(18):3486-3499.
- (156) Chen D, Sun Y, Yuan Y, Han Z, Zhang P, Zhang J, et al. miR-100 induces epithelial-mesenchymal transition but suppresses tumorigenesis, migration and invasion. *PLoS Genet* 2014 Feb;10(2):e1004177.
- (157) Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell* 2011 Nov 23;147(5):992-1009.
- (158) D'Eliseo D, Di Rocco G, Loria R, Soddu S, Santoni A, Velotti F. Epithelial-to-mesenchymal transition and invasion are upmodulated by tumor-expressed granzyme B and inhibited by docosahexaenoic acid in human colorectal cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2016 Feb 02;35:24.
- (159) Martínez-Lostao L, Anel A, Pardo J. How Do Cytotoxic Lymphocytes Kill Cancer Cells? *Clin Cancer Res* 2015 Nov 15;21(22):5047-5056.
- (160) Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* 2011;29:235-271.
- (161) Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008 Jul 24;454(7203):436-444.
- (162) Arias M, Martínez-Lostao L, Santiago L, Ferrandez A, Granville DJ, Pardo J. The Untold Story of Granzymes in Oncoimmunology: Novel Opportunities with Old Acquaintances. *Trends Cancer* 2017 06;3(6):407-422.
- (163) Lanuza PM, Pesini C, Arias MA, Calvo C, Ramirez-Labrada A, Pardo J. Recalling the Biological Significance of Immune Checkpoints on NK Cells: A Chance to Overcome LAG3, PD1, and CTLA4 Inhibitory Pathways by Adoptive NK Cell Transfer? *Front Immunol* 2019;10:3010.

- (164) Murphy K, Travers P, Walport M. *Inmunobiología de Janeway*. 7th ed. Mexico: McGrawHill Interamericana Editores SA; 2009.
- (165) Morvan MG, Lanier LL. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. *Nature Reviews. Cancer* 2016 Jan;16(1):7-19.
- (166) Chowdhury D, Lieberman J. Death by a thousand cuts: granzyme pathways of programmed cell death. *Annu Rev Immunol* 2008;26:389-420.
- (167) Pardo J, Aguilo JI, Anel A, Martin P, Joeckel L, Borner C, et al. The biology of cytotoxic cell granule exocytosis pathway: granzymes have evolved to induce cell death and inflammation. *Microbes Infect* 2009 Apr;11(4):452-459.
- (168) Kramer MD, Simon MM. Are proteinases functional molecules of T lymphocytes? *Immunol Today* 1987;8(5):140-142.
- (169) Hameed A, Lowrey DM, Lichtenheld M, Podack ER. Characterization of three serine esterases isolated from human IL-2 activated killer cells. *J Immunol* 1988 Nov 01;141(9):3142-3147.
- (170) Young JD, Leong LG, Liu CC, Damiano A, Wall DA, Cohn ZA. Isolation and characterization of a serine esterase from cytolytic T cell granules. *Cell* 1986 Oct 24;47(2):183-194.
- (171) Bleackley RC. The isolation and characterization of two cytotoxic T-lymphocyte-specific serine protease genes. *Curr Top Microbiol Immunol* 1989;140:67-80.
- (172) Jenne DE, Tschopp J. Granzymes, a family of serine proteases released from granules of cytolytic T lymphocytes upon T cell receptor stimulation. *Immunol Rev* 1988 Mar;103:53-71.
- (173) Afonina IS, Cullen SP, Martin SJ. Cytotoxic and non-cytotoxic roles of the CTL/NK protease granzyme B. *Immunol Rev* 2010 May;235(1):105-116.
- (174) Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol* 2015 Jun;15(6):388-400.
- (175) Kaiserman D, Bird PI. Control of granzymes by serpins. *Cell Death Differ* 2010 Apr;17(4):586-595.
- (176) de Saint Basile G, Ménasché G, Fischer A. Molecular mechanisms of biogenesis and exocytosis of cytotoxic granules. *Nat Rev Immunol* 2010 Aug;10(8):568-579.
- (177) Metkar SS, Wang B, Catalan E, Anderlueh G, Gilbert RJC, Pardo J, et al. Perforin rapidly induces plasma membrane phospholipid flip-flop. *PLoS ONE* 2011;6(9):e24286.
- (178) Baran K, Dunstone M, Chia J, Ciccone A, Browne KA, Clarke CJP, et al. The molecular basis for perforin oligomerization and transmembrane pore assembly. *Immunity* 2009 May;30(5):684-695.
- (179) Pipkin ME, Lieberman J. Delivering the kiss of death: progress on understanding how perforin works. *Curr Opin Immunol* 2007 Jun;19(3):301-308.

- (180) Andrade F. Non-cytotoxic antiviral activities of granzymes in the context of the immune antiviral state. *Immunol Rev* 2010 May;235(1):128-146.
- (181) Anthony DA, Andrews DM, Watt SV, Trapani JA, Smyth MJ. Functional dissection of the granzyme family: cell death and inflammation. *Immunol Rev* 2010 May;235(1):73-92.
- (182) Pardo J, Wallich R, Ebnet K, Iden S, Zentgraf H, Martin P, et al. Granzyme B is expressed in mouse mast cells in vivo and in vitro and causes delayed cell death independent of perforin. *Cell Death Differ* 2007 Oct;14(10):1768-1779.
- (183) Strik MCM, de Koning, Pieter J. A., Kleijmeer MJ, Bladergroen BA, Wolbink AM, Griffith JM, et al. Human mast cells produce and release the cytotoxic lymphocyte associated protease granzyme B upon activation. *Mol Immunol* 2007 Jul;44(14):3462-3472.
- (184) Shen Y, Cheng F, Sharma M, Merkulova Y, Raithatha SA, Parkinson LG, et al. Granzyme B Deficiency Protects against Angiotensin II-Induced Cardiac Fibrosis. *Am J Pathol* 2016 Jan;186(1):87-100.
- (185) Hsu I, Parkinson LG, Shen Y, Toro A, Brown T, Zhao H, et al. Serpina3n accelerates tissue repair in a diabetic mouse model of delayed wound healing. *Cell Death Dis* 2014 Oct 09;5:e1458.
- (186) Hiebert PR, Granville DJ. Granzyme B in injury, inflammation, and repair. *Trends Mol Med* 2012 Dec;18(12):732-741.
- (187) Prakash MD, Munoz MA, Jain R, Tong PL, Koskinen A, Regner M, et al. Granzyme B promotes cytotoxic lymphocyte transmigration via basement membrane remodeling. *Immunity* 2014 Dec 18;41(6):960-972.
- (188) Viganò S, Perreau M, Pantaleo G, Harari A. Positive and negative regulation of cellular immune responses in physiologic conditions and diseases. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:485781.
- (189) Perez-Lopez A, Behnsen J, Nuccio S, Raffatellu M. Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria. *Nat Rev Immunol* 2016 Mar;16(3):135-148.
- (190) Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci* 2012 Dec 01;125(Pt 23):5591-5596.
- (191) Dufait I, Pardo J, Escors D, De Vlaeminck Y, Jiang H, Keyaerts M, et al. Perforin and Granzyme B Expressed by Murine Myeloid-Derived Suppressor Cells: A Study on Their Role in Outgrowth of Cancer Cells. *Cancers* 2019 Jun 11;11(6).
- (192) Salama P, Phillips M, Platell C, Iacopetta B. Low expression of Granzyme B in colorectal cancer is associated with signs of early metastatic invasion. *Histopathology* 2011 Aug;59(2):207-215.
- (193) Pagès F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molitor R, et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005 Dec 22;353(25):2654-2666.

- (194) Pölcher M, Braun M, Friedrichs N, Rudlowski C, Bercht E, Fimmers R, et al. Foxp3(+) cell infiltration and granzyme B(+)/Foxp3(+) cell ratio are associated with outcome in neoadjuvant chemotherapy-treated ovarian carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2010 Jun;59(6):909-919.
- (195) Kelley TW, Pohlman B, Elson P, Hsi ED. The ratio of FOXP3+ regulatory T cells to granzyme B+ cytotoxic T/NK cells predicts prognosis in classical Hodgkin lymphoma and is independent of bcl-2 and MAL expression. *Am J Clin Pathol* 2007 Dec;128(6):958-965.
- (196) Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, et al. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology* 2007 Jun;132(7):2328-2339.
- (197) Hagn M, Sontheimer K, Dahlke K, Brueggemann S, Kaltenmeier C, Beyer T, et al. Human B cells differentiate into granzyme B-secreting cytotoxic B lymphocytes upon incomplete T-cell help. *Immunol Cell Biol* 2012 Apr;90(4):457-467.
- (198) Oldford SA, Marshall JS. Mast cells as targets for immunotherapy of solid tumors. *Mol Immunol* 2015 Jan;63(1):113-124.
- (199) Hendel A, Hsu I, Granville DJ. Granzyme B releases vascular endothelial growth factor from extracellular matrix and induces vascular permeability. *Lab Invest* 2014 Jul;94(7):716-725.
- (200) Parkinson LG, Toro A, Zhao H, Brown K, Tebbutt SJ, Granville DJ. Granzyme B mediates both direct and indirect cleavage of extracellular matrix in skin after chronic low-dose ultraviolet light irradiation. *Aging Cell* 2015 Feb;14(1):67-77.
- (201) Hiebert PR, Boivin WA, Abraham T, Pazooki S, Zhao H, Granville DJ. Granzyme B contributes to extracellular matrix remodeling and skin aging in apolipoprotein E knockout mice. *Exp Gerontol* 2011 Jun;46(6):489-499.
- (202) Neill T, Schaefer L, Iozzo RV. Oncosuppressive functions of decorin. *Mol Cell Oncol* 2015 Jul-Sep;2(3):e975645.
- (203) Boivin WA, Shackelford M, Vanden Hoek A, Zhao H, Hackett TL, Knight DA, et al. Granzyme B cleaves decorin, biglycan and soluble betaglycan, releasing active transforming growth factor- $\beta$ 1. *PLoS ONE* 2012;7(3):e33163.
- (204) Colak S, Ten Dijke P. Targeting TGF- $\beta$  Signaling in Cancer. *Trends Cancer* 2017 01;3(1):56-71.
- (205) Choy JC, Hung VHY, Hunter AL, Cheung PK, Motyka B, Goping IS, et al. Granzyme B induces smooth muscle cell apoptosis in the absence of perforin: involvement of extracellular matrix degradation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 Dec;24(12):2245-2250.
- (206) Buzza MS, Zamurs L, Sun J, Bird CH, Smith AI, Trapani JA, et al. Extracellular matrix remodeling by human granzyme B via cleavage of vitronectin, fibronectin, and laminin. *J Biol Chem* 2005 Jun 24;280(25):23549-23558.
- (207) Hendel A, Granville DJ. Granzyme B cleavage of fibronectin disrupts endothelial cell adhesion, migration and capillary tube formation. *Matrix Biol* 2013 Jan;32(1):14-22.

- (208) Kamarajan P, Garcia-Pardo A, D'Silva NJ, Kapila YL. The CS1 segment of fibronectin is involved in human OSCC pathogenesis by mediating OSCC cell spreading, migration, and invasion. *BMC Cancer* 2010 Jun 25;;10:330.
- (209) Sower LE, Klimpel GR, Hanna W, Froelich CJ. Extracellular activities of human granzymes. I. Granzyme A induces IL6 and IL8 production in fibroblast and epithelial cell lines. *Cell Immunol* 1996 Jul 10;;171(1):159-163.
- (210) Joeckel LT, Wallich R, Martin P, Sanchez-Martinez D, Weber FC, Martin SF, et al. Mouse granzyme K has pro-inflammatory potential. *Cell Death Differ* 2011 Jul;18(7):1112-1119.
- (211) Anthony DA, Andrews DM, Chow M, Watt SV, House C, Akira S, et al. A role for granzyme M in TLR4-driven inflammation and endotoxemia. *J Immunol* 2010 Aug 01;;185(3):1794-1803.
- (212) Wensink AC, Kemp V, Fermie J, García Laorden MI, van der Poll T, Hack CE, et al. Granzyme K synergistically potentiates LPS-induced cytokine responses in human monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014 Apr 22;;111(16):5974-5979.
- (213) Metkar SS, Mena C, Pardo J, Wang B, Wallich R, Freudenberg M, et al. Human and mouse granzyme A induce a proinflammatory cytokine response. *Immunity* 2008 Nov 14;;29(5):720-733.
- (214) Sharma M, Merkulova Y, Raithatha S, Parkinson LG, Shen Y, Cooper D, et al. Extracellular granzyme K mediates endothelial activation through the cleavage of protease-activated receptor-1. *FEBS J* 2016 05;283(9):1734-1747.
- (215) Cooper DM, Pechkovsky DV, Hackett TL, Knight DA, Granville DJ. Granzyme K activates protease-activated receptor-1. *PLoS ONE* 2011;6(6):e21484.
- (216) Afonina IS, Tynan GA, Logue SE, Cullen SP, Bots M, Lüthi AU, et al. Granzyme B-dependent proteolysis acts as a switch to enhance the proinflammatory activity of IL-1 $\alpha$ . *Mol Cell* 2011 Oct 21;;44(2):265-278.
- (217) Arias MA, Jiménez de Bagües, María P., Aguiló N, Mena S, Hervás-Stubbs S, de Martino A, et al. Elucidating sources and roles of granzymes A and B during bacterial infection and sepsis. *Cell Rep* 2014 Jul 24;;8(2):420-429.
- (218) Santiago L, Mena C, Arias M, Martin P, Jaime-Sánchez P, Metkar S, et al. Granzyme A Contributes to Inflammatory Arthritis in Mice Through Stimulation of Osteoclastogenesis. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)* 2017 Feb;69(2):320-334.
- (219) Wilson JAC, Prow NA, Schroder WA, Ellis JJ, Cumming HE, Gearing LJ, et al. RNA-Seq analysis of chikungunya virus infection and identification of granzyme A as a major promoter of arthritic inflammation. *PLoS pathogens* 2017 02;13(2):e1006155.
- (220) Santiago L, Castro M, Sanz-Pamplona R, Garzón M, Ramirez-Labrada A, Tapia E, et al. Extracellular Granzyme A Promotes Colorectal Cancer Development by Enhancing Gut Inflammation. *Cell Rep* 2020 Jul 07;;32(1):107847.
- (221) Biron CA. Cytokines in the generation of immune responses to, and resolution of, virus infection. *Curr Opin Immunol* 1994 Aug;6(4):530-538.



- (222) Russell JH, Ley TJ. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2002;20:323-370.
- (223) Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013 Aug 29;;369(9):840-851.
- (224) Sherwood ER, Lin CY, Tao W, Hartmann CA, Dujon JE, French AJ, et al. Beta 2 microglobulin knockout mice are resistant to lethal intraabdominal sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 Jun 15;;167(12):1641-1649.
- (225) Schaer DJ, Schaer CA, Schoedon G, Imhof A, Kurrer MO. Hemophagocytic macrophages constitute a major compartment of heme oxygenase expression in sepsis. *Eur J Haematol* 2006 Nov;77(5):432-436.
- (226) Zeerleder S, Hack CE, Caliezi C, van Mierlo G, Eerenberg-Belmer A, Wolbink A, et al. Activated cytotoxic T cells and NK cells in severe sepsis and septic shock and their role in multiple organ dysfunction. *Clin Immunol* 2005 Aug;116(2):158-165.
- (227) Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol* 2002 Oct;2(10):735-747.
- (228) Tew GW, Hackney JA, Gibbons D, Lamb CA, Luca D, Egen JG, et al. Association Between Response to Etrolizumab and Expression of Integrin  $\alpha E$  and Granzyme A in Colon Biopsies of Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* 2016 Feb;150(2):477-487.e9.
- (229) Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012 Mar 22;;12(4):252-264.
- (230) Área influencia HCU Iozano Blesa SIII. Gerencia SALUD. Aragón. Available at: [http://www.zaragoza3.es/Gerencia/Poblacion/pob\\_sector.htm](http://www.zaragoza3.es/Gerencia/Poblacion/pob_sector.htm). Accessed 20/09/, 2020.
- (231) Padrón oficial Aragón. Available at: [https://aplicacionesportalaragon.aragon.es/tablas/iaest/areas-tematicas/02-demografia-y-poblacion/01-cifraspoblacion-y-censos/01\\_padron/cifras\\_oficiales\\_de\\_poblacion.html](https://aplicacionesportalaragon.aragon.es/tablas/iaest/areas-tematicas/02-demografia-y-poblacion/01-cifraspoblacion-y-censos/01_padron/cifras_oficiales_de_poblacion.html). Accessed 20/09/, 2020.
- (232) Incidencia CCR Aragón 2002-2006. Dirección general de Salud pública. 2012; Available at: [https://www.aragon.es/documents/20127/674325/INCIDENCIA%20DE%20CANCER%20EN%20ARAGON%202002\\_2006.pdf/d467f90b-2b16-3cb7-9296-e7ec9f1be9da](https://www.aragon.es/documents/20127/674325/INCIDENCIA%20DE%20CANCER%20EN%20ARAGON%202002_2006.pdf/d467f90b-2b16-3cb7-9296-e7ec9f1be9da). Accessed 20/09/, 2020.
- (233) Solé Llop ME, Cano Del Pozo M, García Montero J, Carrera-Lasfuentes P, Lanás Á. [Colorectal cancer screening programme in Aragón (Spain): preliminary results]. *Gac Sanit* 2018 Nov - Dec;32(6):559-562.
- (234) Navarro M, Hijos G, Sostres C, Lué A, Puente-Lanzarote JJ, Carrera-Lasfuentes P, et al. Reducing the Cut-Off Value of the Fecal Immunochemical Test for Symptomatic Patients Does Not Improve Diagnostic Performance. *Front Med (Lausanne)* 2020;7:410.

(235) Errasti Alustiza J, Cermeño Toral B, Campo Cimarras E, Romeo Ramírez JA, Sardón Ramos JD, Reka Mediavilla L, et al. [Postoperative mortality risk factors in colorectal cancer: follow up of a cohort in a specialised unit]. *Cir Esp* 2010 Feb;87(2):101-107.

(236) Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, et al. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. a personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol* 2012 Oct;23(10):2479-2516.

(237) Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016 08;27(8):1386-1422.

(238) Mulder WM, Bloemena E, Stukart MJ, Kummer JA, Wagstaff J, Scheper RJ. T cell receptor-zeta and granzyme B expression in mononuclear cell infiltrates in normal colon mucosa and colon carcinoma. *Gut* 1997 Jan;40(1):113-119.

(239) Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006 Sep 29;;313(5795):1960-1964.

(240) Prizment AE, Vierkant RA, Smyrk TC, Tillmans LS, Nelson HH, Lynch CF, et al. Cytotoxic T Cells and Granzyme B Associated with Improved Colorectal Cancer Survival in a Prospective Cohort of Older Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017 04;26(4):622-631.

(241) Narayanan S, Kawaguchi T, Yan L, Peng X, Qi Q, Takabe K. Cytolytic Activity Score to Assess Anticancer Immunity in Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2018 Aug;25(8):2323-2331.

(242) Fehniger TA, Cai SF, Cao X, Bredemeyer AJ, Presti RM, French AR, et al. Acquisition of murine NK cell cytotoxicity requires the translation of a pre-existing pool of granzyme B and perforin mRNAs. *Immunity* 2007 -06;26(6):798-811.

(243) Thanki K, Nicholls ME, Gajjar A, Senagore AJ, Qiu S, Szabo C, et al. Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and their Clinical Implications. *Int Biol Biomed J* 2017;3(3):105-111.