



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud

Evaluación de la expresión de CDX2 como factor asociado con supervivencia global en pacientes con carcinoma de colon etapa I y II: un estudio retrospectivo de Cohorte

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

Luis Fernando Oñate Ocaña

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Claudia María García Cuéllar, Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud, México.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dr. Luis Alonso Herrera Montalvo, Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Dr. David Cantú de León, Instituto Nacional de Cancerología.

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 1 de octubre de 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos:

Muchas gracias a Ximena y a Daniel, por todo el sentido que le dan a mi vida...

Gracias a los pacientes del INCan, porque son el sentido de nuestro trabajo.

Este proyecto fue financiado en su totalidad por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología; Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (FOSSIS), Número de registro 272334 Ciudad de México, México.

ÍNDICE

1. SÍNTESIS DEL PROYECTO	
1.1 Antecedentes	4
1.2 Metodología	4
1.3 Resultados	5
1.4 Conclusión	5
2. ANTECEDENTES	
2.1 Epidemiología	6
2.2 Factores de pronóstico	8
2.3 Clasificación molecular	13
2.4 Quimioterapia adyuvante en etapas I y II	14
2.5 Modelos de pronóstico	16
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
4. JUSTIFICACION	20
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
6. HIPÓTESIS	21
6.1 Hipótesis nula	21
6.2 Hipótesis alterna	21
7. OBJETIVOS	21
8. METODOLOGÍA	23
8.1 Factibilidad	23
8.2 Pacientes	23
8.3 Factores de pronóstico.	24
8.4 Histopatología	25
9. ANÁLISIS DE DATOS	27
10. RESULTADOS	30
10.1 Pacientes	30
10.2 Análisis de supervivencia	31
10.3 Analisis multivariado	35
11. DISCUSIÓN	38
12. CONCLUSIONES	45
13. REFERENCIAS	46

1. Síntesis del proyecto

1.1 Antecedentes

El carcinoma colorrectal es actualmente la neoplasia gastrointestinal mas frecuente en México. La cirugía radical es el tratamiento curativo por excelencia, pero muchos pacientes requieren de quimioterapia adyuvante para mejorar los desenlaces. Sin embargo, en etapas I y II, muchos pacientes presentan recurrencia después de la cirugía aparentemente curativa, y no existe un criterio uniforme que nos permita definir que pacientes necesitan la quimioterapia adyuvante. Hasta ahora, se definen en función de factores sustentados con bajo nivel de evidencia.

La expresión de CDX2 o de MUC2, definidas por inmunohistoquímica se han reportado como recursos muy útiles para este fin. En consecuencia, el objetivo del presente estudio es definir un modelo de pronóstico integrado, enfocado en pacientes con carcinoma de colon en etapa I y II, y basado en variables demográficas, clínicas e histopatológicas.

1.2 Metodología

Este es un estudio de cohorte, integrado en una cohorte hospitalaria, recolectando la información de manera retrospectiva, de pacientes consecutivos con carcinoma de colon con etapas I and II, sometidos a hemicolectomía o sigmoidectomía radical, con estudio completo de patología quirúrgica, que se atendieron en un centro de referencia de cáncer durante un período de 25 años. Se registraron las variables demográficas, clínicas, histopatológicas, e inmunohistoquímicas (especialmente expresión de CDX2 y MUC2) que han sido reportadas como factores de pronóstico potencialmente útiles.

El análisis bivariado de los factores de pronóstico asociados con la supervivencia global (SG) se realizó mediante el método de Kaplan-Meier, y el análisis multivariable de esta misma asociación, mediante el modelo de riesgos proporcionales de Cox. Se evaluó el modelo final, y el impacto del modelo sobre la SG se evaluó mediante las funciones de supervivencia estimadas por el modelo mismo, como propuesta de validez interna.

1.3 Resultados

Se incluyó un total de 556 pacientes en esta cohorte. El 48.4% fueron de colon derecho, el 6.7% de transverso, el 10.4% de colon izquierdo y 34.5% de sigmoides. La expresión por inmunohistoquímica de CDX2 y de MUC2 no tuvo valor pronóstico. Mediante análisis multivariable, la localización de la neoplasia en el colon, el índice de masa corporal, el hematocrito inicial, el conteo de plaquetas en sangre, la razón neutrófilos/linfocitos, el índice pronóstico nutricional, la razón albúmina/monocitos, la clasificación T, la presencia de morbilidad postoperatoria, la cosecha quirúrgica de 20 ganglios linfáticos o mas y el uso de quimioterapia adyuvante se encontraron independientemente asociados a SG. Este modelo nos permitió definir cinco grupos de pronóstico con importantes diferencias en la supervivencia global estimada.

1.4 Conclusión

El modelo propuesto es simple y fácilmente accesible con los recursos disponibles en la mayoría de los hospitales en el mundo. Complementa la clasificación T y mejora el rendimiento de la estratificación del riesgo en este subgrupo de pacientes. Se requiere de validación externa, y podría ser utilizado en el diseño de estudios fase III que exploren la utilidad de la quimioterapia adyuvante en este subgrupo de pacientes. También puede ser usado en el diseño de protocolos de vigilancia, y puede complementarse con perfiles de expresión genética, presencia de mutaciones puntuales y marcadores epigenéticos.

2. Antecedentes

2.1 Epidemiología

El carcinoma a colorrectal es un grave problema de salud pública a nivel mundial. Es la segunda causa de cáncer en el mundo, y en México ocurre algo similar (1). Esta cifra es afín a la reportada en Norteamérica, en Canadá y Estados Unidos, y en general, en los países desarrollados (2, 3).

La Figura 1 muestra la tasa de incidencia y la tasa de mortalidad de diversas neoplasias malignas en México. Estas gráficas muestran la evolución temporal del carcinoma colorrectal; ha incrementado sus tasas de incidencia y de mortalidad desde 2008, tanto en mujeres como en varones, según Globocan (1).

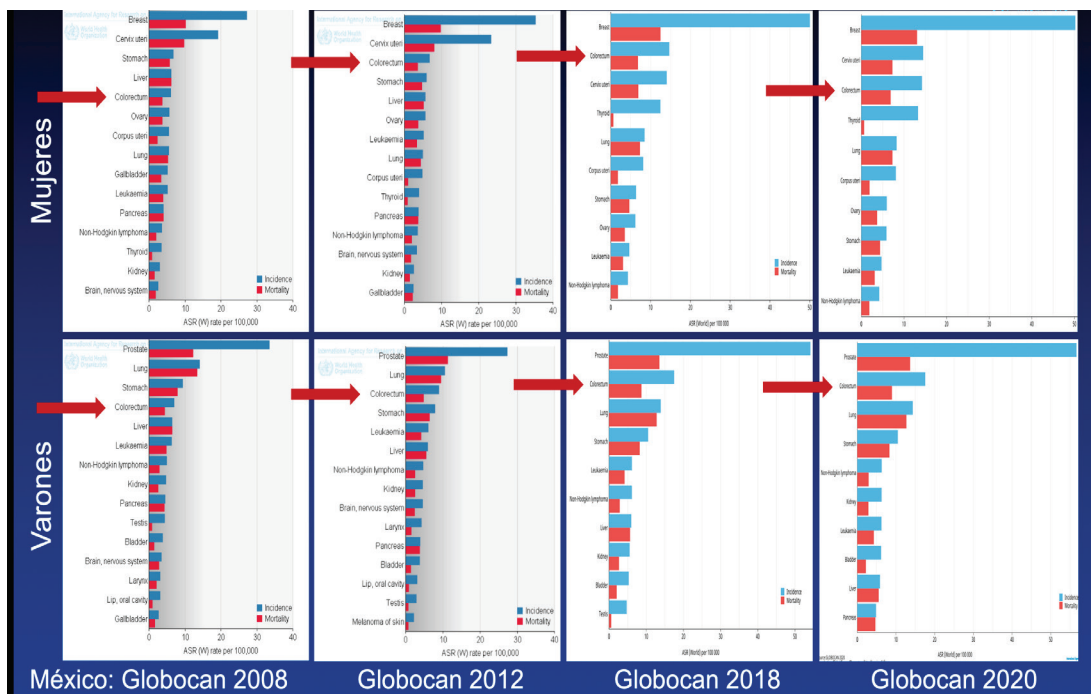


Figura 1.- Tasas de incidencia (azul) y mortalidad (rojo) estandarizadas por edad en México, en 2008, 2012, 2018, y 2020, tanto para mujeres como para varones (imagen modificada de Globocan, <https://gco.iarc.fr>).

Aproximadamente el 50% de los casos de cáncer colorrectal mueren como resultado de la enfermedad recurrente o progresiva que ocurre después de un tratamiento aparentemente exitoso.

El cáncer colorrectal es una enfermedad sumamente heterogénea desde el punto de vista de su etiopatogenia y su comportamiento clínico, de tal suerte que, inicialmente, vale la pena hacer la diferencia entre el cáncer de colon (CC) y el cáncer de recto. En la Figura 2 se muestra un esquema del colon y del recto.

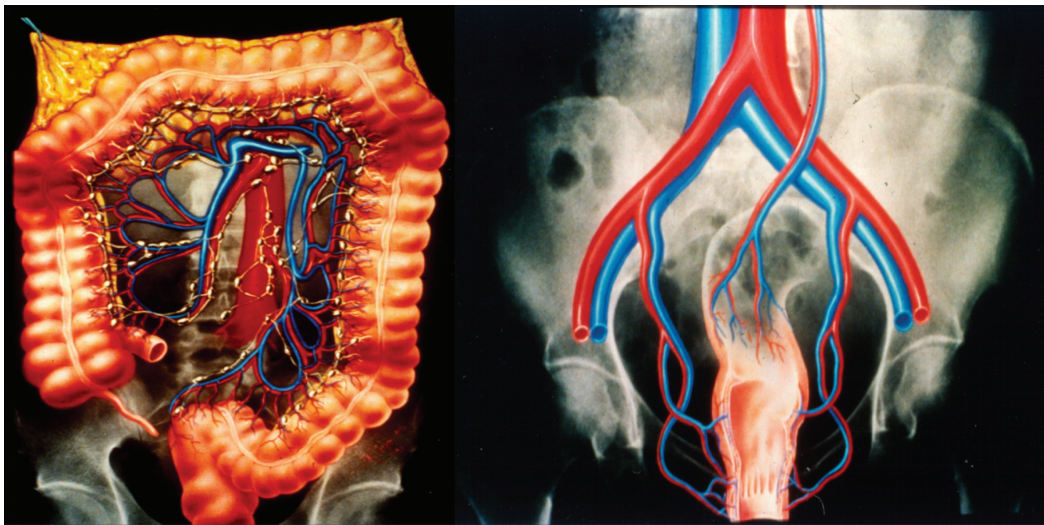


Figura 2.- Esquemas de la anatomía del colon y del recto.

Las diferencias anatómicas que determinan un comportamiento clínico sustancialmente diferente, es la ausencia de serosa en el recto, que el colon tiene circulación mesentérica, y que el recto tiene doble circulación (mesentérica e iliaca). Estas diferencias determinan que el cáncer de recto presente una mayor frecuencia de diseminación locoregional y su tratamiento preoperatorio es la predominantemente locoregional (radioterapia potencializada con quimioterapia). A diferencia del resto del colon, que posiblemente por la presencia de la capa serosa que confiere cierta protección ante la diseminación locoregional del tumor primario, las recurrencias a distancia son mas frecuentes, y su tratamiento adyuvante postoperatorio es predominantemente sistémico (quimioterapia).

Por esta razón es que en el presente estudio nos centraremos en el CC específicamente. Además, adelante describiremos otras razones.

La cirugía radical es ampliamente reconocida como la mejor opción curativa en los pacientes con CC localizado o localmente avanzado (4).

Descubrimientos recientes en la heterogeneidad de esta enfermedad ha mostrado diferentes subgrupos de pacientes con pronósticos sustancialmente diferentes y patrones diversos en cuanto a la posibilidad de respuesta exitosa después del tratamiento (4, 5). La edad y la localización de la neoplasia en el colorrecto parecen mostrar diferencias fundamentales desde el punto de vista biológico, clínico, y respuesta al tratamiento, y por tanto, en el pronóstico, que se están identificando recientemente (6).

Hoy parece claro que el cáncer colorrectal está incrementándose en su incidencia en personas jóvenes, y por lo contrario, su incidencia en pacientes mayores se está reduciendo (6). Las características clínicas, histopatológicas y mutaciones genéticas que se han identificado en pacientes jóvenes con cáncer colorrectal son sustancialmente diferentes que en los pacientes mayores (6). También, los pacientes jóvenes con CC y de recto tienen un riesgo elevado de presentar anomalías genéticas, como la inestabilidad microsatelital, confiriendo mayor riesgo de presentar neoplasias agresivas con factores de histopatología adversos, como bordes de invasión más agresivos, mutaciones de KRAS/BRAF, y mayor frecuencia a metástasis a ganglios linfáticos regionales (7, 8).

2.2 Factores de Pronóstico

Un paradigma muy prevalente y ampliamente reconocido en la actualidad es que las metástasis producidas durante la evolución de una neoplasia maligna, se implantan inicialmente en un ganglio linfático, y posteriormente, después de la evolución clonal de estas metástasis ganglionares, estas nuevas clonas adquieren la propiedad de circular por la vía hematológica e invadir órganos a la distancia.

Este modelo conceptual es el alimento de la base causalista del sistema de clasificación TNM (tumor-nódulo-metástasis) de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) (9), y hasta la fecha corresponde al fundamento del tratamiento quirúrgico radical que incluye la

linfadenectomía regional, resección en bloque, y adicionalmente, los tratamientos adyuvantes (4, 5).

En este sentido, la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, durante el momento de la resección radical aparentemente curativa, es un factor de pronóstico sumamente importante (4, 5, 9).

En general, los pacientes con enfermedad N0, es decir, sin metástasis en los ganglios linfáticos cosechados durante la resección radical, presentan buen pronóstico. Sin embargo, del 10 al 17% de los pacientes con etapa I, y del 20 al 30% de los pacientes con etapa II recurren (subrayando, todos con enfermedad N0) (10, 11).

A la inversa, entre el 40% y el 60% de los casos de metástasis recurrentes después de un tratamiento aparentemente curativo, se desarrollarán en pacientes con enfermedad N0, lo que implica que pueden desarrollarse metástasis a distancia en ausencia de metástasis ganglionares (9, 10).

En términos generales, la AJCC ha sido renuente a incluir factores de pronóstico adicionales a los tres componentes clásicos del pronóstico: *tumor, nódulo linfático y metástasis (TNM)*, para modificar el constructo de la clasificación por etapas. Sin embargo, actualmente está ampliamente reconocido que la clasificación TNM requiere complementarse con la inclusión de diversos factores de pronóstico que se están reconociendo recientemente, mediante estudios de cohorte o re-análisis de estudios controlados por sorteo, con el objetivo de incrementar su confiabilidad y su exactitud predictora, y así, dirigir de manera mas eficiente los algoritmos de tratamiento en la era de la medicina de precisión (12, 13, 14).

Los principales factores de pronóstico ahora aceptados por la AJCC son el grado de diferenciación, la invasión vascular venosa y linfática, y la invasión perineural (9); pero la cantidad de nuevos factores de pronóstico que pueden potencialmente incrementar el poder pronóstico de la clasificación TNM es muy importante (5).

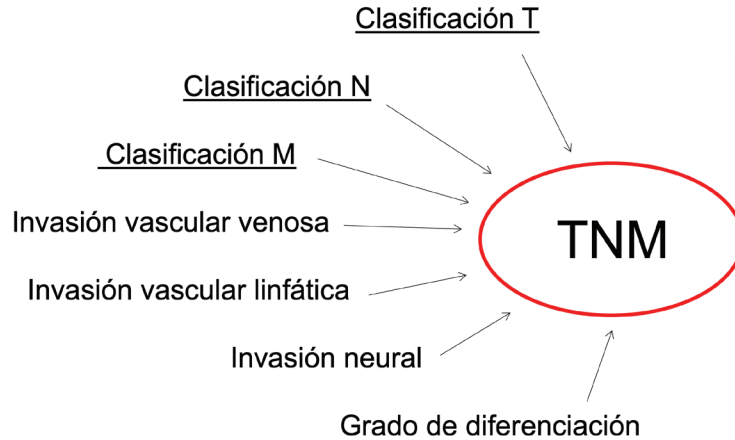


Figura 3.- La octava edición de la clasificación TNM de la AJCC implica los tres factores clásicos (TNM) y ya se han aceptado cuatro factores adicionales.

Etapas	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1-T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3,4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	T cualquier	N cualquier	M1a
IVB	T cualquier	N cualquier	M1b
IVC	T cualquier	N cualquier	M1c

Tabla 1.- Clasificación TNM de la AJCC en su octava edición (TX, no evaluable; Tis, in situ; T1, submucosa; T2, muscularis propia; T3, tejido pericorrecal; T4a, peritoneo visceral; T4b, órganos adyacentes. N0, ganglios negativos; N1, 1–3 positivos; N1a, 1; N1b, 2–3; N1c, implantes subserosos, mesenterio, sin metástasis a ganglios.

N2, ≥4; N2a, 4–6; N2b, ≥7; MX, no evaluable; M0, sin metástasis; M1, con metástasis; M1a, en un solo sitio; M1b, en dos o más sitios; M1c, carcinomatosis peritoneal.

La diseminación de las células neoplásicas, desde la lesión primaria hasta los ganglios linfáticos regionales, se asocia con menor supervivencia.

El modelo hegemónico que utiliza la AJCC para explicar esta asociación postula que las metástasis a órganos distantes, que habitualmente se asocian a la mortalidad por cáncer, son originarias de las metástasis en éstos los ganglios linfáticos. Ya mencionamos que es el origen del postulado mecanicista de la clasificación TNM y es la razón que anima a los cirujanos a realizar resecciones radicales, que creemos, controla y cura la enfermedad en muchos pacientes.

La Tabla 1 muestra la integración de la clasificación TNM con base en los tres mas importantes factores de pronóstico reconocidos actualmente.

Esta clasificación, hasta el momento, es lo mejor que tenemos para definir el pronóstico de cada paciente y se seleccionar el mejor tratamiento para cada caso. Sin embargo, incompleto, a veces incongruente, y por lo menos, es perfectible (Figura 4).

En esta figura mostramos el mejor ejemplo de incongruencia que describimos con detalle mas abajo.

En un interesante estudio, 213 muestras de biopsias de archivo de 17 pacientes con cáncer colorrectal, se analizaron utilizando variantes somáticas en regiones hipermutables del ADN para reconstruir árboles filogenéticos de alta confianza.

Los autores reportan que en el 65% de los casos, las metástasis a ganglio linfático y las metástasis distancia se desarrollaron de subclonas independientes en el tumor primario, mientras que solo en el 35% de los casos compartían un origen subclonal común (15).

Es decir, que en la mayoría de los pacientes existen dos relaciones de linaje diferentes entre las metástasis linfáticas y las metástasis en órganos distantes en el cáncer colorrectal, aun cuando esta diferencia no existe en algunos pacientes (16)

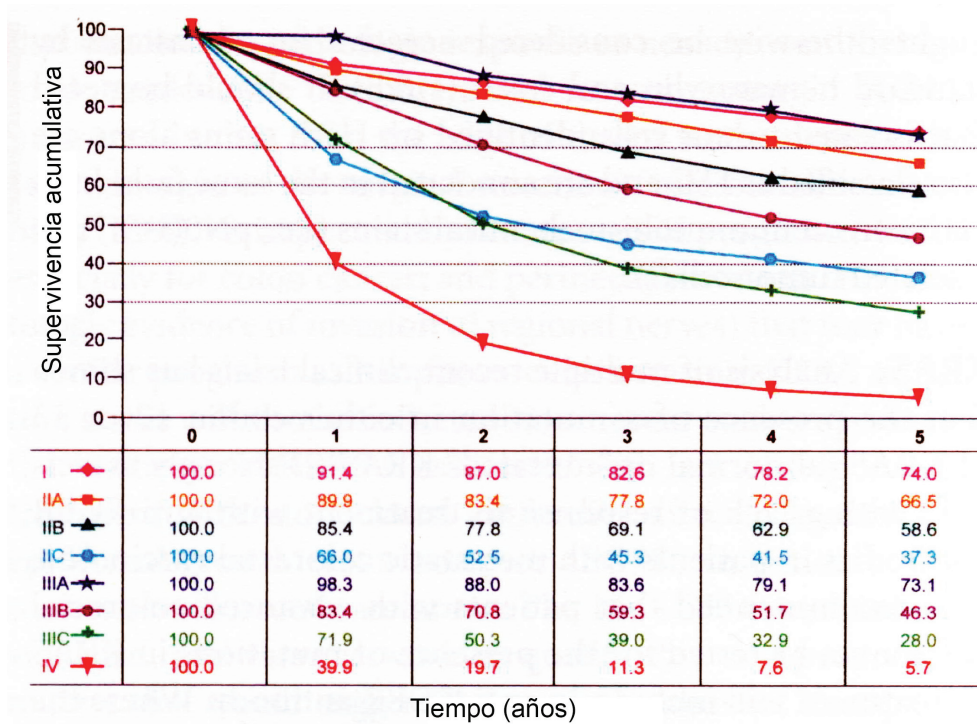


Figura 4.- Curvas de supervivencia global en pacientes con carcinoma colon (1973-2005), modificado del texto de la clasificación TNM de la AJCC (referencia 17).

La figura 4 reproduce las curvas de supervivencia de la séptima edición de la clasificación TNM de la AJCC (17). La octava edición no tiene esta gráfica para poder presentarla actualizada, pero el problema es el mismo.

Los pacientes con etapa IIC y IIIC tienen casi la misma supervivencia global, y por lo contrario, los pacientes con etapa IA tienen peor supervivencia que los pacientes con la etapa IIIA. No existe un gradiente biológico claro en cuanto al pronóstico.

Los pacientes que deberían tener mejor pronóstico, lo tienen peor. Algo está mal, y actualmente el medio oncológico conoce este problema y se está estudiando como resolverlo. La clasificación TNM tiene que mejorar (18).

La AJCC ya ha reconocido que se requiere de predicciones probabilísticas más efectivas que las proporcionadas por el sistema de clasificación TNM clásica. Se requiere el desarrollo de modelos o calculadoras de riesgo más precisos y que sean elaborados de manera correcta. Sin embargo, juzgar la calidad y aceptabilidad de un modelo de riesgo es complicado (19).

La AJCC ya estableció los criterios de inclusión y exclusión necesarios para que un estudio que presente un modelo de riesgo sea potencialmente respaldado, es decir, evaluado y validado. Se reconoció que las predicciones probabilísticas personalizadas para pacientes con cáncer son prometedoras, y se espera que estos criterios aceleren en gran medida este proceso (19).

Estas ideas conforman el modelo conceptual que justifica el presente trabajo de tesis.

2.3 Clasificación Molecular

Como parte del estudio de cáncer colorrectal, en cuanto a la heterogeneidad en sus características de expresión genética, el perfil de mutaciones y su comportamiento clínico, se organizó un consorcio internacional de expertos que definió cuatro subtipos moleculares por consenso con características genéticas muy específicas (20).

CMS1, que se encuentra hipermutado, con inestabilidad microsatelital, con fuerte activación inmune, y que ocurre en el 14% de los casos; CMS2, que es epitelial, con inestabilidad cromosómica, con marcada activación de señalización de WNT y MYC, y que ocurre en el 37% de los casos; CMS3, que es epitelial, desregulación metabólica evidente, y que ocurre en el 13% de los casos; y CMS4, que es mesenquimatoso, con activación prominente del factor de crecimiento transformante β , con invasión del estroma y angiogénesis, y que ocurre en el 23% de los casos (20).

Sin embargo, 13% de los casos no son clasificables porque presentan características mixtas, y posiblemente representan fenotipos de transición o heterogeneidad en diferentes áreas de la neoplasia.

Sin duda, es la clasificación molecular mas popular hoy en día. Pero, en este momento no tiene una aplicación clínica clara para definir tratamientos en pacientes con CC en etapas I y II, sino solamente para aquellos pacientes con enfermedad residual (R2), neoplasias irresecables, en etapa IV, o enfermedad recurrente (20, 21).

2.4 Quimioterapia adyuvante en etapas I y II

Antes de tratar en extenso el problema de los modelos de pronóstico, debo centrar la discusión en función de la utilidad de la quimioterapia adyuvante en pacientes con CC etapas I y II; porque de esto se trata esta investigación.

¿Qué pacientes con CC con etapas I y II, deben ser sujetos de quimioterapia adyuvante después de una resección quirúrgica exitosa cuando se extirparon un número adecuado de ganglios linfáticos regionales y todos con ausencia de metástasis a distancia?

Estudio	Cita	Etapas	n	Control	Hallazgo
Intergroup INT0035	22	II y III	1296	observación	sin beneficio en SG
Impact B2	23	II	1016	observación	sin beneficio en SG
Quasar	24	II y III	3239	observación	sin beneficio en SG
NSABP C01	25	II y III	1166	observación	sin beneficio en SG
NSABP C02	26	II y III	1158	observación	86% vs 76% (p=0.005)
NSABP C07	27	II y III	2407	5-FU/LV	sin beneficio en SG
Mosaic	28	II y III	2246	de Gramont	sin beneficio en SG
Idea pooled analysis	29	II y III	12834	Folfox/Capox	sin beneficio en SG

Tabla 2.- Resumen de los estudios fase III mas relevantes que exploran la utilidad de la quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de colon etapa II. La conclusión de estos estudios es que el beneficio de la quimioterapia adyuvante en pacientes con CC en etapa II es controversial, ya que no se ha demostrado cabalmente en estudios fase III.

Los resultados de todos los estudios clínicos se basan en estudios controlados por sorteo incluyendo pacientes con etapas II y III, pero solamente en análisis de subgrupos de riesgo, y frecuentemente en re-análisis retrospectivos de estos estudios. No se han hecho estudios clínicos en el caso específico de CC en etapas I y II.

Se estima que el beneficio de la quimioterapia en CC en etapas I y II es de un incremento en la supervivencia del 2 al 5% al utilizar quimioterapia con respecto a no usarla. De tal suerte, que el proceso de toma de decisiones debe considerar, primero que nada, las

preferencias del paciente, las comorbilidades del paciente, su estado funcional, y otras evaluaciones de riesgo, incluyendo la esperanza de vida del paciente. Pero, sería un gran avance contar con algún método que nos permita seleccionar aquellos pacientes que tienen alto riesgo con un grado elevado de certeza.

Es posible que la inestabilidad microsatelital pueda ser un buen marcador de pronóstico en etapas I y II. El pronóstico es bueno, y es posible que los pacientes con etapa II con proficiencia en MMR deben tratarse con quimioterapia adyuvante basada en platino (30). Pero es importante mencionar que esta información proviene de estudios retrospectivos y algunos re-análisis de estudios fase III.

Un excelente estudio de cohorte sugiere que la inestabilidad microsatelital no es un buen factor de pronóstico para estos pacientes (31).

Cabe señalar que el uso de quimioterapia adyuvante debe considerar la edad, las comorbilidades y el riesgo potencial de diversas complicaciones. Las fluoropirimidinas son la piedra angular del tratamiento adyuvante en CC, y se asocia a diversas toxicidades, como mucositis, diarrea, vómito, neutropenia, trombocitopenia, síntomas cardíacos, y síndrome de mano-pie. El 20% de los pacientes que reciben fluoropirimidinas experimentan eventos adversos de grado 3 ó 4, y entre el 0.5 y el 1% se mueren por estas complicaciones (32).

Las pruebas para evaluar la función de la dihidropirimidina deshidrogenasa pueden ayudar a predecir que pacientes van a presentar toxicidad grave con el uso de fluoropirimidinas, e incluso quienes tienen riesgo de fallecer por toxicidad del tratamiento adyuvante (33). Este es un detalle que puede influir en la decisión de usar quimioterapia adyuvante o no en pacientes con CC en etapas I y II.

Un método muy popular para escoger el uso de quimioterapia adyuvante implica la detección de la enfermedad residual mínima mediante la evaluación de DNA neoplásico circulante (ctDNA) en la sangre del paciente después de una cirugía radical aparentemente curativa (34).

Un estudio controlado por sorteo, se estudió la utilidad del ctDNA en la toma de decisiones de empleo de quimioterapia adyuvante en 355 pacientes con cáncer colorrectal etapa II (T3 y T4, N0, M0) (35).

En un grupo de 302 pacientes la decisión se guio por los resultados de ctDNA, y en el grupo control de 153 pacientes la decisión se basó en los parámetros estándar (aunque estos parámetros no vienen definidos en el protocolo, ni en el manuscrito) (35).

En el grupo sometido a evaluación de ctDNA, se empleó la quimioterapia adyuvante en 15%, y en el grupo NO sometido a evaluación de ctDNA, se empleó la quimioterapia adyuvante el 28% de los pacientes. Un serio inconveniente de este estudio es que el esquema de quimioterapia fue sustancialmente diferente en los dos grupos, y la supervivencia libre de recurrencia a dos años fue de 93.5% en el grupo guiado por ctDNA y de 92.4% en el grupo control; una diferencia sin significado clínico ni estadístico (35).

De tal suerte, que este novedoso método se encuentra todavía en fase de investigación, es muy costoso y no está disponible en muchos centros a nivel mundial, y en ninguno en México para octubre de 2023.

Hasta este momento, solamente los parámetros clínicos como son obstrucción, hemorragia grave, perforación, uso de prótesis metálica o colostomía previas a la cirugía, fuga anastomótica postoperatoria, enfermedad T4, cosecha de patología quirúrgica menor de 12 ganglios linfáticos, o carcinoma con células en anillo de sello, son los que se usan para decidir el empleo de quimioterapia adyuvante (36).

2.5 Modelos de pronóstico

Existen muchos modelos de pronóstico para predecir recurrencia o supervivencia en pacientes con cáncer colorrectal. Algunos de estos modelos incluyen pacientes con carcinoma colorrectal, otros solo cáncer de recto y otros más solo CC, algunos incluyen pacientes con todas las etapas clínicas, y otros modelos describen solo ciertos subgrupos de interés. Además, muchos estudios utilizan modelos simples con solo una variable de interés, otros son modelos multivariados que emplean varios factores de pronóstico.

Por parsimonia, nos dedicaremos ahora a describir lo mas relevante en el caso particular del CC en etapas I y II, porque es el problema que nos interesa en función de la información descrita en la tabla 1 (37).

Nuestro grupo publicó el primer intento mexicano por definir los factores de riesgo y de pronóstico en pacientes con CC en etapa I y II, en el INCan en 2004, con pocos pacientes (38).

Recientemente, definimos una serie de factores de pronóstico clínicos e histopatológicos muy sencillos que pueden definir el pronóstico en pacientes con carcinoma colorrectal en general (39), definimos diferencias de factores de pronóstico entre las neoplasias de colon derecho y colon izquierdo (40), y se describió un factor de pronóstico novedoso, el índice pronóstico nutricional, en carcinoma colorrectal (41).

Se ha estudiado la presencia de micrometástasis en ganglio linfático, identificadas mediante inmunohistoquímica dirigida a un panel de citoqueratinas, en aquellos pacientes en los que el patólogo reportó ausencia de metástasis, clasificados como N0, y se considera que este es un factor de pronóstico potencialmente útil (42). Este factor requiere de estudiar cada ganglio linfático resecado mediante inmunohistoquímica para detectar expresión de citoqueratinas, lo que permite revelar fácilmente una célula neoplásica rodeada de multiplicidad de células linfoides normales.

Esta es una excelente idea, pero muy costosa y laboriosa.

El tipo de borde de invasión de la neoplasia hacia el tejido sano (tumor budding) es un factor de pronóstico muy estudiado recientemente en diversas neoplasias malignas (43). El borde de invasión puede ser nítido, o puede haber prolongaciones neoplásicas hacia el tejido sano, o incluso puede haber células neoplásicas independientes o en grupos que invaden de una manera aparentemente independiente o autosuficiente el estroma del tejido sano. Este último hallazgo es un factor que representa gran agresividad y mal pronóstico (43,44). Este factor de pronóstico se está estudiando en muchas neoplasias malignas, incluso cáncer colorrectal.

Resumiendo, se han considerado muchos factores de pronóstico, dependiendo de las posibilidades e interés de cada investigador (44,45,46).

Por supuesto que, en CC en etapas I y II, en primer lugar, deben considerarse los factores propuestos por la AJCC: clasificación T, infiltración vascular venosa, infiltración vascular linfática, infiltración neural, infiltración vascular y el grado de diferenciación.

La expresión de la proteína CDX2 se asocia con diferenciación intestinal, y además interacciona con el promotor de MUC2 para activar la transcripción de MUC2 que a su vez tiene un papel en la diferenciación de las células productoras de moco intestinal (goblet cells).

Recientemente se describió el posible papel pronóstico de la expresión de CDX2 en CCI, determinada por inmunohistoquímica, en el núcleo de las células neoplásicas, tanto en su asociación con la SG como en la selección de los mejores candidatos a recibir quimioterapia adyuvante. La nula expresión de CDX2 se asoció con el peor pronóstico y la mejor utilidad del empleo de quimioterapia adyuvante (47). Pero, este es un estudio observacional, retrospectivo que incluyó pacientes en etapa II y III, que se replicó posteriormente en muchas publicaciones, y que además comprendieron pacientes con cáncer de recto (48). La conclusión de este meta-análisis es que la expresión de CDX2 es un factor de pronóstico significativo que vale la pena considerar (48).

El siguiente factor de interés, está representado por la expresión de la proteína MUC2, también definida por inmunohistoquímica, dado que se ha identificado que la expresión de la proteína CDX2 no es homogénea en toda la neoplasia, sino que hay regiones con mayor o menor expresión de CDX2. Los autores de este trabajo sugieren que la expresión de MUC2 es mas homogénea a través de todo el tejido neoplásico, que tiene un mejor papel como factor de pronóstico, e incluso sugiere que la evaluación de ambas expresiones (CDX2 y MUC2) simultáneamente puede tener ventajas como factor de pronóstico (49).

Se ha descrito que la reacción desmoplásica en la neoplasia, categorizada como inmadura, intermedia y madura, mediante la evaluación de la histopatología con microscopía de luz con tinción estándar de hematoxilina y eosina, es un factor de pronóstico fundamental en CC etapa II (50).

Tanto la reacción desmoplásica como el tipo de borde de invasión, parecen dos factores muy importantes porque son accesibles en cualquier parte del mundo, siempre y cuando se cuenta con onco-patólogos bien entrenados en la subjetividad de la categorización (43,50). Desde hace algunos años se ha publicado la utilidad de la presencia de linfocitos infiltrantes en la neoplasia (TIL) como factores de pronóstico en CC. La alta densidad de presencia de linfocitos CD45RO+ y FOXP3+, determinados mediante inmunohistoquímica, se asocia a un mejor pronóstico en pacientes con CC etapa II (51).

Actualmente existe un panel comercial de inmunohistoquímica (*Inmunoscore*) que evalúa la presencia de TIL como factores de pronóstico en cáncer colorrectal (52). Esta tecnología debe considerarse todavía como en fase de investigación, dado que los estudios han sido financiados por la industria, y hasta donde sabemos no hay estudios fase III que demuestren su utilidad clínica seleccionando a los mejores candidatos en etapa I y II para quimioterapia adyuvante.

Hasta ahora los niveles preoperatorios de antígeno carcinoembrionario no se habían considerado importantes en pacientes con CC etapas I y II. Sin embargo, dado que habitualmente se solicitan como parte de la evaluación basal en todos los pacientes, porque se ha demostrado ya su utilidad durante el seguimiento a largo plazo de todos los pacientes tratados, debe considerarse en cualquier modelo integrado de pronóstico (53).

3. Planteamiento del problema

Hasta ahora hemos descrito múltiples puntos de vista de factores de pronóstico para evaluar el riesgo, SG, y utilidad de la quimioterapia adyuvante en CC etapas II y III. Y hasta el momento, no hay un factor de pronóstico único o un modelo integrado por varios factores de pronóstico relevantes que se considere suficiente y que esté universalmente aceptado. Consecuentemente, tiene sentido explorar la utilidad un modelo de pronóstico multivariable, integrando, incluyendo cada uno de los factores de pronóstico que se han mencionado, favoreciendo los factores mas accesibles desde el punto de vista de la economía, la factibilidad y de alta tecnología que sabemos se encuentra limitada en la mayor parte del mundo, ponderado su impacto relativo en el pronóstico.

Sin ninguna duda hemos incluido pacientes con CC en etapa I, porque, si bien tienen mejor pronóstico, el 10% recurren. Incluyéndolos, se espera incrementar el impacto estadístico y la visibilidad de los factores mas relevantes y mostrar un gradiente biológico mas claro (54). Además. Pretendemos identificar que pacientes en etapa I pueden ser candidatos a quimioterapia adyuvante por tener riesgo elevado (54). Asumiremos que hay muy pocos, pero que existen.

Por otro lado, se ha reportado la utilidad de mediciones simples, procedentes de la biometría hemática basal, al momento del diagnóstico, como factores de pronóstico relevantes (razón neutrófilos-linfocitos [NLR], razón linfocitos-monocitos [LMR] y razón plaquetas-linfocitos [PLR]) en CC en etapa I (39,41,55).

En todo momento se han considerado las recomendaciones del CAP (College of American Pathologists) en la selección de estos factores para ser estudiados (56).

4. Justificación

El CC es muy frecuente en México y su tendencia es al alza como ocurre en los países en vías de desarrollo. Además, la frecuencia de CC en la población joven (menores de 50 años) está aumentando vertiginosamente; y además, esperamos que la frecuencia relativa de pacientes en etapas I y II se incrementen también con respecto a etapas mas avanzadas, dado que hasta el momento las etapas III y IV predominan en nuestro país. Un modelo de pronóstico como el que se plantea es fundamental, tanto para la optimización de los recursos limitados, en cuanto a medicamentos antineoplásicos e infraestructura material y humana, como para la optimización en cuanto al riesgo de toxicidad y complicaciones potencialmente graves asociadas a los tratamientos antineoplásicos.

Un estudio como el que se ha planteado es factible dado que los pacientes ya se atendieron y ya presentaron los desenlaces. De manera que los costos del estudio se reducen a los estudios de factores de pronóstico que no están presentes en el expediente clínico, particularmente los estudios de inmunohistoquímica (equipos, anticuerpos, tinciones, microscopio, software y medios de respaldo digitales).

5. Pregunta de investigación

¿es posible definir un modelo de pronóstico, multivariable, integrado, incluyendo factores de pronóstico de fácil acceso (demográficos, clínicos, histopatológicos), que sea útil para discriminar la SG en un grupo de pacientes con CC en etapas I y II?

6. Hipótesis

6.1 Hipótesis nula

El modelo multivariado que se pretende desarrollar no tendrá la capacidad de definir grupos de pronóstico diferencial, y tendrá una r^2 menor del 0.6.

6.2 Hipótesis alterna

El modelo multivariado que se pretende desarrollar tendrá la capacidad de definir al menos tres grupos de pronóstico diferencial, y tendrá una r^2 superior a 0.6.

7. Objetivos

7.1 Objetivo primario

- Identificar aquellos factores asociados con la SG, después de cirugía curativa, en pacientes con CC etapas I y II, y desarrollar un modelo multivariado capaz de predecir la SG.

7.2 Objetivos secundarios

Definir el papel pronóstico de los siguientes factores:

- Edad, género, índice de masa corporal, junto con los valores independientes y compuestos de la biometría hemática.
- Índice pronóstico nutricional (albúmina-linfocitos)
- Clasificación T, Tamaño del tumor

- Cosecha ganglionar (número de ganglios obtenidos en el estudio de patología quirúrgica).
- Invasión linfovascular, vascular venosa, perineural, y grado de diferenciación.
- Presencia de hemorragia, ulceración, obstrucción, perforación.
- Expresión de CDX2 y MUC2 evaluadas por inmunohistoquímica.
- Establecer un modelo de pronóstico multivariado aplicando estos factores como covariables.
- Definir el valor pronóstico de los valores de la función de supervivencia predicha de este modelo.

8. Metodologías de Investigación

8.1 Factibilidad

Es factible. Hemos definido una muestra de alrededor de 600 pacientes con CC en etapas I y II que pueden ser candidatos a ser incluidos en este proyecto, de tal modo que dependemos de la revisión de los expedientes y la disponibilidad de bloques de parafina adecuados para los estudios de inmunohistoquímica.

Este proyecto ha sido apoyado por Conahcyt (Fosis: 272334), de tal suerte que se cuenta con los recursos necesarios para la compra de anticuerpos específicos para CDX2 y MUC2, y se cuenta con los procedimientos montados, con los equipos de microscopía y de patología digital requeridos.

8.2 Pacientes

Se pretende incluir a los pacientes consecutivos con CC en etapa I y II, que se atendieron en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) en la ciudad de México, desde enero de 1992 hasta diciembre de 2016 fueron incluidos en este estudio de cohorte retrospectivo. Los criterios de inclusión fueron personas mayores de 17 años, con radiografía simple de tórax, ultrasonografía de hígado, con TAC contrastada y/o PET-CT con ¹⁸FDG como contraste, con colonoscopia completa, con estudio completo de histopatología demostrando carcinoma de colon, y que hayan sido sometidos a resección quirúrgica radical con linfadenectomía del mesocolon.

Se incluyeron todos los pacientes en los que se empleó quimioterapia adyuvante o no, y se incluyó cualquier tipo de quimioterapia adyuvante, basadas en fluoropirimidinas o compuestos de platino, ya sea con esquema completo o incompleto.

El estudio de patología quirúrgica, y TAC de tórax y abdomen deben haber sido negativas para metástasis, y se debe haber demostrado enfermedad T₁ a T₄, con N₀, M₀.

No se incluyeron pacientes con tumores del apéndice cecal ni de recto, o con histopatologías diferentes a carcinoma.

El “Comité de Investigación” y el “Comité de Bioética en Investigación” del INCan, revisaron y aprobaron el protocolo de estudio (número de registro Rev/01/15). Todos los métodos de investigación se realizaron de acuerdo a las guías nacionales y regulaciones vigentes.

8.3 Factores de pronóstico

Los datos se extrajeron de las historias clínicas de los pacientes, incluyendo la historia clínica, el examen físico, la biometría hemática y bioquímica sanguínea, los marcadores tumorales, los procedimientos quirúrgicos, los datos de patología quirúrgica y el uso de quimioterapia adyuvante. Además, se identificaron las cifras basales preterapéuticas de la razón neutrófilos/linfocitos (NLR), razón neutrófilos/plaquetas (NPR), razón plaquetas/linfocitos (PLR), razón albúmina/globulina (AGR) e índice nutricional pronóstico (PNI) [(albúmina sérica en g/dL × 10) + (0.005 × recuento total de linfocitos en células/mm³)] (57). En todos los casos se registraron los valores absolutos de las variables continuas, con la intención de categorizarlas por quintiles en caso necesario, o incluso buscar puntos de corte adecuados para categorización binomial o trinomial. Para hacer la clasificación clínica de los pacientes, se utilizó la octava edición del sistema de clasificación TNM de la AJCC (se re-etapificaron todos los pacientes) (9).

La localización de la neoplasia se identificó como colon derecho, colon transverso, colon izquierdo, y colon sigmoides de acuerdo a los límites convencionales.

La cirugía se codificó como hemicolectomía derecha o izquierda, o sigmoidectomía radical. Se registró el estado de la enfermedad residual microscópica después de la resección quirúrgica radical (R0 frente a R1), y se excluyeron los pacientes con enfermedad residual R2 (9). La obtención de estos datos se realizó mediante la revisión de la nota operatoria. La quimioterapia adyuvante se utilizó principalmente en pacientes con enfermedad T3-T4, neoplasias pobres/indiferenciadas, o en caso de hemorragia aguda, oclusión intestinal, o perforación intestinal según el especialista en Oncología Médica.

El seguimiento de los pacientes se realizó en el departamento de tumores gastrointestinales del INCan, inicialmente cada tres o cuatro meses por los primeros dos años, y posteriormente cada 6 meses o cada año a juicio del especialista.

8.4 Histopatología

En todos los casos se revisó el diagnóstico original histopatológico de carcinoma de colon. Se revisaron además las laminillas conteniendo los ganglios linfáticos obtenidos para confirmar el status de N0, y se confirmó el sitio del bloque de parafina mas adecuado para tomar los cortes de inmunohistoquímica.

El grado de diferenciación se definió usando estándares internacionales, con microscopía de luz, a diferentes aumentos (58,59).

Las laminillas para este estudio proceden todas de tejido fijado en formol, y a partir de bloques de parafina.

Se utilizó el microtomo Hyrax M25 Rotary Microtome (Carl Zeiss Microscopy Deutschland GmbH; Oberkochen, Germany), y en todos los casos se realizaron cortes de 4 μm .

Las tinciones de inmunohistoquímica para CDX2 y MUC2 se realizaron con los anticuerpos monoclonales antihumanos CDX2 (rabbit monoclonal [EPR2764Y] CDX-2, Cell Marque Corporation; Rocklin, CA) y MUC2 (mouse monoclonal [GTX11197] MUC2 antibody [clone: 996/1]; GeneTex; Irvine, CA), ambos validados para aplicaciones diagnósticas.

Se empleó el equipo de tinción automatizada (Ventana Benchmark Automatic Stainer, Roche Diagnostics; Indianapolis, IN).

La recuperación y detección del antígeno se realizó con el equipo Ultra View Universal (DAB Detection kit, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN), y se realizó con el protocolo automatizado Nordic Immunohistochemical Quality Control Organization (www.nordiqc.org).

En todos los casos la tinción de inmunohistoquímica se identificó la expresión nuclear de CDX2, y en todos los casos se comparó con la tinción problema con controles negativos y positivos.

La lectura de las laminillas fue realizada por dos patólogos oncólogos independientes, mediante el empleo del microscopio digital AxioScan Z1 (Carl Zeiss Microscopy Deutschland GmbH; Oberkochen, Germany).

La categorización de la inmunoreacción se realizó según se ha reportado en 4 categorías en nula, leve, moderada e intensa (49).

La concordancia diagnóstica entre dos patólogos, mediante el índice de kappa sopesada, es de 0.87 (IC 95% 0.83-0.91) (49).

Las laminillas de inmunohistoquímica se revisaron en sesiones independientes con dos patólogos oncólogos entrenados, y cegados a la información clínica de cada paciente.

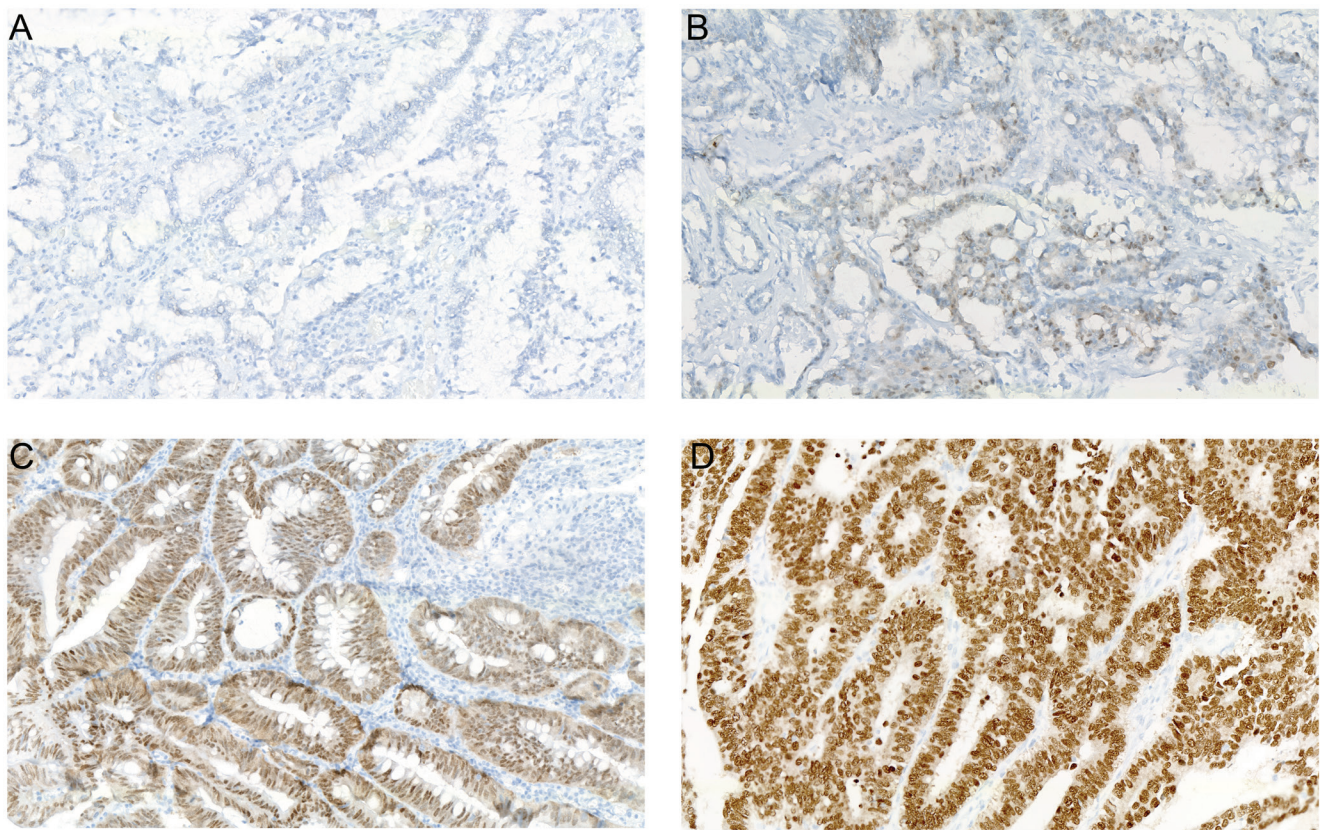


Figura 5.- Imágenes seleccionadas de inmunoreacción para CDX2 en 4 pacientes con CC: A, expresión negativa; B, expresión leve; C, expresión moderada; y D, expresión intensa (aumento original 10x; imágenes obtenidas con el equipo AxioScan Z1).

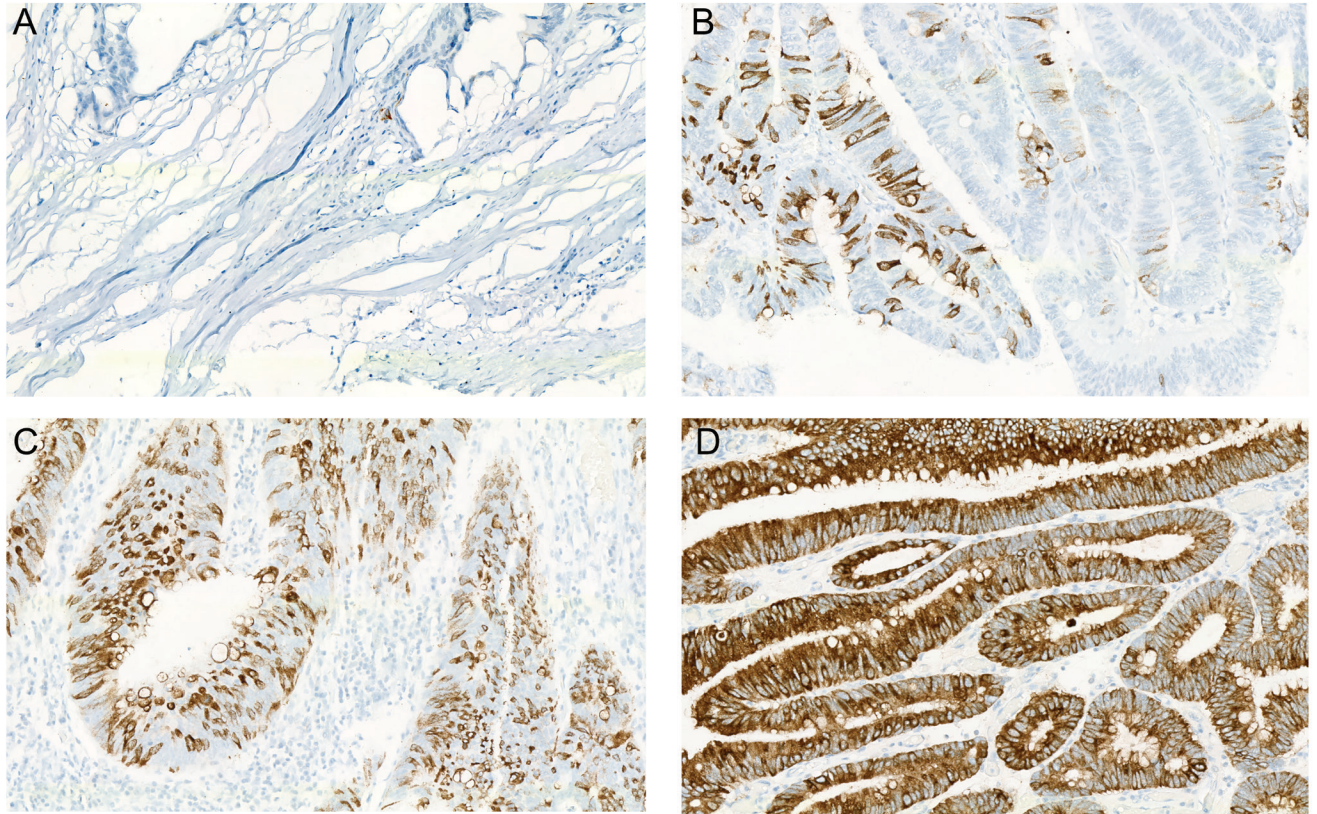


Figura 6.- Imágenes seleccionadas de inmunoreacción para MUC2 en 4 pacientes con CC: A, expresión negativa; B, expresión leve; C, expresión moderada; y D, expresión intensa (aumento original 10X; imágenes obtenidas con el equipo AxioScan Z1).

9. Análisis de Datos

El tamaño de muestra se calculó por conveniencia, dado que inicialmente se estimó que habría 600 pacientes en esta cohorte, con un riesgo de 20% de recurrencias y mortalidad asociada a cáncer, de tal suerte que el modelo multivariado corresponderá a 120 eventos, y por tanto 12 covariables como máximo para reducir el riesgo de sobreajuste (60).

Se realizó el análisis descriptivo de la cohorte y se prefirió trabajar con variables continuas, pero la categorización se hizo por quintiles cuando se encontraron asociaciones multimodales, y para construir curvas de supervivencia (61). Las variables categorizadas con este método se re-categorizaron de acuerdo al tipo de asociación que presentaban con

la variable de desenlace, de tal modo que algunas se re-categorizaron en dos, tres o cuatro subgrupos en lugar de cinco (62).

Se utilizó el método de Kaplan-Meier para construir las curvas de supervivencia y el método de rangos logarítmicos (Logrank) para probar las diferencias.

La supervivencia global (SG) se calculó desde la fecha del diagnóstico del CC, hasta la última fecha registrada en el expediente clínico (63). Los pacientes vivos o perdidos se clasificaron como censurados. Todos los pacientes perdidos al seguimiento a largo plazo por más de tres años, fueron localizados mediante entrevista telefónica con el objetivo de incrementar el tiempo de seguimiento completo.

Se utilizó el modelo de riesgos proporcionales de Cox para el resultado de la SG y se calcularon las razones de riesgo (HR) como una medida de asociación junto con su intervalo de confianza (IC) del 95%. Los factores asociados con la SG con un valor de probabilidad de 0.2 o menos fueron analizados por el modelo de riesgos proporcionales de Cox (63).

El modelado estadístico de los factores de pronóstico se realizó mediante el método de Wald, paso a paso, hacia atrás.

Se realizaron las transformaciones de variables que se consideraron necesarias para el proceso de modelaje, se evaluó la presencia de multicolinealidad, se confirmaron las suposiciones del modelo final (linealidad y proporcionalidad), y se evaluó la presencia de confusores y supresores, la bondad de ajuste y finalmente, se realizó la evaluación de interacciones (63). No hubo valores faltantes en la variable de desenlace, excepto para las observaciones incompletas usuales del análisis de supervivencia. Se utilizó el método de imputación múltiple para el manejo de valores faltantes de las variables independientes (64).

Una vez teniendo el modelo de pronóstico final, se procedió a calcular las funciones de supervivencia de cada paciente, que, a su vez, se dividieron en cinco grupos de pronóstico por quintiles, y se procedió a evaluar el rendimiento del modelo final en cuanto a su asociación con la SG. La categorización de las complicaciones operatorias se realizó de

acuerdo a la clasificación de Clavien-Dindo (65). En todo momento se prefirieron los intervalos de confianza sobre el valor de probabilidad (66). Se consideraron pruebas estadísticas de dos colas en todos los casos, y se utilizó el software estadístico SPSS para Mac versión 28 para todos los cálculos (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

10. Resultados

10.1 Pacientes

Durante el período de tiempo de este estudio, se identificaron 556 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión: 266 mujeres (47.8%) y 290 varones (52.2%). El promedio de edad fue de 57.9 años (Desviación estándar [DE] 15.2; rango, 22–94). La hemoglobina inicial promedio fue de 12.3 g/dL (DE 2.6), el hematocrito inicial promedio fue de 37.9% (DE 7.12), el conteo promedio de neutrófilos fue de 4,700 por mm³ (DE 1.7), el conteo promedio de linfocitos fue de 1,926 por mm³ (DE 682), el conteo promedio de monocitos fue de 623 por mm³ (DE 311), el conteo plaquetario promedio fue de 372,000 por mm³ (DE 160,000), la seralbúmina basal promedio fue de 3.54 g/dL (DE 0.66), la globulina sérica promedio fue de 3.72 (DE 0.85), el índice de masa corporal promedio fue de 24.3 (DE 3.9), y el índice pronóstico nutricional promedio fue de 45.1 (DE 8).

La localización de las neoplasias fue en el colon derecho en 269 casos (48.4%), 37 en el colon transversal (6.7%), 58 en colon izquierdo (10.4%) y 192 en el colon sigmoideos (34.5%). Se identificó la clasificación T en 52 pacientes como T₁ (9.4%), 431 como T₂ (77.5%), 36 como T₃ (6.5%) y 37 como T₄ (6.7%). La clasificación R fue R0 en 548 casos (98.6%), y residual R1 en solamente 8 (1.4%). Se cosecharon un promedio de 18.31 ganglios linfáticos durante la linfadenectomía de todas las resecciones, DE 14.3; rango de 1 a 80). Se reportaron neoplasias bien diferenciadas en 114 pacientes (20.5%), moderadamente diferenciadas en 343 pacientes (61.7%), pobremente diferenciadas en 59 pacientes (10.6%) y en 40 indiferenciadas (7.2%).

Se empleó quimioterapia adyuvante en 205 pacientes que se consideraron empíricamente como de alto riesgo (36.9%) y no se usó en 351 casos (63.1%). En 42 pacientes (7.8%) se presentaron complicaciones operatorias grado 2 o superiores de acuerdo a Clavien-Dindo (65). Ocho pacientes (1.4%) presentaron mortalidad operatoria, y no se excluyeron del análisis.

La expresión por inmunohistoquímica de CDX2 fue negativa en el 13.6% de los casos, levemente positiva en el 13.1%, moderadamente positiva en el 39.7%, e intensamente positiva en el 33.6%. La expresión por inmunohistoquímica de MUC2 fue negativa en el

20% de los casos, levemente positiva en el 25.5%, moderadamente positiva en el 26.9%, e intensamente positiva en el 27.6%.

La expresión de CDX2 y de MUC2 se asoció con el grado de diferenciación según se muestra en la Tabla 3. No se encontró ninguna asociación importante entre la expresión de CDX2 o de MUC2 y otras variables clínicas. Tampoco se encontró asociación con la clasificación T.

Diferenciación\CDX2	negativa	baja	moderada	intensa
Bien	7.3%	2.4%	51.2%	39%
Moderada	11.1%	17.1%	41%	30.8%
Pobre	23.1%	19.2%	26.9%	30.8%
Indiferenciado	20%	0	33.3%	46.7%
Diferenciación\MUC2	negativa	baja	moderada	intensa
Bien	19.4%	16.1%	32.3%	32.3%
Moderada	16.7%	29.5%	33.3%	20.5%
Pobre	21.4%	50%	14.3%	14.3%
Indiferenciado	27.3%	0	9.1%	63.6%

Tabla 3.- Asociación bivariada entre la expresión por inmunohistoquímica de CDX2 y de MUC2 dependiendo del grado de diferenciación del carcinoma de colon (CDX2 y su asociación con grado de diferenciación: $p=0.072$; MUC2 y su asociación con el grado de diferenciación: $p=0.013$; valores de “p” obtenidas empleando Chi cuadrada).

10.2 Análisis de supervivencia

Se registró la muerte en 136 pacientes (24.5%) y 420 (75.5%) casos se consideraron censurados. No se calculó la mediana de seguimiento de esta cohorte por el número de pacientes censurados; los datos de supervivencia de esta cohorte se consideran inmaduros, lo que es esperable por el buen pronóstico de la enfermedad en estas etapas. La mediana de SG en la cohorte fue de 11.7 años (IC 95% 8.3-5.2); la SG promedio fue de 10.8 años (IC 95% 8.7-12.8).

Factor	Razón de riesgos	IC del 95%	p
Edad	1.003	0.992-1.015	0.552
Género masculino	1.074	0.765-1.5	0.679
Hematocrito	0.975	0.953-0.998	0.036
Neutrófilos	1.035	0.942-1.136	0.478
Linfocitos	1	0.999-1	0.00019
Monocitos	0.75	0.397-1.417	0.375
Plaquetas	0.999	0.997-1	0.03
Razón neutrófilos/linfocitos	1.034	1.012-1.056	0.002
Razón plaquetas/linfocitos	1.69	1.006-2.839	0.047
Razón neutrófilos/plaquetas	1.013	1.001-1.024	0.03
Seralbúmina	0.884	0.682-1.145	0.35
Globulina	0.999	0.814-1.228	0.996
Razón albúmina/globulina	0.826	0.48-1.422	0.49
Razón albúmina/monocitos	1.04	1.014-1.067	0.002
Índice de masa corporal	0.953	0.91-0.998	0.04
Índice pronóstico nutricional	0.975	0.955-0.995	0.017
Localización	colon derecho	1	-
	colon transverso	0.759	0.346-1.665
	colon izquierdo	1.143	0.655-1.996
	colon sigmoides	1.361	0.938-1.973
Diferenciación:	bien	1	-
	moderada	1.122	0.719-1.751
	pobre	1.524	0.812-2.86
	indiferenciado	1.395	0.686-2.839
Clasificación T	T ₁	1	-
	T ₂	3.189	1.175-8.657
	T ₃	3.329	0.974-11.38
	T ₄	5.86	1.956-17.557
Clasificación R	R1	3.531	1.443-8.641
Número de ganglios resecaados		0.980	0.964-0.997
Complicación operatoria		1.936	1.147-3.269
Recibir quimioterapia		0.803	0.562-1.148

Tabla 4.- Análisis bivariado de los factores de pronóstico asociados a SG (Cox).

La asociación bivariada de los factores de pronóstico mas relevantes con la SG se muestran en la Tabla 4, mostrándose las razones de riesgo para cada asociación, su intervalo de confianza del 95% y su valor de probabilidad obtenidos mediante al análisis bivariado de Cox.

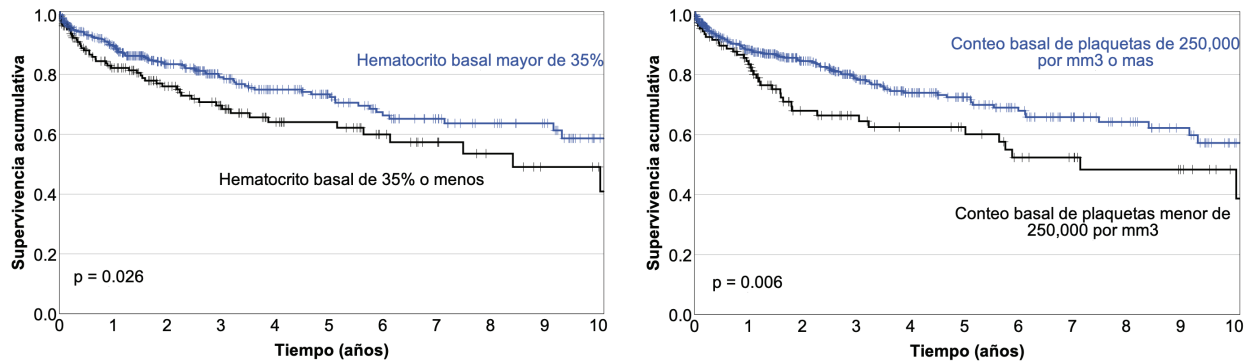


Figura 7.- Curvas de Kaplan-Meier mostrando la asociación de la cifra de hematocrito basal o del conteo plaquetario basal, con la SG.

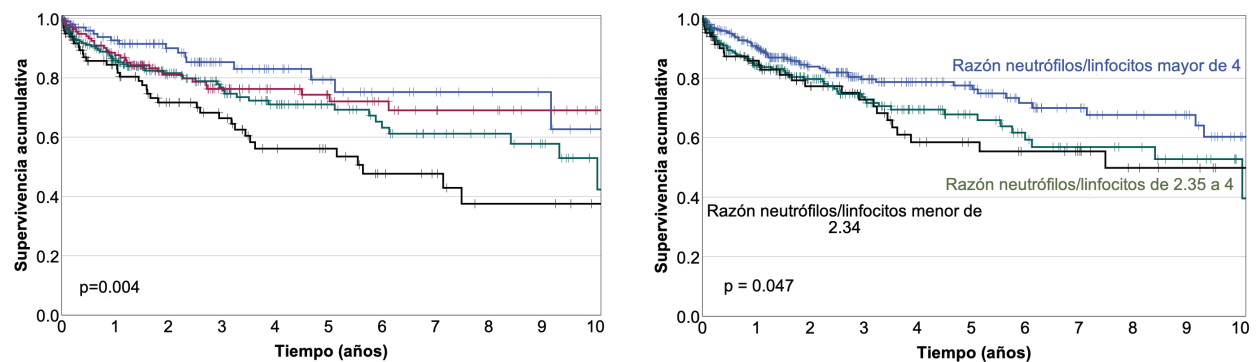


Figura 8.- Curvas de Kaplan-Meier mostrando la asociación del conteo basal de linfocitos basal con la SG (línea negra < 1300; línea verde 1300 a 1969; línea roja 1970 a 2400; línea azul > 2400); y asociación de la razón de neutrófilos/linfocitos con la SG.

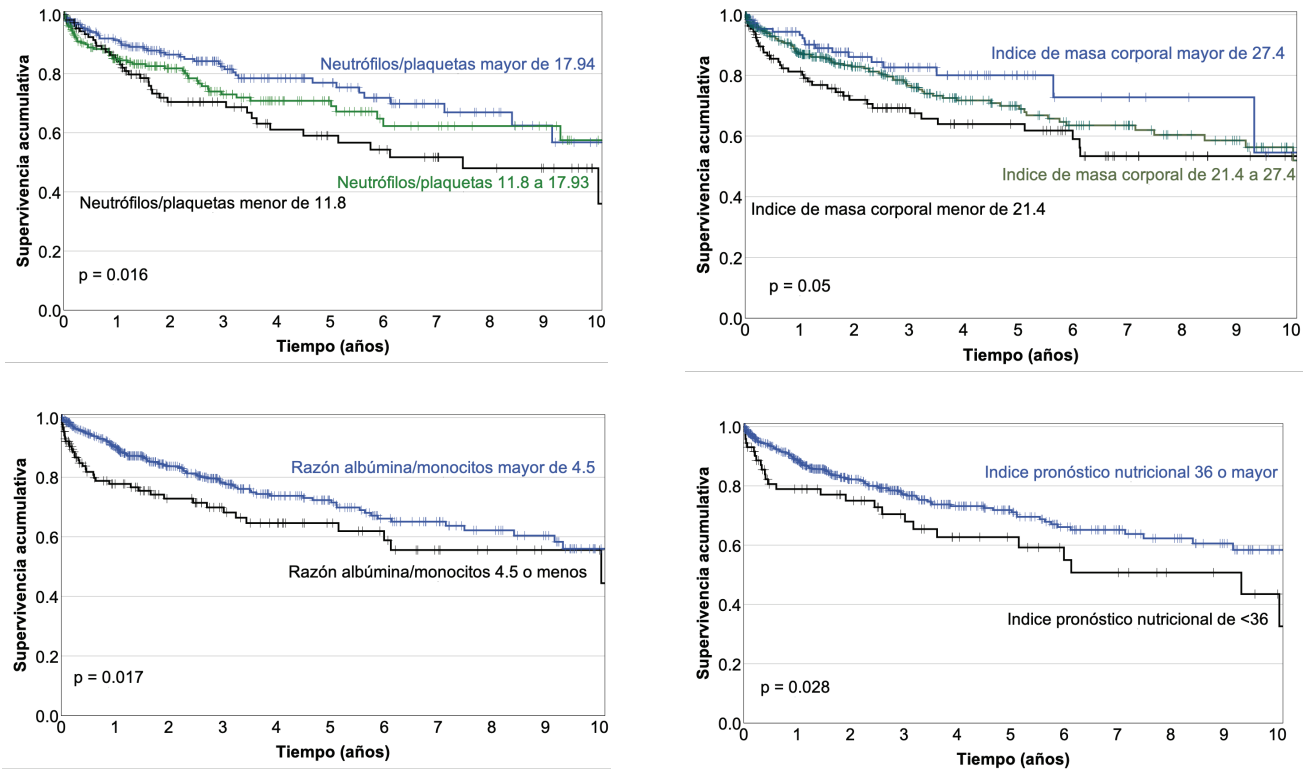


Figura 9.- Curvas de Kaplan-Meier mostrando la asociación de la razón neutrofilos/plaquetas, el índice de masa corporal, la razón de albúmina/monocitos, y el índice pronóstico nutricional; todos, con la SG.

La expresión por inmunohistoquímica de CDX2, en dos o tres categorías, no presentó asociación con la SG, como tampoco la presentó la expresión por inmunohistoquímica de MUC2, en dos o tres categorías.

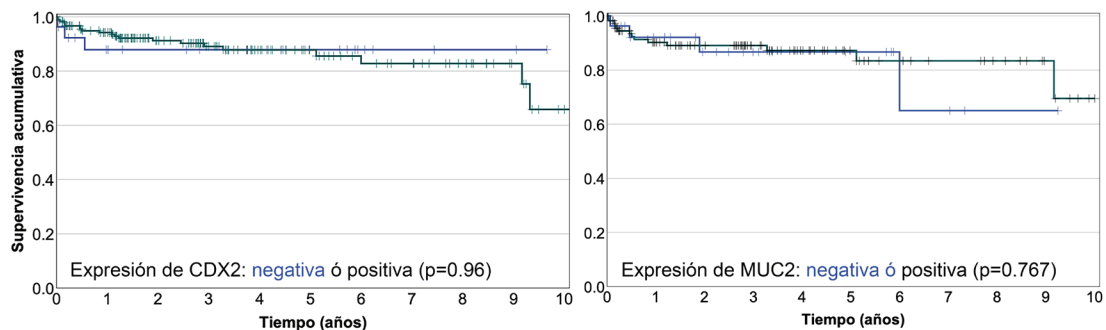


Figura 10.- Asociación de la expresión de CDX2 y MUC2 con la supervivencia global.

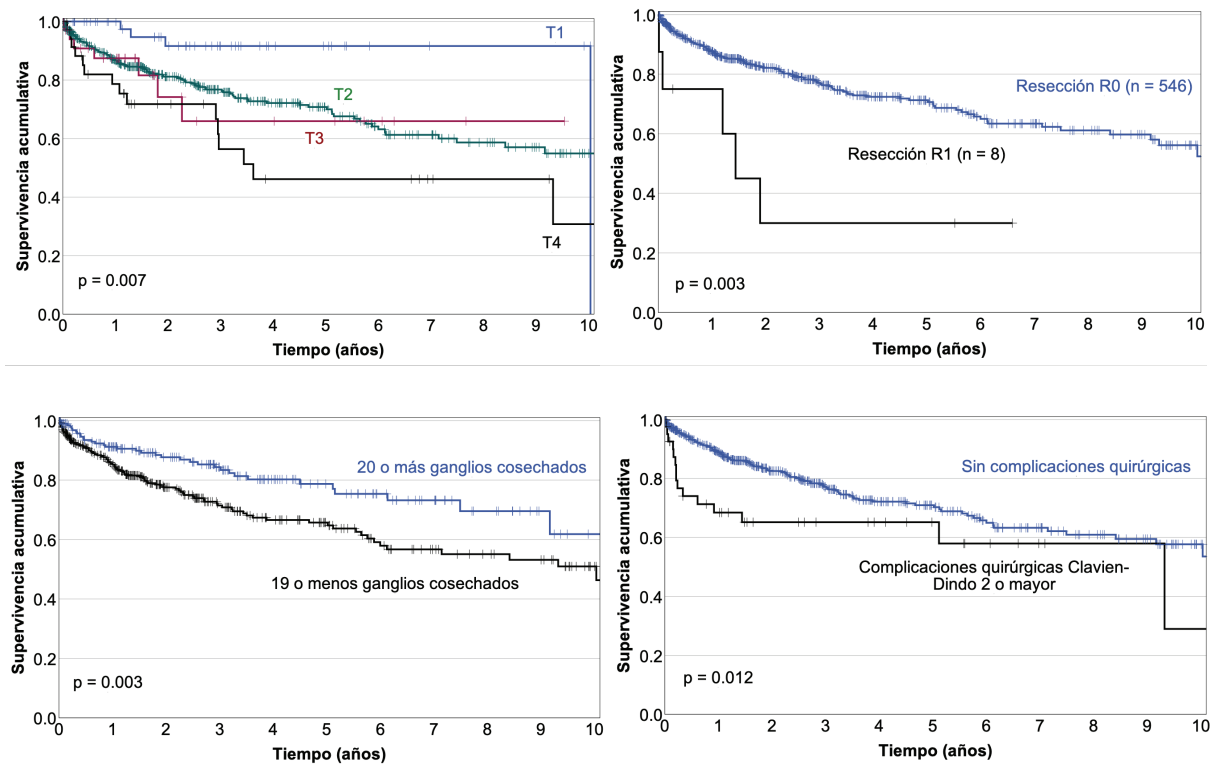


Figura 11.- La asociación de la clasificación T, la clasificación R, número de ganglios linfáticos cosechados durante la cirugía y la presencia de complicaciones postoperatorias.

10.3 Análisis multivariado

La Tabla 5 describe los parámetros obtenidos en el modelo final. En este modelo, la localización en el colon (colon derecho versus colon izquierdo), el índice de masa corporal en 3 categorías, hematocrito inicial mayor de 35%, el conteo plaquetario basal, la razón de neutrófilos/linfocitos, el índice pronóstico nutricional de 36 ó mayor, la razón albúmina/monocitos, la clasificación T, el hallazgo de complicaciones operatorias grado Clavien-Dindo grado 2 o superiores, haber cosechado 20 o mas ganglios linfáticos en la resección radical, y el empleo de quimioterapia adyuvante, fueron variables explicadoras independientes en el modelo final.

La expresión de CDX2 y la expresión de MUC2 no fueron factores de pronóstico independientes. No obstante, se categorizaron de todas las maneras posibles y se exploró su interacción, su impacto como factor confusor y como factor supresor.

En el modelo final, el análisis de suposiciones de proporcionalidad fue satisfactorio y el análisis de interacciones no mostró ninguna relevante. La correlación de covariables demostró que no hubo colinearidad significativa. En ningún momento se identificó sobreajuste, y en todo momento los coeficientes de regresión se comportaron con estabilidad.

Covariables	RR	IC 95%	p
Localización en colon izquierdo	1.488	1.041–2.128	0.029
Índice de masa corporal (<21.4)	1	–	0.011
(Kg/m ²) (21.4–27.4)	0.624	0.410–0.949	0.027
(>27.4)	0.425	0.238–0.760	0.004
Hematocrito inicial >35%	0.446	0.292–0.682	0.0002
Plaquetas (células por mm ³)	0.998	0.996–0.999	.0008
Razón neutrófilos/linfocitos (<1.71)	1	–	0.004
(1.712–2.34)	1.083	0.607–1.931	0.788
(2.35–2.79)	2.710	1.543–4.759	0.0005
(2.8–4)	1.534	0.884–2.662	0.128
(>4)	1.855	1.034–3.327	0.038
Índice pronóstico nutricional >36	0.634	0.386–1.041	0.072
Razón albúmina/monocitos	1.042	1.016–1.069	0.001
TNM T1	1	–	0.015
T2	3.974	1.445–10.931	0.008
T3	3.077	0.853–11.097	0.086
T4	6.136	1.976–19.053	0.002
Complicación operatoria (> grado 1)	1.809	1.013–3.229	0.045
>20 ganglios cosechados en cirugía	0.431	0.283–0.657	0.00009
Quimioterapia adyuvante	0.690	0.471–1.011	0.057

Tabla 5.- Parámetros de las diferentes variables independientes asociadas al evento de SG, mediante el modelo de riesgos proporcionales de Cox (modelo final -2LLR = 1414.9; Chi cuadrada = 87.216; con 17 grados de libertad; $p = 1.9 \times 10^{-11}$; R^2 de Harrel 0.87).

Utilizando este modelo final, se calcularon las funciones de supervivencia para cada paciente. Estos valores se tabularon y se dividieron en quintiles. Las 5 curvas construidas empleando estas categorías con el método de Kaplan-Meier se describen en la Figura 12.

La mediana de SG del quintil 5 es de 11.7 años (IC 95% 6.4–17.1). No se alcanzó la mediana de supervivencia de los otros 4 quintiles por seguimiento mas corto y alta frecuencia de casos censurados.

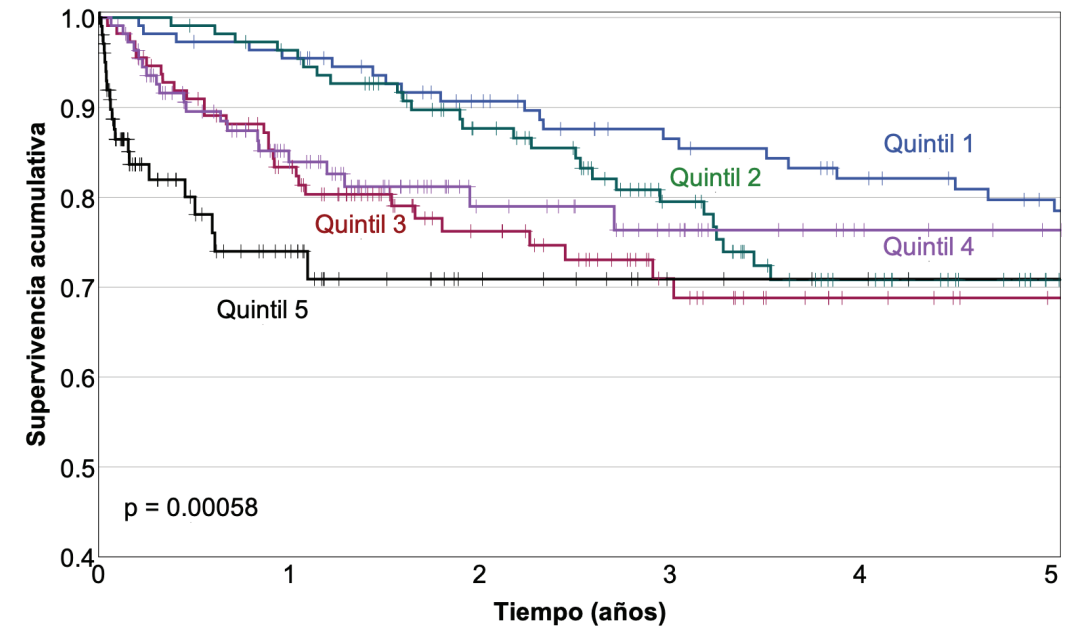


Figura 12.- Curvas de supervivencia global según la función de supervivencia predicha para cada paciente, de acuerdo a los parámetros del modelo de riesgos proporcionales de Cox descrito en la tabla 5, categorizados en quintiles.

11. Discusión

La clasificación TNM, sin duda, es la herramienta más valiosa que tenemos en el presente para definir el pronóstico, y de este modo, definir los tratamientos más adecuados para pacientes con cáncer colorrectal. Sin embargo, tiene importantes limitaciones para definir el pronóstico en subgrupos específicos, como es el caso de los pacientes en etapas I y II. Ya se comentó que existe una importante variabilidad en ciertos subgrupos de pacientes con CC en cuanto a los desenlaces oncológicos (Figura 4). Estos no se explican completamente por la clasificación TNM, o inclusive por los factores del pronóstico aceptados por la AJCC. Es indispensable el complemento de esta ampliamente utilizada clasificación, con factores de pronóstico robustos y de fácil acceso (67-72).

Ya hay reportes que describen que la variabilidad de los desenlaces oncológicos puede corresponder al tratamiento en centros de alto volumen, a la proporción de pacientes de edad avanzada, heterogeneidad patogenética del CC, a la proporción de pacientes negros, latinoamericanos o de grupos sociales vulnerables, a la disponibilidad de tecnología y recursos farmacológicos en el centro oncológico, a las preferencias de los pacientes, a las preferencias de los médicos, al apego a las guías clínicas o al tipo de entrenamiento de los médicos tratantes (73).

El modelo multivariable que se presenta en este estudio parece un modelo sumamente útil por varias razones. La primera es que utiliza la información clínica accesible en cualquier centro oncológico del mundo. Los parámetros que se requieren para correr este modelo son variables clínicas, una biometría hemática, cuantificación de las cifras de albúmina sérica, un equipo quirúrgico entrenado en la hemicolectomía derecha radical, la hemicolectomía izquierda radical o la sigmoidectomía radical (74), el reporte de patología quirúrgica realizado por un patólogo oncólogo entrenado y el empleo juicioso de la quimioterapia adyuvante.

Ventajas y Desventajas

La principal desventaja de este estudio es la naturaleza retrospectiva de la información. Además, la información se recolectó en un plazo largo de tiempo (25 años), siendo que los

protocolos de diagnóstico y tratamiento han cambiado sustancialmente en ese plazo de tiempo.

La principal ventaja es que es un estudio observacional procedente de un solo centro de cáncer, con políticas de estudio, tratamiento y vigilancia consistentes, congruentes y uniformes. El hecho de que los tratamientos de quimioterapia adyuvante que se utilizan en pacientes con CC en etapas I y II, han cambiado en esos 25 años, no impacta los otros factores descritos aquí porque sus efectos son independientes del efecto protector de la quimioterapia.

Ventajas y desventajas en relación con otros estudios

Uno de los factores de pronóstico aceptados en la octava edición de la clasificación TNM, el grado de diferenciación, tiene un importante papel pronóstico como covariable cuando se evalúa de modo aislado. Pero cuando se pone a competir con otras con covariables, su valor, en la definición del pronóstico, desaparece por completo. Éste es un hallazgo de nuestro estudio que confirma observaciones ya descritas. Además, en nuestro estudio, la presencia de invasión vascular venosa, invasión vascular linfática, o invasión perineural no tuvieron un impacto pronóstico tampoco (69,70).

La biopsia líquida parece un método que tiene mucho que ofrecer, pero está todavía en fase de desarrollo, es sumamente costoso, requiere de personal con entrenamiento en alta tecnología, equipo de laboratorio sumamente costoso e insumos de importación. Aún cuando la medición de DNA circulante (ctDNA) sea una tecnología prometedora, todavía no es accesible en la mayoría de los países del mundo (34,35). No es accesible en la mayoría de los hospitales de México y no es accesible de manera rutinaria en el INCan.

No se evaluó la presencia de micrometástasis en ganglios linfáticos regionales porque es un procedimiento muy laborioso y muy costoso. Podría ser un factor de pronóstico muy poderoso. Sin embargo, su costo y falta de accesibilidad lo hacen impráctico. Para el presente estudio, se requeriría hacer una inmunoreacción para cada ganglio linfático resecado, y esto multiplicado por un factor de 556, hacen miles de laminillas imposibles de costear por nosotros en este momento (posiblemente entre 8,000 y 10,000).

Localización en el colon

Está publicado que en el INCan el pronóstico de CC derecho es mejor que el CC izquierdo (40). Pero esto es controversial, porque otras publicaciones no encuentran diferencias importantes (74), o inclusive, se sugiere que el CC derecho tiene peor pronóstico. Esto puede explicarse porque en un informe, los autores no hacen ajuste estadístico y encuentran mas metástasis a ganglio linfático, tumores mas grandes, mas neoplasias indiferenciadas y mayor frecuencia de invasión vascular linfática en el CC derecho (75). En este estudio es claro que el pronóstico del CC derecho es un poco mejor que el lado izquierdo (75).

Índice de masa corporal

El índice de masa corporal resulta un importante factor de pronóstico en este estudio, y hay algunos ejemplos con hallazgos similares en la literatura (76,77).

Es posible que, en grupos socioeconómicos mas favorecidos, en donde el estado inmunonutricional sea mas homogéneo, el índice de masa corporal no tenga ningún impacto en el pronóstico.

Si todos los pacientes, en una base de datos, tienen un índice de masa corporal similar, no hay manera de demostrar el efecto de ese factor de pronóstico. Si hay pacientes con diversos grados de índice de masa corporal, es posible definir su impacto en el pronóstico, si es que existe. En los algunos pacientes atendidos en el INCan la prevalencia de desnutrición es significativa, y en mi opinión, esa es la razón por la que nosotros podemos identificar ese efecto en el pronóstico.

Hematocrito inicial

En este estudio encontramos un importante impacto pronóstico entre la cifra de hematocrito basal y la SG. La cifra basal de hemoglobina no es mejor factor de pronóstico en nuestro estudio que la cifra de hematocrito. Ya se conoce desde hace años el papel pronóstico de las transfusiones de paquete globular preoperatorio como factor de pronóstico en pacientes con CC (78). Sin embargo, es posible que el papel pronóstico de la hemotransfusión represente un factor confusor asociado que los pacientes mas anémicos son los que se transfunden, y también a los pacientes que presentan neoplasias mas agresivas y

ulceradas, que son las que sangran. Es importante mencionar que este factor no contribuyó al modelo como variable continua, sino solo como variable en dos categorías. El papel del hematocrito basal ya ha sido estudiado y reportado en CC (79).

Cifra de plaquetas

La cifra basal de plaquetas en la biometría hemática resulto ser un factor de pronóstico muy importante que impacta mejor como variable continua que como variable categórica en dos o mas categorías. La cifra ya se ha reportado como factor de pronóstico en CC, tanto como variable independiente como variable compuesta con otras variables asociadas a inflamación (80,81,82) y también lo hemos reportado en nuestro grupo en el INCan (39,41).

Razón neutrófilos/linfocitos

La razón neutrófilos/linfocitos ha sido ampliamente estudiada como factor predictor de complicaciones postoperatorias y también como factor de pronóstico (80-84) tanto en el INCan, como en otras publicaciones internacionales, aun cuando este factor es controversial (83,84,85,86,87). Este factor de pronóstico parece ser muy robusto, ya que nuestro grupo lo ha encontrado en el caso de cáncer colorrectal, y en CC, tanto CC derecho como CC izquierdo (38,39,40).

Índice pronóstico nutricional

Este índice inmunonutricional ha sido ampliamente estudiado. Inicialmente reportado en el Japón, en enfermedades colorrectales no asociadas a cáncer, posteriormente ha sido reportado como factor de pronóstico en cáncer colorrectal y en diversas neoplasias malignas por varios grupos incluyendo el nuestro (41,57,67,88,89,90).

Tanto la cifra de albúmina basal como el conteo linfocitario basal son factores de pronóstico importantes, pero cuando se evalúan como la variable compuesta “índice pronóstico nutricional” su impacto como factor de pronóstico es muy superior a su valor como dos factores independientes (39). En esta publicación se describe la ausencia de correlación lineal entre la cifra de albúmina y el conteo de linfocitos, lo que los hace no solamente ser covariables independientes, sino que su interacción las convierte en un factor de pronóstico mucho mas robusto (39,41).

Razón albúmina/monocitos

La cifra de albumina preterapeutica es un factor de pronóstico muy robusto en pacientes con CC (39,91,92). Sin embargo, hay poca información sobre la razón albúmina/monocitos, ya que es un factor de pronóstico publicado apenas recientemente (67). En esta publicación, los autores realizaron un análisis muy minucioso de los factores asociados directamente con la progresión del CC (incluyendo la cifra de monocitos), y factores asociados de manera inversa con la progresión del CC (incluyendo la cifra de albúmina). Ellos encontraron que esta relación es un factor de pronóstico robusto y nosotros estamos confirmando esta observación, ya que la relación albumina/monocitos es un factor de pronóstico independiente que mejora el ajuste del modelo, y añade información a la hipótesis de que el estado inmuno-nutricional de los pacientes es un factor fundamental en la progresión del cáncer, y no solamente los factores intrínsecos del tumor como la acumulación de mutaciones o los cambios epigenéticos (67).

Clasificación T

La clasificación T es un factor de pronóstico bien demostrado y es la base sobre la que deben compararse los nuevos factores de pronóstico. Además, probablemente sea la clasificación de que debe considerarse como la base para complementar.

En la figura 11 se presentan las curvas de supervivencia por etapa T. El subgrupo de pacientes con enfermedad limitada a la mucosa y submucosa (T_1) tiene un excelente pronóstico. Solamente tres pacientes fallecieron durante los primeros dos años de seguimiento, por lo tanto, es posible que este modelo pronóstico tenga solamente utilidad limitada en estos casos. Sin embargo, incrementando el número de casos en este subgrupo es posible que tengamos mayor precisión en la estimación del pronóstico. No podemos dejar de ver que el 10% de los pacientes en este estrato recurren (10,11).

En el otro extremo, en la misma figura 11, se presentan los pacientes con enfermedad T_4 , de mal pronóstico. El modelo de pronóstico que se presenta en este estudio exhibe un subgrupo que tiene peor pronóstico que los pacientes definidos solo por la clasificación T (figura 12). De tal suerte, que la mayoría de los pacientes de este estudio con CC etapa II

tienen pronóstico diverso. Es factible que este modelo de pronóstico sea particularmente útil en este subgrupo (pacientes con enfermedad T₂, T₃ y T₄).

Complicaciones operatorias

La clasificación de Clavien-Dindo es actualmente la mejor manera de clasificar las complicaciones operatorias, ya que se ha demostrado su utilidad en diferentes áreas de la cirugía, y aplica perfectamente en cirugía colorrectal por cáncer (65). El evento de presentar complicaciones operatorias en cirugía colorrectal en presencia de cáncer es un factor de pronóstico bien descrito, y no solo porque las personas que presentan mortalidad operatoria, antes de eso, presentan complicaciones operatorias graves (39,41). En este estudio, se encontró que presentar complicaciones operatorias se asocia con menor SG, y la inclusión de este factor mejora el ajuste del modelo.

Más de 20 ganglios linfáticos cosechados

Existe un acuerdo internacional que implica la cosecha de al menos 12 ganglios linfáticos regionales para poder realizar una clasificación N adecuada (93), aún cuando es claro que cosechar más ganglios linfáticos implica ventajas en la SG. En este estudio encontramos que cosechar 20 ganglios linfáticos regionales, o más, durante la excisión completa del mesocolon, se asocia con mejor SG. Esta observación se ha reportado por otros grupos (94,95).

Por supuesto que la cosecha ganglionar implica varios factores, desde factores anatómicos, que no puede controlar ni el paciente ni el equipo médico, hasta la extensión de la resección del mesocolon que depende del equipo quirúrgico, y la cosecha en el proceso de patología quirúrgica que depende del Patólogo.

Empleo de quimioterapia adyuvante

El hallazgo del uso de la quimioterapia adyuvante como factor de pronóstico favorable en este estudio, no debe tomarse como una prueba irrefutable del efecto positivo de la quimioterapia, ya que esta observación puede corresponder a sesgo de selección. Sesgo, en el sentido de que se utiliza no solo en pacientes que tienen factores empíricamente definidos como de alto riesgo, sino que se usa en pacientes que están en buenas

condiciones, con buen estado nutricional, sin comorbilidades graves, de edad media o jóvenes, y tiende a no usarse en pacientes frágiles, con comorbilidades o edad avanzada. Por supuesto que también puede deberse a que la quimioterapia adyuvante es útil, manteniendo ajustados los demás factores de pronóstico descritos en la tabla 5.

Significado del Estudio

Los tratamientos actuales de quimioterapia para CC se han desarrollado de manera vertiginosa en las últimas dos décadas, y por esa razón, los desenlaces oncológicos han mejorado sustancialmente. No obstante, todavía cerca del 20% de los pacientes en etapas I y II presentan recurrencia de la enfermedad. Y aun cuando los tratamientos para la enfermedad recurrente también han mejorado sustancialmente, estos pacientes fallecen por progresión eventualmente.

Es indispensable contar con métodos de selección de aquellos pacientes que tengan alta probabilidad de recurrencia. En estos pacientes se deben realizar estudios experimentales para evaluación de eficacia o eficiencia del tratamiento.

Por otro lado, los protocolos de seguimiento del paciente tratado deben ajustarse al riesgo de cada individuo.

Existe controversia también al respecto del mejor protocolo de vigilancia en cuanto a la temporalidad y los estudios mas adecuados para los pacientes en etapa I y II. Parece que los protocolos mas intensivos incrementan la SG después de recurrencias tanto por el inicio oportuno del tratamiento, como por el tratamiento intensivo de las comorbilidades que vayan apareciendo durante el seguimiento.

La mayoría de los protocolos de seguimiento implican visitas cada 3 meses durante el primer año, luego cada 6 meses durante el segundo y tercer año, y después una visita anual (96).

Las guías clínicas tanto de ESMO, ASCO y NCCN son excelentes auxiliares para el manejo de los pacientes con CC en etapas I y II, sin embargo, no podemos dejar de considerar que son perfectibles, ya que se basan en la mejor evidencia disponible, pero estamos en un momento en el que la evidencia esta cambiando y se está acumulando (97,98,99).

El futuro de estas investigaciones

Este estudio necesita replicación y validación externa. Es posible que requiera complementos, en particular la evaluación histopatológica del borde de invasión y de la madurez del estroma. También es posible que, complementando este modelo con variables más sofisticadas, pueda incrementarse su utilidad como factor de pronóstico. Una vez refinado este modelo, puede utilizarse para seleccionar grupos de riesgo y para diseñar estudios fase tres de quimioterapia ayudante en el subgrupo específico de pacientes en etapa I y II de alto riesgo.

12. Conclusiones

Con el advenimiento de la medicina de precisión se han producido profundas transformaciones en la medicina, y particularmente en el campo de la oncología. Rápidamente se incrementen las opciones ventajosas de tratamiento, particularmente por la competencia económica de la industria farmacéutica, pero también avances poco útiles como la cirugía laparoscópica o la cirugía robótica. De tal suerte, que es indispensable definir estrategias más apropiadas para que los recursos de cada región sean utilizados de manera óptima.

Sin duda, que la utilidad de este modelo (o cualquiera otro) debe probarse específicamente en pacientes con CC, etapas I y II, en estudios controlados por sorteo para demostrar su utilidad seleccionando a los mejores candidatos para recibir quimioterapia adyuvante.

13. Referencias

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today (2020). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (acceso 2 de octubre de 2023). IARC <https://gco.iarc.fr/today>
2. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* 2023; 73:17-48. doi: 10.3322/caac.21763.
3. Siegel RL, Wagle NS, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* 2023; 73:233-254. doi: 10.3322/caac.21772.
4. Liang J, Fazio V, Lavery I, et al. Primacy of surgery for colorectal cancer outcomes. *Br J Surg* 2015; 102:847-852. doi: 10.1002/bjs.9805
5. Punt CJ, Koopman M, Vermeulen L. From tumour heterogeneity to advances in precision treatment of colorectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14:235-246. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.171.
6. REACCT Collaborative, Zaborowski AM..., Oñate-Ocaña LF, et al. Characteristics of Early-Onset vs Late-Onset Colorectal Cancer: A Review. *JAMA Surg* 2021; 156:865-874. doi: 10.1001/jamasurg.2021.2380.
7. REACCT Collaborative, Zaborowski AM..., Oñate-Ocaña LF, et al. Impact of microsatellite status in early-onset colonic cancer. *Br J Surg* 2022; znac108. doi: 10.1093/bjs/znac108.
8. REACCT Collaborative, Zaborowski AM..., Oñate-Ocaña LF, et al. Microsatellite instability in young patients with rectal cancer: molecular findings and treatment response. *Br J Surg* 2022; 109:251-255. doi: 10.1093/bjs/znab437.
9. Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. Eight edition. New York: Springer; 2017.
10. Ichimasa K, Kudo SE, Miyachi H, et al. Current problems and perspectives of pathological risk factors for lymph node metastasis in T1 colorectal cancer: Systematic review. *Dig Endosc* 2022;34(5):901-912. doi: 10.1111/den.14220.
11. Patel SA, Chen YH, Hornick JL, et al. Early-stage rectal cancer: clinical and pathologic prognostic markers of time to local recurrence and overall survival after

- resection. *Dis Colon Rectum* 2014; 57:449-459. doi: 10.1097/DCR.0b013e3182a70709.
12. Dotan E, Cohen SJ. Challenges in the management of stage II colon cancer. *Semin Oncol* 2011; 38:511-520. doi: 10.1053/j.seminoncol.2011.05.005.
 13. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep* 2016; 6:29765. doi: 10.1038/srep29765.
 14. van Gestel YR, de Hingh IH, van Herk-Sukel MP, et al. Patterns of metachronous metastases after curative treatment of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol* 2014; 38:448-454. doi: 10.1016/j.canep.2014.04.004.
 15. Naxerova K, Reiter JG, Brachtel E, et al. Origins of lymphatic and distant metastases in human colorectal cancer. *Science* 2017; 357:55-60. doi: 10.1126/science.aai8515.
 16. Leong SP, Naxerova K, Keller L, Pantel K, Witte M. Molecular mechanisms of cancer metastasis via the lymphatic versus the blood vessels. *Clin Exp Metastasis* 2022; 39:159-179. doi: 10.1007/s10585-021-10120-z.
 17. Edge S, Byrd DR, Compton CC, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. Seventh edition. New York: Springer; 2010.
 18. Nitsche U, Maak M, Schuster T, et al. Prediction of prognosis is not improved by the seventh and latest edition of the TNM classification for colorectal cancer in a single-center collective. *Ann Surg* 2011; 254:793-800. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182369101
 19. Kattan MW, Hess KR, Amin MB, et al; members of the AJCC Precision Medicine Core. American Joint Committee on Cancer acceptance criteria for inclusion of risk models for individualized prognosis in the practice of precision medicine. *CA Cancer J Clin* 2016; 66:370-374. doi: 10.3322/caac.21339.
 20. Guinney J, Dienstmann R, Wang X. The Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer. *Nat Med* 2015; 21:1350–1356. doi: 10.1038/nm.3967
 21. Rejali L, Seifollahi Asl R, Sanjabi F, et al. Principles of Molecular Utility for CMS Classification in Colorectal Cancer Management. *Cancers (Basel)* 2023; 15:2746. doi: 10.3390/cancers15102746.

22. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II/Dukes' B2 colon cancer. *J Clin Oncol*. 1995; 13:2936-2943. doi: 10.1200/JCO.1995.13.12.2936.
23. IMPACT B2 group. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. *J Clin Oncol* 1999; 17:1356-1363.
24. Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, McConkey C, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet* 2007; 370(9604):2020-2029. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61866-2.
25. Smith RE, Colangelo L, Wieand HS, Begovic M, Wolmark N. Randomized trial of adjuvant therapy in colon carcinoma: 10-year results of NSABP protocol C-01. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96:1128-132. doi: 10.1093/jnci/djh220.
26. Wolmark N, Rockette H, Wickerham DL, et al. Adjuvant therapy of Dukes' A, B, and C adenocarcinoma of the colon with portal-vein fluorouracil hepatic infusion: preliminary results of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol C-02. *J Clin Oncol* 1990;8:1466-1475. doi: 10.1200/JCO.1990.8.9.1466.
27. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol* 2007; 25:2198-2204. doi: 10.1200/JCO.2006.08.2974.
28. André T, de Gramont A, Vernerey D, et al. Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol* 2015; 33:4176-4187. doi: 10.1200/JCO.2015.63.4238.
29. Souglakos J, Boukovinas I, Kakolyris S, et al. Three- versus six-month adjuvant FOLFOX or CAPOX for high-risk stage II and stage III colon cancer patients: the efficacy results of Hellenic Oncology Research Group (HORG) participation to the International Duration Evaluation of Adjuvant Chemotherapy (IDEA) project. *Ann Oncol* 2019; 30:1304-1310. doi: 10.1093/annonc/mdz193.

30. Dienstmann R, Mason MJ, Sinicrope FA, et al. Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study. *Ann Oncol* 2017; 28:1023-1031. doi: 10.1093/annonc/mdx052.
31. Kim JE, Hong YS, Kim HJ, et al. Defective Mismatch Repair Status was not Associated with DFS and OS in Stage II Colon Cancer Treated with Adjuvant Chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2015; 22 Suppl 3:630-637. doi: 10.1245/s10434-015-4807-6.
32. Xie P, Mo JL, Liu JH, et al. Pharmacogenomics of 5-fluorouracil in colorectal cancer: review and update. *Cell Oncol (Dordr)* 2020; 43:989-1001. doi: 10.1007/s13402-020-00529-1.
33. Boisdron-Celle M, Capitain O, Faroux R, et al. Prevention of 5-fluorouracil-induced early severe toxicity by pre-therapeutic dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency screening: assessment of a multiparametric approach. *Semin Oncol* 2017; 44:13-23. doi: 10.1053/j.seminoncol.2017.02.008.
34. Merk C, Martling A, Lindberg J, et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) in adjuvant therapy of early stage colon cancer: current status and future perspectives. *Acta Oncol* 2022; 61:523-530. doi: 10.1080/0284186X.2022.2033831.
35. Tie J, Cohen JD, Lahouel K, et al. Circulating Tumor DNA Analysis Guiding Adjuvant Therapy in Stage II Colon Cancer. *N Engl J Med* 2022; 386:2261-2272. doi: 10.1056/NEJMoa2200075.
36. Rosberg V, Jessen M, Qvortrup C, Smith HG, Krarup PM. Impact of adjuvant chemotherapy on long-term overall survival in patients with high-risk stage II colon cancer: a nationwide cohort study. *Acta Oncol* 2023;62:1076-1082. doi: 10.1080/0284186X.2023.2251086.
37. Dienstmann R, Mason MJ, Sinicrope FA, et al. Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study. *Ann Oncol* 2017; 28:1023-1031. doi: 10.1093/annonc/mdx052.
38. Oñate-Ocaña LF, Montesdeoca R, López-Graniel CM, et al. Identification of patients with high-risk lymph node-negative colorectal cancer and potential benefit from adjuvant chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34:323-328. doi: 10.1093/jjco/hyh054.

39. González-Trejo S, Carrillo JF, Oñate-Ocaña LF, et al. Baseline serum albumin and other common clinical markers are prognostic factors in colorectal carcinoma: A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96:e6610. doi: 10.1097/MD.0000000000006610.
40. Beltrán L, González-Trejo S, Oñate-Ocaña LF, et al. Prognostic Factors and Differences in Survival of Right and Left Colon Carcinoma: A STROBE Compliant Retrospective Cohort Study. *Arch Med Res* 2019; 50:63-70. doi: 10.1016/j.arcmed.2019.05.011.
41. Luvían-Morales J, González-Trejo S, Oñate-Ocaña LF et al. Association of the prognostic nutritional index and overall survival in patients with colorectal cancer: A STROBE compliant retrospective cohort study. *Cancer Med* 2019; 8:3379-3388. doi: 10.1002/cam4.2212.
42. Sloothaak DAM, van der Linden RLA, van de Velde CJH, et al. Prognostic implications of occult nodal tumour cells in stage I and II colon cancer: The correlation between micrometastasis and disease recurrence. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43:1456-1462. doi: 10.1016/j.ejso.2017.04.012.
43. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R, Nagtegaal ID. Tumour budding in solid cancers. *Nat Rev Clin Oncol* 2021; 18:101-115. doi: 10.1038/s41571-020-0422-y.
44. Parent P, Cohen R, Rassy E, et al. A comprehensive overview of promising biomarkers in stage II colorectal cancer. *Cancer Treat Rev* 2020; 88:102059. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102059.
45. Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S, et al. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104:1635-1646. doi: 10.1093/jnci/djs427.
46. Chen VW, Hsieh MC, Charlton ME, et al. Analysis of stage and clinical/prognostic factors for colon and rectal cancer from SEER registries: AJCC and collaborative stage data collection system. *Cancer* 2014; 120 Suppl 23:3793-806. doi: 10.1002/cncr.29056.
47. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med* 2016; 374:211-222. doi: 10.1056/NEJMoa1506597.

48. Tomasello G, Barni S, Turati L, et al. Association of CDX2 expression with survival in early colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17:97-103. doi: 10.1016/j.clcc.2018.02.001.
49. Cecchini MJ, Walsh JC, Parfitt J, et al. CDX2 and Muc2 immunohistochemistry as prognostic markers in stage II colon cancer. *Hum Pathol* 2019; 90:70-79. doi: 10.1016/j.humpath.2019.05.005.
50. Ueno H, Ishiguro M, Eiji Nakatani E, et al. Prognostic value of desmoplastic reaction characterisation in stage II colon cancer: prospective validation in a Phase 3 study (SACURA Trial). *Br J Cancer* 2021; 124:1088-1097. doi: 10.1038/s41416-020-01222-8.
51. Lee WS, Park S, Lee WY, Yun SH, Chun HK. Clinical impact of tumor-infiltrating lymphocytes for survival in stage II colon cancer. *Cancer* 2010; 116:5188-99. doi: 10.1002/cncr.25293.
52. Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 2018; 391(10135):2128-2139. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30789-X.
53. Morimoto Y, Takahashi H, Arita A, et al. High postoperative carcinoembryonic antigen as an indicator of high-risk stage II colon cancer. *Oncol Lett* 2022; 23:167. doi: 10.3892/ol.2022.13287.
54. Fukui Y, Hida K, Hoshino N, et al, Japanese Study Group for Postoperative Follow-up of Colorectal Cancer. Identification of high-risk stage I colon and rectal cancer patients: a retrospective analysis of a large Japanese cohort. *Int J Colorectal Dis* 2022; 37:1403-1410. doi: 10.1007/s00384-022-04161-3.
55. Mazaki J, Katsumata K, Tago T, et al. Novel and Simple Nomograms Using Inflammation and Nutritional Biomarkers for Stage II-III Colon Cancer, Taking "Time after Curative Surgery" into Consideration. *Nutr Cancer* 2022; 74:2875-2886. doi: 10.1080/01635581.2022.2042570.
56. Hammond ME, Fitzgibbons PL, Compton CC, et al. College of American Pathologists Conference XXXV: solid tumor prognostic factors-which, how and so what? Summary document and recommendations for implementation. Cancer Committee

- and Conference Participants. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124:958-65. doi: 10.5858/2000-124-0958-COAPCX.
57. Onodera T, Goseki N, Kosaki G. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery of malnourished cancer patients. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 1984; 85:1001-1005.
 58. Chandler I, Houlston RS. Interobserver agreement in grading of colorectal cancers—findings from a nationwide web-based survey of histopathologists. *Histopathology* 2008; 52:494-499. doi: 10.1111/j.1365-2559.2008.02976.x.
 59. Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol* 2010; 49:57-62. doi: 10.3109/02841860903334411.
 60. Cook JA, Ranstam J. Overfitting. *Br J Surg* 2016; 103: 1814. doi: 10.1002/bjs.10244
 61. Mazumdar M, Glassman JR. Categorizing a prognostic variable: review of methods, code for easy implementation and applications to decision-making about cancer treatments. *Stat Med* 2000; 19:113-132.
 62. Machin D, Cheung YB, Parmar MKB. *Survival Analysis: A Practical Approach*, Second Edition; John Wiley & Sons, Inc.; West Sussex, UK; 2006.
 63. Hosmer DW, Lemeshow S, May S. *Applied survival analysis: regression modeling of time to event data*. Second edition. John Wiley & Sons, Inc.; Hoboken, NJ; 2008.
 64. Graham JW. *Missing Data: Analysis and Design*. New York, NY: Springer; 2012.
 65. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 2004; 240:205-213. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae>
 66. Amrhein V, Greenland S, McShane B. Scientists rise up against statistical significance. *Nature* 2019; 567(7748):305-307. doi: 10.1038/d41586-019-00857-9.
 67. Jung SH, Hao J, Shivakumar M, et al. Development and validation of a novel strong prognostic index for colon cancer through a robust combination of laboratory features for systemic inflammation: a prognostic immune nutritional index. *Br J Cancer* 2022; 126:1539-1547. doi: 10.1038/s41416-022-01767-w.

68. Zhang C, Di J, Jiang B, et al. Prognostic factors for patients with stage II colon cancer: results of a prospective study. *Int J Colorectal Dis* 2016; 31:123-129. doi: 10.1007/s00384-015-2401-9.
69. Mroczkowski P, Schmidt U, Sahm M, Gastinger I, Lippert H, Kube R. Prognostic factors assessed for 15,096 patients with colon cancer in stages I and II. *World J Surg* 2012; 36:1693-1698. doi: 10.1007/s00268-012-1531-2.
70. Weiser MR, Gönen M, Chou JF, Kattan MW, Schrag D. Predicting survival after curative colectomy for cancer: individualizing colon cancer staging. *J Clin Oncol*. 2011; 29:4796-4802. doi: 10.1200/JCO.2011.36.5080
71. Li Y, Jia H, Yu W, Xu Y, Li X, Li Q, Cai S. Nomograms for predicting prognostic value of inflammatory biomarkers in colorectal cancer patients after radical resection. *Int J Cancer*. 2016;139:220-231. doi: 10.1002/ijc.30071
72. Shibutani M, Maeda K, Nagahara H, Iseki Y, Ikeya T, Hirakawa K. Prognostic significance of the preoperative ratio of C-reactive protein to albumin in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2016; 36:995-1001.
73. Hodgson DC, Fuchs CS, Ayanian JZ, et al. Impact of patient and provider characteristics on the treatment and outcomes of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:501-515.
74. Karim S, Brennan K, Nanji S, Berry SR, Booth CM. Association between prognosis and tumor laterality in early-Stage colon cancer. *JAMA Oncol* 2017; 3:1386-1392. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.1016.
75. Mirón-Fernández I, Mera-Velasco S, Turiño-Luque JD, et al. Right and left colorectal cancer: differences in post-surgical-care outcomes and survival in elderly patients. *Cancers (Basel)* 2021; 13:2647. doi: 10.3390/cancers13112647.
76. Fuchs J, Schellerer VS, Brunner M, et al. The impact of body mass index on prognosis in patients with colon carcinoma. *Int J Colorectal Dis* 2022; 37:1107-1117. doi: 10.1007/s00384-022-04146-2.
77. Takeyama H, Noura S, Suzuki Y, et al. Higher body mass index is a simple favorable non-cancer prognostic marker for Japanese elderly colorectal cancer patients after curative resection. *J Anus Rectum Colon* 2022; 6:134-142. doi: 10.23922/jarc.2021-056.

78. Papageorge CM, Kennedy GD, Carchman EH. Preoperative blood transfusion is a predictor of worse short-term postoperative outcomes after colectomy Surgery 2017; 161:1067-1075. doi: 10.1016/j.surg.2016.08.042
79. Grande M, Milito G, Attinà GM, et al. Evaluation of clinical, laboratory and morphologic prognostic factors in colon cancer. World J Surg Oncol 2008; 6:98. doi: 10.1186/1477-7819-6-98.
80. Kundaktepe BP, Papila C. The clinical significance of preoperative plasma fibrinogen levels and platelet counts in resectable colon cancer. World J Surg Oncol 2021; 19:69. doi: 10.1186/s12957-021-02180-y.
81. Suzuki S, Akiyoshi T, Oba K, et al. Comprehensive Comparative Analysis of Prognostic Value of Systemic Inflammatory Biomarkers for Patients with Stage II/III Colon Cancer. Ann Surg Oncol 2020; 27:844-852. doi: 10.1245/s10434-019-07904-9.
82. Park JH, Watt DG, Roxburgh CS, Horgan PG, McMillan DC. Colorectal cancer, systemic inflammation, and outcome: staging the tumor and staging the host. Ann Surg 2016; 263:326-336. doi: 10.1097/SLA.0000000000001122.
83. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2014; 106:dju124. doi: 10.1093/jnci/dju124
84. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. J Surg Oncol 2005; 91:181-184. doi: 10.1002/jso.20329
85. Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Iwasaki Y, Kubota K. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients with colorectal cancer. Br J Cancer 2013; 109:401-407. doi: 10.1038/bjc.2013.350
86. Kwon HC, Kim SH, Oh SY, et al. Clinical significance of preoperative neutrophil-lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio in patients with operable colorectal cancer. Biomarkers 2012; 17:216-222. doi: 10.3109/1354750X.2012.656705
87. Choi WJ, Cleghorn MC, Jiang H, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio is a better prognostic serum biomarker than platelet-to-lymphocyte ratio in patients

- undergoing resection for nonmetastatic colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2015; 22(Suppl 3):603-613. doi: 10.1245/s10434-015-4571-7
88. Ahiko Y, Shida D, Nakamura Y, et al. Preoperative nutritional scores as host-related prognostic factors for both overall survival and postoperative complications in patients with stage II to III colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2021; 64:1222-1231. doi: 10.1097/DCR.0000000000002033. (Park).
89. Maruyama T, Shimoda M, Hakoda H, et al. Preoperative prognostic nutritional index predicts risk of recurrence after curative resection for stage IIA colon cancer. *Am J Surg* 2021; 222:179-185. doi: 10.1016/j.amjsurg.2020.10.032
90. Tokunaga R, Sakamoto Y, Nakagawa S, et al. Prognostic nutritional index predicts severe complications, recurrence, and poor prognosis in patients with colorectal cancer undergoing primary tumor resection. *Dis Colon Rectum*. 2015; 58:1048-1057. doi: 10.1097/DCR.0000000000000458
91. Chiang JM, Chiang CJ, Jiang SF, et al. Pre-operative serum albumin level substantially predicts post-operative morbidity and mortality among patients with colorectal cancer who undergo elective colectomy. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2017; 26(2). doi: 10.1111/ecc.12403.
92. Montomoli J, Erichsen R, Antonsen S, Nilsson T, Sørensen HT. Impact of preoperative serum albumin on 30-day mortality following surgery for colorectal cancer: a population-based cohort study. *BMJ Open Gastroenterol*. 2015; 2:e000047. doi: 10.1136/bmjgast-2015-000047
93. Madoff RD. Defining quality in colon cancer surgery. *J Clin Oncol* 2012; 30:1738-1740. doi: 10.1200/JCO.2011.40.9615
94. West NP, Hohenberger W, Weber K, et al. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon. *J Clin Oncol* 2010; 28:272-278. doi: 10.1200/JCO.2009.24.1448).
95. West NP, Kobayashi H, Takahashi K, et al. Understanding optimal colonic cancer surgery: comparison of Japanese D3 resection and European complete mesocolic excision with central vascular ligation. *J Clin Oncol* 2012; 30:1763-1769. doi: 10.1200/JCO.2011.38.3992).

96. Van der Stok EP, Spaander MCW, Grünhagen DJ, et al. Surveillance after curative treatment for colorectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14:297-315. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.199.
97. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2020; 31:1291-1305. doi: 10.1016/j.annonc.2020.06.022.
98. Baxter NN, Kennedy EB, Bergsland E, et al. Adjuvant Therapy for Stage II Colon Cancer: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol* 2022; 40:892-910. doi: 10.1200/JCO.21.02538.
99. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. Colon Cancer, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2021; 19:329-359. doi: 10.6004/jnccn.2021.0012.

