



Original

Evaluación clínico-patológica del *tumor budding* en la progresión oncológica del cáncer colorrectal



Pietro Giovanni Giordano^{a,b,c,*}, Ana Gabriela Díaz Zelaya^b, Yari Yuritz Aguilera Molina^{a,b,c}, Nestor Orlando Taboada Mostajo^a, Yelene Ajete Ramos^a, Ricardo Ortega García^a, Esteban Peralta de Michelis^a y Juan Carlos Meneu Díaz^{a,b,c}

^a Servicio de Cirugía General, Visceral y Robótica, Hospital Universitario Ruber Juan Bravo, Madrid, España

^b Servicio de Patología, Hospital Universitario Ruber Juan Bravo, Madrid, España

^c Departamento de Medicina, Facultad de Ciencias Biomédicas y de la Salud, Universidad Europea de Madrid, Alcobendas, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 9 de noviembre de 2023

Aceptado el 7 de febrero de 2024

On-line el 1 de mayo de 2024

Palabras clave:

Tumor budding

Cáncer colorrectal

Transición epitelio-mesenquimal

Biología del cáncer

R E S U M E N

Introducción: El *tumor budding* (TB), definido como la presencia de células neoplásicas individuales o en grupos aislados de hasta 4 células en el frente de invasión del tumor, se ha convertido en las últimas décadas en un marcador pronóstico adverso en el cáncer colorrectal (CCR). El impacto pronóstico del TB en el CCR sigue sin estar claramente definido y los métodos histológicos para su evaluación varían según el centro. El objetivo de este estudio es investigar la asociación entre el TB y el CCR, en términos de evolución oncológica y estadio patológico.

Métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo, incluyendo a los pacientes sometidos a cirugía oncológica curativa de CCR entre enero del 2017 y diciembre del 2022. Se evaluaron los efectos del TB sobre la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia global (SG) según las curvas de Kaplan-Meier.

Resultados: En 78 casos se describió el TB en el informe de anatomía patológica. El TB estuvo presente en 56 pacientes (71,8%), repartido en las siguientes categorías: bajo grado en 22 (39,3%), grado intermedio en 17 (30,4%) y alto grado en 17 (30,4%). La proporción de pacientes que presentaron metástasis ganglionares, invasión linfocelular y perineural fue significativamente mayor en pacientes con TB (26,8 vs. 0%; $p=0,008$; 41,1 vs. 4,5%; $p=0,002$; 16,1 vs. 0%; $p=0,054$, respectivamente). La SLE fue del 86,3% en el TB de bajo grado, del 75,3% en el TB de grado intermedio y del 70,3% en el TB de alto grado. Los casos que reunían el grado intermedio y alto se asociaban a una SG más corta en comparación con el grupo de bajo grado (93,7 y 75,4% vs. 100%; $p=0,012$, respectivamente).

Conclusión: Estos resultados sugieren que la expresión del TB puede ser un factor de riesgo útil como factor pronóstico para la detección de metástasis en los ganglios linfáticos, de la recurrencia local y de metástasis a distancia en el CCR.

© 2024 El Autor(s). Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Clinico-pathological evaluation of tumor budding in the oncological progression of colorectal cancer

A B S T R A C T

Keywords:

Tumor budding

Colorectal cancer

Epithelial-mesenchymal transition

Cancer biology

Introduction: Tumor budding (TB), defined as the presence of individual neoplastic cells or isolated groups of up to 4 cells at the front of tumor invasion, has become an adverse prognostic marker in colorectal cancer (CRC) in recent decades. The prognostic impact of TB in CRC remains not clearly defined and histological methods for its evaluation vary depending on the center. The objective of this study is to investigate the association between TB and CRC, in terms of oncological evolution and pathological stage.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: petermedical23@yahoo.it, pietro.giovanni.giordano@gmail.com (P.G. Giordano).

Methods: A retrospective observational study was conducted, including patients undergoing curative oncological surgery for CRC between January 2017 and December 2022. The effects of TB on disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) were evaluated according to the Kaplan-Meier curves.

Results: In 78 cases TB was described in the pathology report. TB was present in 56 patients (71.8%), divided into the following categories: low grade in 22 (39.3%), intermediate grade in 17 (30.4%) and high grade in 17 (30.4%). The proportion of patients who presented lymph node metastases, lympho-vascular and perineural invasion was significantly higher in patients with TB (26.8% vs 0%, $P=0.008$; 41.1% vs 4.5%, $P=0.002$; 16.1% vs 0% $P=0.054$; respectively). DFS was 86.3% in low-grade TB, 75.3% in intermediate-grade TB, and 70.3% in high-grade TB. Cases with intermediate and high grade were associated with a shorter OS compared to the low grade group (93.7% and 75.4% vs 100% $P=0.012$, respectively).

Conclusion: These results suggest that TB expression may be a useful risk factor as a prognostic factor for the detection of lymph node metastasis, local recurrence, and distant metastasis in CRC.

© 2024 The Author(s). Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El *tumor budding* (TB) se define como células neoplásicas, individuales o en grupos aislados de hasta 4 células, en el frente de invasión del tumor. Este hallazgo histológico, que representa la disociación de las células malignas respecto a la población principal del tumor, ha captado el interés de los patólogos desde que se describió por primera vez en la década del año 1950¹.

Si bien en la actualidad el TB es el término más común utilizado en los artículos publicados, los términos «desdiferenciación focal» y «transición epitelio-mesenquimal» indican los procesos biológicos que conllevan a la detección de esta característica histológica². El TB no significa solamente que se ha producido un simple desprendimiento de las células tumorales, sino que también proporciona informaciones sobre la progresión de un tumor maligno, desde una enfermedad al principio localizada, hasta una diseminación sistémica³. Para que este proceso se cumpla, son necesarias la adquisición de específicas características genéticas y la modificación posterior de la expresión de moléculas de adhesión celular^{4,5}.

La utilidad del TB en el ámbito del cáncer colorrectal (CCR) ha sido reconocida en algunas guías clínicas recientes; de hecho, se ha asociado con otras características patológicas agresivas, que incluyen las metástasis ganglionares, la invasión venosa, una pobre diferenciación tumoral y recientemente, la expresión de las proteínas del sistema de reparación de errores de emparejamiento del ADN⁶. En 2016, la International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) elaboró un sistema internacional de puntuación, basado en la evidencia en el CCR⁷. Sin embargo, hasta hace poco, la ausencia de un sistema de puntuación estandarizado dificultaba la implementación del TB en la práctica clínico-patológica. Posteriormente al ITBCC, la literatura ha validado también la asociación entre el TB de grado intermedio/alto con características clínico-patológicas adversas⁸ y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia global (SG)⁹.

Varios estudios y revisiones sistemáticas han encontrado que el TB se asociaba de forma independiente con la recurrencia de la enfermedad, la muerte relacionada con el cáncer y la reducción de la SG. Una revisión exhaustiva, realizada en 2020, demostró un peor pronóstico en el contexto de TB en los estadios avanzados, aplicando un análisis multivariante (SLE a los 5 años del 89 al 98% frente a 52 al 80% en el bajo vs. el alto grado, respectivamente)¹⁰. Algunos trabajos han proporcionado diferentes sistemas de puntuación para valorar el papel pronóstico del TB; sin embargo, estos estudios presentaron limitaciones, incluidos el sesgo de confusión entre grupos, el tamaño limitado de la muestra y las restricciones a ciertas etapas de la enfermedad^{11,12}.

Debido a la naturaleza novedosa y la introducción de este parámetro relativamente reciente aprobada en un consenso internacional, el TB no se suele utilizar ampliamente en la práctica clínica. En este sentido, el propósito de este estudio es aportar

nueva información la asociación entre el TB y el CCR, en términos de evolución oncológica, y de sus características según el estadio patológico.

Métodos

El presente estudio fue aprobado por el comité de ética de la Fundación Jiménez Díaz y realizado según las recomendaciones STROBE para estudios observacionales¹³. Se incluyeron de forma retrospectiva los datos de los pacientes diagnosticados con CCR, entre los años 2017 y 2022, que se sometieron a cirugía con intención curativa en el Servicio de Cirugía General del Hospital Universitario Ruber Juan Bravo.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: mayor de 18 años, diagnóstico prequirúrgico y/o posquirúrgico de adenocarcinoma colorrectal, cirugía programada o de urgencia (en los casos de estenosis, perforación contenida). Los criterios de exclusión consistieron en: tumores digestivos distintos del adenocarcinoma clásico, estadio M1, presencia de otros tumores en la pieza quirúrgica, la falta de descripción del TB en el informe de anatomía-patológica.

Los datos demográficos del paciente, el tipo de resección, la localización y el tamaño del tumor, el grado de diferenciación, la clasificación TNM, la estadificación IUCC, los ganglios linfáticos y la expresión de la inestabilidad de los microsatélites se extrajeron de la base electrónica de datos hospitalarios, de forma retrospectiva y seudonimizada. Los datos sobre el TB se analizaron a partir de los informes de anatomía-patológica, accesibles a través del sistema de registro hospitalario electrónico.

Los datos de supervivencia se recopilaron a través de los servicios ambulatorios y las consultas hospitalarias, con la colaboración del servicio de oncología de nuestro hospital. La última actualización de los datos de seguimiento se realizó el 31/01/2023.

Cálculo del tamaño de la muestra

Publicaciones anteriores describen que el 36,8% de los pacientes con CCR tienen TB en la pieza quirúrgica y que la probabilidad de mortalidad a los 5 años de estos casos es 4,5 veces mayor (IC 95%: 2,5-8,0) respecto a los pacientes sin TB¹⁴. Si se espera que la mortalidad del CCR sin TB a los 5 años es del 36%^{15,16}, se debe incluir en el estudio un mínimo de 52 pacientes (40 pacientes sin TB y 12 pacientes con TB) para poder detectar un riesgo relativo de mortalidad a los 5 años mayor o igual a 2,5, con un poder estadístico del 80% y un nivel de significación del 95%.

Estudio patológico

Se utilizó un protocolo estandarizado para evaluar las muestras resecaadas¹⁷. El margen de resección se informó de acuerdo con la definición de estado R, donde R0 corresponde a un margen libre

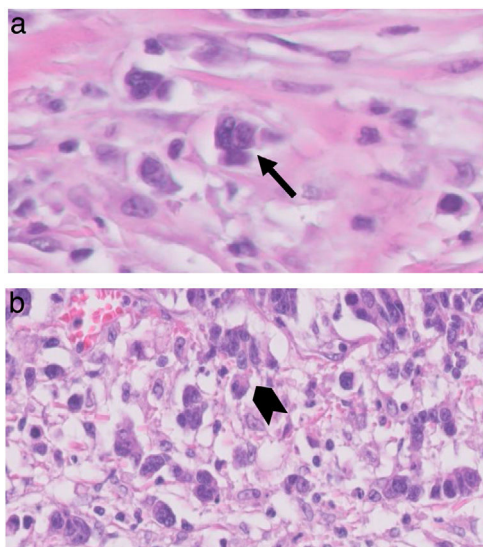


Figura 1. Expresión del TB en H&E: a) El TB se define como células individuales y grupos aislados de hasta 4 células, en el frente invasor del tumor (flecha negra). b) Ejemplo de TB de alto grado (punta de flecha).

de tumor de 1 mm. Los tumores se clasificaron según el sistema de estadificación TNM actual. El estadio T se definió en función del diámetro máximo del componente invasivo. La clasificación del componente de adenocarcinoma siguió las recomendaciones de la OMS¹⁸. La estadificación pronóstica se realizó según la 8.ª edición del manual de estadificación del cáncer del AJCC/UICC¹⁷.

El TB se clasificó según la ITBCC del 2016⁷; los recuentos de TB, en las secciones de H&E, se seleccionaron en un «punto crítico», elegido después de revisar los cristales disponibles de la zona de más infiltración tumoral. El número total de TB se reportó en un área de 0,785 mm²; de esta manera, se informaron tanto el número total como una puntuación en tres grados (bajo, 0-4; intermedio, 5-9; alto, igual o más de 10; fig. 1).

Análisis estadístico

Los parámetros cuantitativos no presentaron distribución normal y se expresaron como mediana y rango intercuartílico (RIQ), a menos que se indicara lo contrario. Los parámetros categóricos se representaron como números absolutos y frecuencias relativas. Las comparaciones entre los 2 grupos, con o sin TB, en función de los parámetros histopatológicos categóricos se realizaron mediante la prueba Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Las curvas de supervivencia se crearon según el método de Kaplan-Meier. Las diferencias de supervivencia se evaluaron mediante la prueba *log-rank*. La SG a los 5 años se definió como el tiempo desde la resección hasta la muerte por cualquier causa o el último seguimiento; la SLE a los 5 años se definió como la ausencia de metástasis o recurrencia local durante el *follow-up*. Se censuraron los pacientes vivos en el último seguimiento.

La significación estadística se fijó en $p < 0,05$. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico IBM SPSS® versión 23.0 (IBM Corp., 2021, Armond, NY, EE. UU.).

Resultados

En total, se identificaron 129 pacientes sometidos a colectomía o resección rectal, entre enero del 2017 y diciembre del 2022. Se excluyeron 51 pacientes porque faltaban datos del TB en el informe patológico. La cohorte final de estudio estuvo compuesta por 78 pacientes, todos con descripción completa del TB, su presencia o

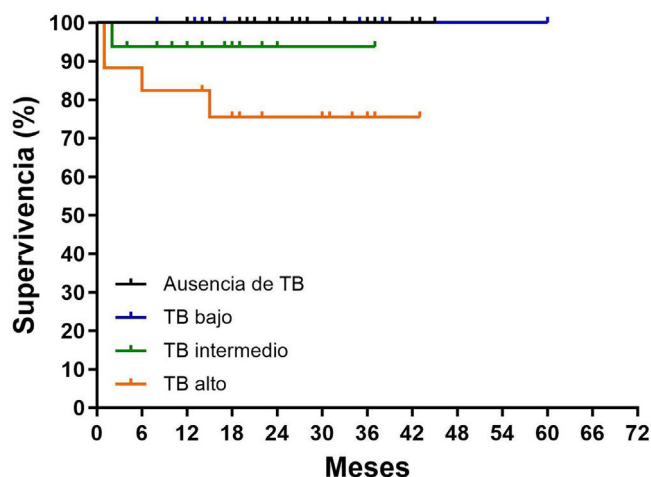


Figura 2. Supervivencia global (SG) según el grado de TB ($p = 0,012$).

ausencia, y con los distintos grados. Se describieron 48 varones (61,5%) y 30 mujeres (38,4%), con una mediana de edad de 70,9 años.

En la *tabla 1*, se resumen las principales características demográficas y clínico-patológicas.

De los 78 casos, el TB estuvo presente en 56 pacientes (71,8%), repartido en las siguientes categorías: bajo grado en 22 (39,3%), grado intermedio en 17 (30,4%) y alto grado en 17 (30,4%). Los tumores se localizaron en colon ascendente (35,9%), colon transverso (10,2%), colon descendente (12,8%), sigma (16,6%), unión recto-sigma (7,6%) y recto (16,6%). Hubo 29 casos (37,1%) en estadio I, 32 casos (41%) en estadio II y 17 casos (21,7%) en estadio III. La mayoría (68%) fueron adenocarcinomas moderadamente diferenciados, mientras que 3 de ellos (3,8%) fueron adenocarcinomas pobremente diferenciados. El estado de inestabilidad de los microsatélites estuvo disponible en 74 casos, con deficiencia de la expresión de las proteínas reparadoras en el 17,9% de los pacientes. Se administró tratamiento neoadyuvante en 20 casos (28,1%).

Características clínicas de los pacientes según el tumor budding

Independientemente del grado, no hubo asociaciones significativas entre el TB y las variables como sexo, edad, localización del tumor, diferenciación histológica, inestabilidad de microsatélites; mientras que se observaron fuertes asociaciones entre el TB y el estadio pT1, el estadio pN y la invasión linfovascular (*tabla 2*). La presencia de invasión linfovascular y el número de los ganglios linfáticos positivos se relacionaron, de forma estadísticamente significativa con el TB ($p = 0,008$, $p = 0,001$, respectivamente).

Análisis de la relación entre el tumor budding y la supervivencia

Se produjeron un total de 7 fallecimientos (91% de toda la serie): un caso fallecido en el grupo sin expresión del TB y 6 pacientes en el grupo con TB; comparando la SG entre los 2 grupos (95,5 vs. 89,3%, respectivamente), no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,143$). Sin embargo, el TB demostró una peor supervivencia de la enfermedad, a los 5 años, según iba aumentando el grado; de hecho, el TB de grado intermedio y alto se asociaron a una SG más corta en comparación con la del TB de bajo grado (93,7 y 75,4% vs. 100%, respectivamente; $p = 0,012$; *fig. 2*).

Se diagnosticaron 12 pacientes con recidivas de cualquier tipo, metástasis o recurrencia local, obteniendo una SLE de toda la serie del 84,6%. En 2 casos, se observó la coexistencia de metástasis a distancia y recaída local a nivel intraabdominal y anastomótico. En

Tabla 1
Características clínico/patológicas de los 78 pacientes según el estadio clínico AJCC/UICC

	Todos los pacientes n = 78 (%)	Estadio I n = 29 (%)	Estadio II n = 32 (%)	Estadio III n = 17 (%)
<i>Edad en años, media ± SD</i>	70,93 ± 12,29	69,13 ± 14,84	72,84 ± 7,81	70,41 ± 14,50
<i>Sexo</i>				
Mujer	30 (38,46)	9 (31,03)	15 (46,88)	6 (35,29)
Varón	48 (61,54)	20 (68,97)	17 (53,13)	11 (64,71)
<i>Clasificación ASA</i>				
1	4 (5,13)	3 (10,34)	0	1 (5,88)
2	44 (56,41)	15 (51,72)	22 (68,75)	7 (41,18)
3	27 (34,62)	11 (37,93)	9 (28,13)	7 (41,18)
4	3 (3,85)	0	1 (3,13)	2 (11,76)
<i>Cirugía abdominal previa</i>				
Sí	33 (42,31)	12 (41,38)	13 (40,63)	8 (46,07)
No	45 (57,69)	17 (58,62)	19 (59,38)	9 (52,94)
<i>Localización</i>				
Colon ascendente	28 (35,90)	9 (31,03)	12 (37,50)	7 (41,18)
Colon transverso	8 (10,26)	4 (13,79)	4 (12,50)	0
Colon descendente	10 (12,82)	2 (6,90)	6 (18,75)	2 (11,76)
Sigma	13 (16,67)	3 (10,34)	5 (15,63)	5 (29,41)
Unión recto-sigma	6 (7,69)	1 (3,45)	4 (12,50)	1 (5,88)
Recto	13 (16,67)	10 (34,48)	1 (3,13)	2 (11,76)
<i>Abordaje quirúrgico</i>				
Abierto	23 (29,49)	7 (24,14)	9 (28,13)	7 (41,18)
Laparoscópico	55 (70,51)	22 (75,86)	23 (71,88)	10 (58,82)
<i>Estadio pT con N0 (T 8th)</i>				
pT1N0	12 (15,38)	12 (41,38)	0	0
pT2N0	17 (21,79)	17 (58,62)	0	0
pT3N0	32 (41,03)	0	31 (96,88)	0
pT4N0	1 (1,28)	0	1 (3,13)	0
<i>Cualquier pT con N positivo (N 8th)</i>				
N1	10 (12,82)	0	0	10 (58,82)
N2	7 (8,97)	0	0	7 (41,18)
<i>Grado de diferenciación</i>				
G1	7 (8,97)	6 (20,69)	1 (3,13)	0
G2	68 (87,18)	23 (79,31)	30 (93,75)	15 (88,24)
G3	3 (3,85)	0	1 (3,13)	2 (11,76)
<i>Número de ganglios aislados, media ± SD</i>	14,78 ± 7,08	14,83 ± 6,88	13,90 ± 5,81	16,94 ± 9,28
<i>Número de ganglios positivos</i>				
0	63 (80,77)	29 (100)	32 (100)	2 (11,76)
1	4 (5,13)	0	0	4 (23,53)
2	4 (5,13)	0	0	4 (23,53)
4	1 (1,28)	0	0	1 (5,88)
5	1 (1,28)	0	0	1 (5,88)
6	2 (2,56)	0	0	2 (11,76)
7	1 (1,28)	0	0	1 (5,88)
9	1 (1,28)	0	0	1 (5,88)
10	1 (1,28)	0	0	1 (5,88)
<i>Relación ganglios positivos/número de ganglios aislados, media ± SD</i>	5,01 ± 13,84	0	0	22,99 ± 21,98
<i>Invasión linfovascular</i>				
Presente	24 (30,77)	4 (13,79)	4 (12,50)	16 (94,12)
Ausente	54 (69,23)	25 (86,21)	28 (87,50)	1 (5,88)
<i>Invasión perineural</i>				
Presente	9 (11,54)	1 (3,45)	1 (3,13)	7 (41,18)
Ausente	69 (88,46)	28 (96,55)	31 (96,88)	10 (58,82)
<i>Inmunohistoquímica del MMR</i>				
Positivo	60 (76,92)	19 (65,52)	28 (87,50)	13 (76,47)
Negativo	14 (17,95)	8 (27,59)	3 (9,38)	3 (17,65)
No realizado	4 (5,13)	2 (6,90)	1 (3,13)	1 (5,88)
<i>TB</i>				
Presente	56 (71,79)	19 (65,52)	21 (65,63)	16 (94,12)
Ausente	22 (28,21)	10 (34,48)	11 (34,38)	1 (5,88)
<i>Grado de TB</i>				
Bajo	22 (39,29)	9 (47,37)	10 (47,62)	3 (18,75)
Intermedio	17 (30,36)	6 (31,58)	5 (23,81)	6 (37,50)
Alto	17 (30,36)	4 (21,05)	6 (28,57)	7 (43,75)
<i>AJCC/UICC (8th)</i>				
I	29 (37,18)	29 (100,00)	0	0
IIA	31 (39,74)	0	31 (96,88)	0
IIB	1 (1,28)	0	1 (3,13)	0
IIIB	10 (12,82)	0	0	10 (58,82)
IIIC	7 (8,97)	0	0	7 (41,18)
<i>Terapia adyuvante</i>				
Sí	20 (28,17)	4 (13,79)	7 (23,33)	9 (75,00)
No	51 (71,83)	25 (86,21)	23 (76,67)	3 (25,00)
Datos no analizados	7	0	2	5

AJCC/UICC: Comité Conjunto Americano sobre el Cáncer/Unión para el Control Internacional del Cáncer; ASA: Clasificación de la Sociedad Estadounidense de Anestesiólogos; MMR: Mismatch Repair, sistema de reparación de desajuste del ADN; SD: desviación estándar; TB: Tumor Budding.

Tabla 2
Características clínicas de los pacientes en función del TB

	TB ausente n = 22 (%)	TB presente n = 56 (%)	Valor de p
Edad en años, media ± SD	68,7 ± 13,7	71,8 ± 11,7	0,162
Sexo			
Mujer	11 (50)	19 (33,9)	0,189
Varón	11 (50)	37 (66,1)	
Localización			
Colon ascendente	6 (27,3)	22 (39,3)	0,320
Colon transversal	3 (13,6)	5 (8,9)	0,680
Colon descendente	3 (13,6)	7 (12,5)	1,000
Sigma	6 (27,3)	7 (12,5)	0,174
Unión recto-sigma	0	6 (10,7)	0,176
Recto	4 (18,2)	9 (16,1)	1,000
Estadio pT con N0 (T 8th)			
pT1N0	7 (31,8)	5 (8,9)	0,031
pT2N0	3 (13,6)	14 (25)	0,368
pT3N0	11 (50)	21 (37,5)	0,313
pT4N0	0	1 (1,8)	1,000
Cualquier pT con N positivo (N 8th)			
N1	1 (4,5)	9 (16,1)	0,267
N2	0	7 (12,5)	0,182
Número de ganglios aislados, media ± SD	13,7 ± 6,9	15,2 ± 7,2	0,225
Número de ganglios positivos (N)			
N = 0	22 (100)	41 (73,2)	0,008
N > 0	0	15 (26,8)	
Invasión linfovascular			
Presente	1 (4,5)	23 (41,1)	0,002
Ausente	21 (95,5)	33 (58,9)	
Invasión perineural			
Presente	0	9 (16,1)	0,054
Ausente	22 (100,0)	47 (83,9)	
Inmunohistoquímica del MMR			
Positivo	18 (85,7)	42 (79,2)	0,521
Negativo	3 (14,3)	11 (20,8)	
AJCC/UICC (8th)			
I	10 (45,5)	19 (33,9)	0,036
II	11 (50,0)	21 (37,5)	
III	1 (4,5)	16 (28,6)	
Terapia adyuvante			
Sí	3 (14,3)	17 (34)	0,092
No	18 (85,7)	33 (66)	

AJCC/UICC: Comité Conjunto Americano sobre el Cáncer/Unión para el Control Internacional del Cáncer; MMR: Mismatch Repair, sistema de reparación de desajuste del ADN; SD: desviación estándar.

el grupo con TB hubo 11 pacientes con recidiva frente a un solo caso en el grupo sin TB (80,4 vs. 95,5% respectivamente; $p = 0,096$).

Se observó una SLE con peores resultados según iba aumentando el grado: el 70% en el alto, el 75,3% en el intermedio y el 86,3% en el bajo grado. Se describió una tendencia a una mayor recurrencia local según el grado de TB, sin llegar a una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,071$; fig. 3a). Sin embargo, combinando la tasa de metástasis y recurrencia local con el grado de TB, las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para la SLE mostraron diferencias significativas entre los distintos grados ($p = 0,034$; fig. 3b).

Discusión

El TB describe la presencia de células tumorales aisladas o en pequeños grupos en el frente de invasión de los carcinomas. Actualmente se cree que este aspecto morfológico, resultado de la transición desde un fenotipo epitelial a uno mesenquimal, puede representar el primer paso para la invasión tumoral. Por esta razón, el TB se ha considerado como un posible factor pronóstico relacionado al adenocarcinoma de colon. La relevancia pronóstica del TB se ha empezado a reflejar en las últimas publicaciones de la UICC del 2017, así como en su inclusión en las directrices para el cribado,

el diagnóstico y el tratamiento del CCR en Europa y Japón^{19,20}. Las directrices de la ESMO (European Society for Medical Oncology) lo han incluido como una característica de alto riesgo, junto con la invasión linfática o venosa²¹.

Aunque estudios previos habían descrito una asociación entre el TB de alto grado y la invasión linfovascular, reconociendo su importancia como factor de mal pronóstico, existen hoy en día discrepancias en la comunidad científica; en particular, el TB no está todavía incluido actualmente como una característica adversa de alto riesgo en otras líneas guía, incluidas las directrices del NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence).

Se han investigado los resultados oncológicos del TB en el CCR, sugiriendo una peor evolución y una mayor tasa de metástasis en los ganglios linfáticos¹⁰. En 2016, una revisión basada en estudios retrospectivos, demostró que el TB se asociaba a una peor evolución después de una resección curativa para el CCR en estadio II²; aunque estudios de cohortes retrospectivos analizaron como el TB se asociaba a una peor supervivencia en los pacientes tratados de CCR en estadio II, un estudio de 477 pacientes con CCR en estadio III no demostró que el TB fuera un factor pronóstico independiente²².

En presencia de metástasis, un estudio retrospectivo analizó una tasa de supervivencia a los 5 años del 18,4% para el alto grado, en

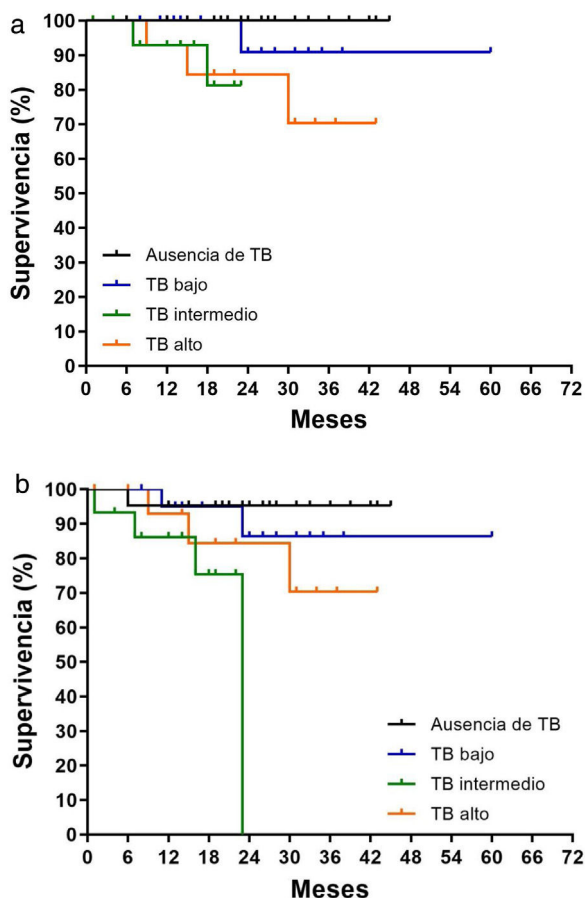


Figura 3. Supervivencia basada en la tasa de recurrencia local y la tasa combinada de metástasis y recurrencia local (supervivencia libre de enfermedad [SLE]): a) Supervivencia basada en la tasa de recurrencia local y grado de TB ($p=0,071$). b) SLE y grado de TB ($p=0,034$).

comparación con el 40,5% para los grados bajo e intermedio (HR: 1,51; $p < 0,009$) en pacientes con CCR metastásico⁹. Por el contrario, algunos estudios demostraron que la importancia pronóstica del TB no era significativa en un análisis multivariante; de hecho, en 2010, un análisis retrospectivo cuestionó la utilidad del TB en el pronóstico en pacientes con CCR con metástasis ganglionares, sugiriendo que una vez que el tumor se había diseminado a los ganglios linfáticos, su grado no resultaba ser significativo para el comportamiento biológico futuro²².

Ante la heterogeneidad de los resultados y la falta de una unificación sólida en la práctica clínica, este estudio investiga la asociación entre el TB en el frente invasivo y la evolución oncológica en pacientes con resección quirúrgica del CCR.

En nuestro estudio, hemos reclutado un número consecutivo de pacientes con CCR sin metástasis al momento del diagnóstico, excluyendo por lo tanto a los pacientes en estadio clínico IV. Si bien en la literatura el valor del TB parece ser más útil en el CCR temprano, su papel se podría aplicar a todas las etapas del CCR. En estadio III, un análisis retrospectivo mostró una asociación significativa entre el TB de alto grado y la quimiorresistencia²³. Es verdad que la utilidad pronóstica del TB es mayor en pacientes con CCR en los estadios I y II, donde puede permitir la identificación de pacientes que tengan un mayor riesgo de metástasis a los ganglios linfáticos²⁴.

Nuestro estudio ha analizado los casos según los estadios de la AJCC/UICC; teniendo en cuenta el estadio clínico y la expresión del TB, el 33,9% eran estadio I, el 37,5% estadio II, el 28,6% estadio III frente al 45,5% estadio I, 50% estadio II, 4,5% estadio

III en el grupo sin la presencia del TB, observando una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,036$) (tabla 2). Atendiendo exclusivamente al estadio «T» anatómico-patológico con N0, obtenido tras analizar las piezas quirúrgicas, la distribución en el grupo con TB fue la siguiente: el 8,9% se clasificaron como pT1, el 25% como pT2, el 37,5% como pT3, el 1,8% como pT4. Interesante observar una diferencia estadísticamente significativa a la hora de comparar el estadio pT1N0 en los dos grupos de estudio, con o sin TB (8,9 vs. 31,8%; $p=0,031$, respectivamente) (tabla 2).

La proporción creciente del TB en tumores con estadio T más avanzados se justificaría por el hecho de que los tumores con más infiltración T suelen ser neoplasias más agresivas y avanzadas y, por lo tanto, con una mayor expresión de TB. Siguiendo esta hipótesis, se encontró una fuerte asociación entre la expresión del TB y el estado negativo/positivo de los ganglios aislados de la pieza quirúrgica ($p=0,008$) y una mayor tasa de invasión linfovascular ($p=0,002$) y perineural ($p=0,054$) (tabla 2).

Con una mediana de seguimiento de 5 años, en el grupo sin expresión del TB hubo solo un caso fallecido y en el grupo con expresión del TB fallecieron 6 pacientes, con una tasa de SG del 95,5 y del 89,3%, respectivamente. A la hora de diferenciar el grado, hemos podido observar una SG del 100% en el bajo, del 93,7% en el intermedio y del 75,4% en el alto grado respectivamente, con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,012$) (fig. 2).

El aspecto más relevante es el análisis de los resultados en función de la SLE. En un estudio multicéntrico prospectivo, la tasa de supervivencia libre de recaída a los 5 años fue del 90,9, 85,1 y 74,4%, en los grados bajo, intermedio y alto respectivamente ($p < 0,001$), y el grado de TB se correlacionó significativamente con la recurrencia en el grupo de metástasis hepáticas, pulmonares, ganglionares y peritoneales²⁵. Estos resultados corroboran los datos que hemos encontrado en nuestra serie; la SLE fue del 86,3% en el bajo, del 70,6% en el intermedio y del 76,5% en el alto grado respectivamente, con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,034$) (fig. 3b).

Se han demostrado hallazgos similares en pacientes con cáncer de recto, tratados con neoadyuvancia²⁶. Aunque la mayoría de los estudios abordan el impacto pronóstico en el CCR sin tratamiento previo, existe controversia en el escenario posneoadyuvante de los tumores rectales tratados con quimiorradioterapia¹⁴. En nuestro estudio, hemos analizado los pacientes con cáncer rectal (el 16,67% de la muestra) junto con el resto de los casos, teniendo en cuenta que el efecto de la neoadyuvancia pueda dificultar la valoración del TB, a causa de la fibrosis inducida por la radioterapia y la escasez celular en caso de respuesta completa al tratamiento.

Otro aspecto importante se basa en la elección del método de observación del TB y el tamaño del campo microscópico, recomendando un método estandarizado para estudios futuros²⁰. Por esta razón, la reunión de consenso del 2016 estableció que la observación del TB se debiera realizar en secciones de H&E, más rentable y al mismo tiempo suficiente respecto a la técnica de inmunohistoquímica con el uso de las pancitoqueratinas. El recuento del TB se debe conseguir primero eligiendo un área, definida como «punto crítico» (hotspot), tras escanear 10 campos microscópicos a potencia media, y luego analizar dicha área con un objetivo de $\times 20$, lo que equivale a un campo microscópico de 0,785 mm². En nuestra serie, pudimos protocolizar, según las líneas guía previamente descritas, la valoración del TB en todos los cristales de los pacientes incluidos, gracias a la colaboración de 2 patólogos expertos en patología digestiva.

Resulta destacable el hecho de que, a pesar de las implicaciones pronósticas del TB en la bibliografía, su implementación en el informe de anatomía patológica no resulta ser homogénea y universalmente establecida. En nuestra experiencia, su aplicación ha sido más protocolizada en los últimos años, cuando las piezas del estudio venían revisadas por parte de los mismos patólogos, expertos en la oncología digestiva. Por lo tanto, esto ha implicado

la exclusión de 51 pacientes, de los 129 que se sometieron a intervención curativa de CCR, porque carecían de tal descripción. Somos conscientes de que esto conllevaría un sesgo de selección, en la medida que los pacientes excluidos podrían haber modificado los resultados encontrados. Sin embargo, una vez incorporada la descripción del TB de una forma más consolidada, se ha podido llegar a una alta tasa de esta característica histológica en las piezas analizadas y se han conseguido conclusiones significativas en el pronóstico oncológico. Por esta razón, insistimos en la necesidad de protocolizar el TB en los departamentos de cirugía oncológica para poder elaborar investigaciones futuras.

Es necesario afirmar que nuestro estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar, se ha realizado retrospectivamente en una sola institución; por lo tanto, la naturaleza retrospectiva comporta por definición un sesgo de selección. A la hora de seleccionar el método de observación del TB, no hemos comparado de forma sistemática la H&E con otros métodos histológicos, como la inmunohistoquímica. Después de la realización del estudio, se ha obtenido una diferencia entre la proporción esperada de pacientes con TB, descrita en la literatura, y la proporción de pacientes con TB en nuestro estudio (56 pacientes, el 71% de la muestra).

A pesar de estas limitaciones, nuestro estudio presenta algunos aspectos relevantes. Hemos distinguido las características del TB según los tres estadios del CCR y hemos analizado la SG, teniendo en cuenta los diferentes grados. Aunque la muestra comprendía un número pequeño de pacientes, los resultados han sido homogéneos, debido al manejo quirúrgico y clínico por parte del mismo equipo y gracias al análisis sistemático de todos los cristales.

Conclusión

El TB ha sido considerado, en las últimas décadas, como un marcador pronóstico en el CCR; una mayor expresión del TB se asociaría a un comportamiento tumoral más agresivo y a unos resultados menos favorables en términos de progresión de la enfermedad y supervivencia.

Este estudio proporciona informaciones sobre la morfología del TB según el estadio tumoral y la importancia clínica del mismo como factor de mal pronóstico; de hecho, este trabajo confirma la evidencia publicada que asocia el TB a una supervivencia más corta. Para mejorar la potencia del estudio en cuanto al análisis de subgrupos, debido al número restringido de pacientes, se necesita en un futuro la elaboración de estudios multicéntricos, recogiendo un número más elevado de pacientes en un marco de tiempo determinado.

Se sugiere una aplicación estandarizada y rutinaria del TB y se recomienda y advierte sobre la necesidad de estudios futuros que puedan dilucidar su utilidad en el pronóstico de los estadios precoces y en la toma de decisiones en el tratamiento oncológico de los pacientes con CCR.

Aprobación ética

Este protocolo de estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Fundación Jiménez Díaz, expediente de aprobación n°22/21 (14/12/21) y n°06/22 (04/12/22), con Código de Protocolo PGG-CAD-2022-01. Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, el informe de Belmont, el convenio de Oviedo sobre los derechos humanos y la biomedicina y la ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica. El estudio se realizó conforme a la legislación de la UE sobre datos personales, en concreto la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, el Real Decreto

1720/2007, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Financiación

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Autorías

Pietro Giovanni Giordano: conceptualización, curación de datos, análisis formal, metodología, visualización, redacción del borrador original, revisión y edición de la redacción final. Ana Gabriela Díaz Zelaya: conceptualización, curación de datos, análisis formal, metodología, redacción del borrador original. Yari Yuritzi Aguilera Molina: curación de datos, análisis formal, supervisión, revisión y edición de la redacción final. Nestor Orlando Taboada Mostajo: curación de datos, análisis formal, metodología, revisión y edición de la redacción final. Yelene Ajete Ramos: curación de datos, análisis formal, metodología, revisión y edición de la redacción final. Ricardo Ortega García: curación de datos, análisis formal, metodología, revisión y edición de la redacción final. Esteban Peralta De Michelis: curación de datos, análisis formal, metodología, revisión y edición de la redacción final. Juan Carlos Meneu Díaz: conceptualización, curación de datos, análisis formal, metodología, visualización, redacción del borrador original, revisión y edición de la escritura final.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Dra. Cristina Andreu Vázquez, a la Dra Ana Isabel Castillo Varón y al Dr. Israel John Thuissard Vasallo (Grupo de Asesoramiento Metodológico y Estadístico, Universidad Europea de Madrid) por su asesoramiento a la elaboración del análisis estadístico.

Bibliografía

1. Imai T. The growth of human carcinoma: A morphological analysis. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 1954;45:72–102.
2. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for diagnostic practice? *Hum Pathol*. 2016;47:4–19.
3. Märkl B, Arnholdt HM. Prognostic significance of tumor budding in gastrointestinal tumors. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011;11:1521–33.
4. Prall F. Tumor budding in colorectal carcinoma. *Histopathology*. 2007;50:151–62.
5. Zlobec I, Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: Tumor budding as oncotarget. *Oncotarget*. 2010;1:651–61.
6. van Wyk HC, Roseweir A, Alexander P, Park JH, Horgan PG, McMillan DC, et al. The Relationship Between Tumor Budding Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2019;26:4397–404.
7. Dawson H, Galuppini F, Träger P, Berger MD, Studer P, Brügger L, et al. Validation of the International Tumor Budding Consensus Conference 2016 recommendations on tumor budding in stage I–IV colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2019;50:145–51.
8. Canguçu AL, Valério E, Peixoto RBP, Felismino TC, de Mello CAL, Neotti T, et al. The prognostic influence of tumour budding in Western patients with stage II colorectal cancer. *Ecanermedscience*. 2020;14:1130.
9. Nagata K, Shinto E, Yamadera M, Shiraishi T, Kajiwara Y, Okamoto K, et al. Prognostic and predictive values of tumour budding in stage IV colorectal cancer. *BJSO*. 2020;4:693–703.
10. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R. Tumor budding in solid cancers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18:101–15.

11. Betge J, Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, et al. Tumor budding is an independent predictor of outcome in AJCC/UICC stage II colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:3706–12.
12. Rieger G, Koelzer VH, Dawson HE, Berger MD, Hädrich M, Inderbitzin D, et al. Comprehensive assessment of tumour budding by cytokeratin staining in colorectal cancer. *Histopathology*. 2017;70:1044–51.
13. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. STROBE Initiative. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: Guidelines for reporting observational studies. *Ann Intern Med*. 2007;147:573–7.
14. Rogers AC, Winter DC, Heeney A, Gibbons D, Lugli A, Puppa G, et al. Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2016;115:831–40.
15. Xu W, He Y, Wang Y, Li X, Young J, Ioannidis JPA, et al. Risk factors and risk prediction models for colorectal cancer metastasis and recurrence: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med*. 2020;18:172.
16. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [accessed 6 Jun 2023] Available from: <https://seer.cancer.gov/index.html>
17. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum. Version: 4.2.0.0. Protocol Posting Date: June 2021 [accessed 12 Jun 2023] Available from: <https://documents.cap.org/protocols/ColoRectal.4.2.0.0.REL.CAPCP.pdf>; 2023.
18. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P. WHO Classification of Tumours Editorial Board The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*. 2020;76:182–8.
19. Guzińska-Ustymowicz K, Zalewski B, Kasacka I, Piotrowski Z, Skrzydlewska E. Activity of cathepsin B and D in colorectal cancer: Relationships with tumour budding. *Anticancer Res*. 2004;24:2847–51.
20. Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y, Ito Y, Ajioka Y, Hamaguchi T. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*. 2020;25:1–42.
21. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, ESMO Guidelines Committee Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020;31:1291–305.
22. Sy J, Fung CL-S, Dent OF, Chapuis PH, Bokey L, Chan C. Tumor budding and survival after potentially curative resection of node-positive colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010;53:301–7.
23. Yamadera M, Shinto E, Kajiwara Y, Mochizuki S, Okamoto K, Yamamoto J, et al. Differential Survival Benefits of 5-Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy for Patients With Microsatellite-Stable Stage III Colorectal Cancer According to the Tumor Budding Status: A Retrospective Analysis. *Dis Colon Rectum*. 2019;62:1316–25.
24. Mitrovic B, Handley K, Assarzagdegan N, Li Chang HH, Dawson H, Grin A, et al. Prognostic and predictive value of tumour budding in stage II colorectal carcinoma. *JCO*. 2015;33:3605–3605.
25. Ueno H, Ishiguro M, Nakatani E, Ishikawa T, Uetake H, Matsuda C, et al. Prospective Multicenter Study on the Prognostic and Predictive Impact of Tumor Budding in Stage II Colon Cancer: Results From the SACURA Trial. *J Clin Oncol*. 2019;37:1886–94.
26. Du C, Xue W, Li J, Cai Y, Gu J. Morphology and prognostic value of tumor budding in rectal cancer after neoadjuvant radiotherapy. *Hum Pathol*. 2012;43:1061–7.