



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**“VALOR PRONÓSTICO DEL PERFIL MUTACIONAL Y SU EVOLUCIÓN
DURANTE EL TIEMPO EN PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE CÁNCER
COLORRECTAL DEL HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO.”**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN:

MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

DRA. PAULINA VIDAL CEVALLOS

TUTOR DE TESIS:

DRA. LIZBETT VANESSA GARCÍA MONTES

**MÉDICO ADSCRITO DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA
DEL HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., AGOSTO DE 2018



HOSPITAL ESPAÑOL



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.

Dr. Manuel Álvarez Navarro
Jefe de Departamento de Enseñanza e Investigación
Hospital Español de México

Dr. Alejandro Cañizares Macías
Profesor Titular del Curso de Medicina Interna
Hospital Español de México

Dra. Lizbett Vanessa García Montes
Asesor de Tesis
Hospital Español de México

DEDICATORIA

A mi abuelo Carlos, el primer médico que conocí, su vida siempre fue muestra de ética profesional, estudio arduo, respeto al prójimo e infinito amor a su familia.

A mi abuela María Enriqueta, quien me enseñó que el trabajo duro y la perseverancia son las bases del éxito, por haber marcado para siempre los primeros años de mi vida.

A mis padres, Carlos Alonso y María Aurelia, por haberme dado los principios morales que me rigen, por haberme provisto de la mejor educación que pudieron, por nunca dejarme sola y haberme apoyado en todos los momentos. De ellos es todo lo que soy.

A mis hermanos, Mariel y Carlos, que han sido compañía constante en este camino, que siempre han sido hombro en las tristezas y han sabido compartir mis alegrías.

A mi novio Christian, por acompañarme en los peores y en los mejores momentos, por estar siempre dispuesto a ayudarme, por su paciencia, por compartir su vida conmigo y por amarme incondicionalmente.

A todos ellos porque siempre serán mi gran inspiración.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Lizbett Vanessa García Montes, por ser en todo momento ejemplo de ética, compromiso, superación y entrega; pero sobre todo, por haberme brindado su valioso tiempo.

A la Dra. Margarita María Virgen Cuevas, por ser siempre modelo de excelencia, por su orientación y sus consejos.

Al Dr. Alejandro Cañizares Macías, por haber sido nuestra guía en este camino y por enseñarnos que para ser buen médico primero hay que ser buen ser humano.

Al Dr. José Luis Álvarez Vera, por los conocimientos y apoyo que aportó a mi educación.

Al Lic. Adrián Cervantes y a todos los miembros del Archivo Clínico del Hospital Español de México, por su amable asistencia.

A todos mis profesores y compañeros que durante este camino me aportaron algo de su sapiencia. Sin su ayuda no hubiese sido posible.

ÍNDICE

RESUMEN	5
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	14
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	15
MATERIALES Y MÉTODOS	15
a) Tipo de estudio	15
b) Población	15
c) Diseño del estudio	16
d) Criterios de selección	16
e) Tamaño de la muestra	17
f) Legislación	17
g) Técnicas de instrumentación y recolección	17
COSTOS	20
ESTRATEGIA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXO 1	35

RESUMEN

Antecedentes

El cáncer colorrectal (CCR) es la segunda causa más común de cáncer en mujeres y la tercer más común en hombres. Se estima que es la cuarta causa de muerte por cáncer a nivel mundial. Existe la necesidad de identificar biomarcadores predictivos adicionales para mejorar los resultados terapéuticos. A pesar de los avances en el perfil molecular del CCR, no se ha tenido progreso en identificar marcadores predictivos más allá del gen RAS.

Realizar un perfil mutacional más completo permite mejorar el entendimiento de la situación clínica del paciente y tiene una repercusión directa en la opciones de tratamiento que se pueden ofrecer y esto puede tener un impacto en el pronóstico. Nuestro objetivo es describir y comparar las diferencias que existen en la supervivencia global, periodo libre de enfermedad y periodo libre de progresión en pacientes diagnosticados con CCR con respecto a si tienen o no perfil de mutaciones.

Materiales y Métodos

Se revisaron 148 expedientes de la base de datos del Hospital Español que fueron ingresados a hospitalización en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 con diagnóstico de “cáncer colorrectal” o “cáncer de recto” con un seguimiento mínimo de 6 meses hasta junio de 2018. Únicamente se obtuvo confirmación del diagnóstico mediante resultado de histopatología realizado por el Departamento de Patología de la misma institución en 115 expedientes.

Se dividieron en dos grupos: 1) 65 pacientes a los que no se les realizó Perfil Mutacional para Cáncer de Colorrectal (PMCCR; 56.5%) y 2) 50 pacientes a los que se les realizó PMCCR, el cual consistía en haberse realizado una o más de las siguientes mutaciones: KRAS, NRAS, BRAF, p53 o MSI-H. Nuestro objetivo primario fue describir y comparar las diferencias que existen en la supervivencia global, periodo libre de enfermedad y periodo libre de progresión hasta junio de 2018 entre estos dos grupos.

Resultados

Se revisaron 148 expedientes que con diagnóstico de “cáncer colorrectal” o “cáncer rectal” realizado en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México; de los cuales 115 tuvieron confirmación mediante resultado de histopatología. El seguimiento mínimo fue de 6 meses.

Del total 13 (20%) del grupo sin PMCCR y 20 (40%) del grupo con PMCCR se perdieron en el seguimiento. La media de edad al diagnóstico (\pm DE) fue de 71.2 ± 12.1 en el grupo sin PMCCR vs. 60.2 ± 14 en el grupo con PMCCR ($p < 0.001$), siendo significativamente menor en el grupo con PMCCR.

A ningún sujeto se le realizó perfil que incluyera todos los genes. El estudio más solicitado fue KRAS (39 sujetos), de los cuales 14 tuvieron mutación, el segundo más solicitado fue MSI-H (35), de los cuales 8 fueron positivos. NRAS se solicitó para 21 sujetos y BRAF para 19, ningún sujeto tuvo mutación de esos dos genes. Únicamente a un sujeto se le solicitó perfil para p53 y fue positivo para mutación.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de Kaplan-Meier de la SG, PLE y PLP comparando el grupo con PMCCR vs. el grupo sin PMCCR: SG (54.36 meses, IC95%: 38.9-69.8 vs, 67.64 meses, IC95%: 55.4-79.8 $p=0.790$). PLE: (69.14 meses, IC95%: 53.07-85.21 vs 75.83 meses, IC95%: 63.25-88.41; $p=0.533$). PLP (30.76 meses, IC95%: 19.91-41.55 vs. 21.5, IC95%: 3.2-39.79; $p=0.169$), respectivamente.

Conclusiones

En nuestro estudio no encontramos ninguna diferencia estadísticamente significativa para supervivencia global, periodo libre de enfermedad y/o periodo libre de progresión entre el grupo de pacientes al que se realizó PMCCR y el grupo de pacientes que no tiene PMCCR. Es importante mencionar que al analizar el grupo con determinación de mutaciones aquellos pacientes que mayormente se benefician del conocimiento de este perfil mutacional son los pacientes en etapa clínica IV, en los cuales se puede considerar tanto factor pronóstico como predictivo de respuesta a tratamiento.

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

El cáncer colorrectal (CCR) es la segunda causa más común de cáncer en mujeres y la tercer más común en hombres. Se estima que es la cuarta causa de muerte por cáncer a nivel mundial (8), y representa el 9.7% de los tumores sólidos tipo no melanoma. La incidencia en Latinoamérica es de 14 casos por 100 000 habitantes. La mortalidad por cáncer colorrectal ha incrementado en 57% entre 1990 y 2013. La mayoría de los pacientes con cáncer esporádico son mayores de 50 años (3).

Existen factores de riesgo conocidos como son antecedentes familiares de cáncer colorrectal (hasta el 35% del cáncer colorrectal se puede atribuir a factores hereditarios), antecedente de enfermedad inflamatoria intestinal, tabaquismo, consumo excesivo de alcohol, alto consumo de carnes rojas o procesadas, obesidad y diabetes (2).

Los factores que se han demostrado como protectores incluyen la actividad física de al menos 30 minutos diarios, consumo de lácteos, granos, frutas, vegetales, calcio, fibra, vitamina D, la terapia de reemplazo hormonal. El consumo de aspirina a dosis bajas reduce el riesgo en un 20 a 30%; sin embargo, la endoscopia con la resección de lesiones pre-cancerosas es la intervención que reduce el riesgo en mayor medida (2, 3).

El CCR varía en términos de factores de riesgo y características clínicas y biológicas basados en su localización dentro del colon o recto, sugiriendo distintas etiologías o mecanismos carcinogénicos (11).

La epigenética se describió por primera vez por el biólogo Conrad H. Waddington en 1942, y se ocupa del estudio de las alteraciones hereditarias en la expresión genética que no están mediadas por cambios en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico). Las alteraciones epigenéticas frecuentemente halladas en células cancerosas incluyen: metilación aberrante del ADN, modificaciones anormales de las histonas y niveles alterados de expresión en RNA (ácido ribonucleico) no codificante, incluyendo los microRNAs (miRNAs) (16).

La pérdida de la estabilidad genética acelera la acumulación de mutaciones epigenéticas en los oncogenes y genes de supresión tumoral, esto lleva a la transformación maligna de células del colon por expansión clonal. La mayoría de los tumores se originan de un pólipo benigno con una cripta aberrante que evoluciona a un adenoma hasta llegar a ser cáncer colorrectal. Estas alteraciones toman de 10 a 15 años en progresar (3). El consenso actual sugiere que las alteraciones epigenéticas en el CCR ocurren de manera temprana y se manifiestan más frecuentemente que las alteraciones genéticas (16).

Las formas hereditarias constituyen del 3-5% del CCR, las dos formas más comunes son el cáncer colorrectal hereditario no-polipósico, conocido como Síndrome de Lynch y la poliposis adenomatosa familiar; los dos síndromes son autosómicos dominantes (2). El CCR esporádico se define como el cáncer que surge en el colon o recto en pacientes sin historia familiar de cáncer colorrectal o de enfermedad inflamatoria intestinal (EII). El CCR esporádico se forma a través de la acumulación de eventos genéticos y epigenéticos que son clonales (6).

El modelo convencional de la formación del CCR fue propuesta por Fearon y Vogelstein (20) y supone una secuencia normal-adenoma-cáncer y considera a los pólipos adenomatosos como las principales lesiones pre-neoplásicas para CCR; las transición de mucosa normal a pólipo adenomatoso está marcado por alteraciones genéticas y epigenéticas.

El patrón “serrado” es otra ruta para la formación de CCR. Originalmente se describió como un patrón alternativo por las características morfológicas e histológicas de los pólipos sésiles serrados que dan lugar a CCR en esta vía. Las mutaciones en BRAF, KRAS y CIMP son comunes en esta vía. En contraste con los pólipos adenomatosos, no tienen alteraciones genéticas en APC (16).

Estudios recientes han demostrado que el CCR es heterogéneo y puede ser dividido en varios subgrupos con diferentes pronósticos de acuerdo a anomalías genéticas, epigenéticas y patrones de expresión genética (13). Se ha propuesto un nuevo sistema de clasificación con tres subgrupos con características moleculares diferentes (6,7):

- 1) Tumores hipermutables (16% de los esporádicos), de los cuales la etiología principal es la inestabilidad microsatelital (MSI-H) y errores en el emparejamiento del ADN (MMR).
- 2) Tumores no-hipermutables (84% de los esporádicos), que se asocian más comúnmente a alteraciones somáticas en el número de copias, indicando que es más probable que éste grupo contenga cambios cromosómicos y subcromosómicos con múltiples alteraciones en el número y aneuploidía que contienen mutaciones activadoras de KRAS y de PIK3CA y la pérdida de los genes de supresión tumoral APC y TP53.
- 3) Vía del fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP): Aproximadamente 20% de los tumores. Se observa comúnmente en tumores MSI-H y en algunos no-hipermutados. Se definen por una metilación epigenética excesiva de loci que contienen islas CpG, las cuales típicamente se localizan en regiones genéticas promotoras o reguladoras a la alza. La metilación de estas regiones reguladoras abole la transcripción del gen afectado.

Cualquiera de estas mutaciones podría servir como potencial biomarcador pronóstico para CCR.

a) Tumores hipermutables

La inestabilidad microsatelital generalmente resulta de la inactivación del sistema de reparación de emparejamiento de ADN (MMR) a través de la hipermetilación (80% de los CCR MSI-H) o de mutación en los genes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 (20% de los CCR MSI-H) (16). La inestabilidad microsatelital se define por el consenso del NCI (National Cancer Institute) como >30% de marcadores microsatelitales demostrando una mutación con desplazamiento del marco de lectura (6).

El DNA MMR reconoce y dirige la reparación de los errores de emparejamiento después de la replicación del ADN, esto asegura la fidelidad del ADN replicado antes de la mitosis en dos células hijas idénticas (6). Los errores en el emparejamiento del ADN llevan a equivocaciones en la reparación de los errores generados por la ADN-polimerasa mientras se hace la copia de los loci microsatelitales, resultando en la inestabilidad microsatelital (13).

Los cánceres producidos por errores en el emparejamiento del ADN se caracterizan por la inserción o deleción de mutaciones en los microsatélites a lo largo del genoma, ocurren en 12% de los tumores esporádicos y en 3% de los tumores por síndrome de Lynch (2, 4). El significado clínico de el fenotipo MSI-H es para la identificación de pacientes con síndrome de Lynch. En estos casos, la mutación de BRAF es útil para diferenciar entre el cáncer colorrectal MSI-H esporádico y uno asociado a síndrome de Lynch, porque la mutación de BRAF está restringida casi exclusivamente a los casos esporádicos (2).

Los pacientes con CCR MSI-H esporádico clínicamente se localizan en el colon proximal, son de mayor edad, raramente tienen metástasis a otros órganos y tienen frecuencia aumentada de mutaciones en BRAF V600E e hipermetilación en MLH1; mientras que los pacientes con síndrome de Lynch normalmente son menores de 50 años y raramente tienen mutaciones en BRAF (2, 16).

Los pacientes con MSI-H tienen mejor pronóstico que los pacientes que tienen estabilidad microsatelital. El fenotipo MSI-H es útil para predecir la respuesta a quimioterapia, ya que no muestran beneficio con adyuvancia con 5-fluorouracilo, en contraste tienen mejor respuesta a la terapia con irinotecan. Esto ha provocado la discusión de la necesidad de hacer análisis moleculares e todos los pacientes con cáncer colorrectal a los que se les va a dar quimioterapia adyuvante (2).

Las combinaciones de los biomarcadores KRAS, BRAF y MMR con o sin CIMP pueden identificar los subtipos de CCR con distintos pronósticos (7).

KRAS

Pertenece a la familia de genes RAS (KRAS, NRAS, HRAS) que codifican para las proteínas que unen guanosina-5'-trifosfato (GTP). KRAS también puede activar PI3K por interacción directa con su subunidad catalítica. Alrededor del 32-40% de los CCR tienen una mutación de KRAS, estas mutaciones impiden la actividad de la GTPasa (15). Las mutaciones en KRAS se encuentran en aproximadamente 35% de los pacientes con MSS y 6-30% de los pacientes con MSI, con frecuencias de hasta 40% en pacientes con síndrome de Lynch (4).

En un estudio (9) que trató identificar los subtipos de cáncer colorrectal basados en las características clínico-patológicas se encontró que los cánceres colorrectales con mutación en KRAS se asociaban estadísticamente de manera significativa con género masculino (60.7% vs. 54%; $P=0.006$), subtipo adenocarcinoma clásico (90.6% vs. 86.1%; $P=0.005$), tumores bien o moderadamente diferenciados (93.4% vs. 83.5%; $P < 0.0001$), y fenotipo con estabilidad microsatelital (95.3% vs. 75.8%; $P < 0.0001$).

Las mutaciones en el codón 13 de KRAS comparadas con las mutaciones en el codón 12 fueron con más frecuencia pobremente diferenciadas (11.5% vs. 5.5%; $P=0.005$) y se localizaron en el colon proximal.

La mutación en el exón 3 de KRAS se asoció con el subtipo histológico mucinoso (17.3% vs. 9.5%; $P=0.002$) y se encontró una tendencia a estar asociado con localización en recto (33.3% vs. 21.1%; $P=0.009$). La mutación en NRAS estuvo presente en el 2.1% de los casos y no tuvo asociación con características clínico-patológicas.

Las mutaciones en el exon 2 de KRAS ocurren más comúnmente en pacientes mayores, con predominancia en hombres y generalmente se localizan en el colon proximal, comparados con los pacientes con KRAS wild-type. Se ha reportado una alta frecuencia de mutaciones en KRAS en el ciego.

Lièvre y colaboradores fueron los primeros en descubrir que las mutaciones en KRAS conferían falta de respuesta a la terapia con anticuerpos anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico (anti-EGFR), esto llevo a la primera implementación de la medicina personalizada en CCR (18), disminuyen la tasa de respuesta con monoterapia de 20-0% aproximadamente (2).

BRAF

BRAF es miembro de la familia de genes RAF (BRAF, ARAF1 y RAF1), y codifica para una proteína cinasa que es un efector en cascada del KRAS activado, Aproximadamente el 10 al 15% de los CCR tienen mutaciones en BRAF. Estas mutaciones se asocian con CIMP y con inestabilidad microsatelital (15).

La mutación activadora del oncogen BRAF es común en los casos de CCR esporádico MSI-H, ocurre en hasta el 40% de los tumores, a pesar de que este gen no contiene un microsatélite codificador. BRAF provoca una señalización incesante de la vía EGFR/RAS/RAF/MAPK que aumenta el tamaño de los adenomas y aumenta la proliferación celular (6).

La vía de señalización RAS-RAF-MEK-ERK está afectada tanto en los pacientes con estabilidad (MSS) como inestabilidad microsatelital. Las mutaciones de BRAF se encuentran en aproximadamente 7% de los pacientes con CCR MSS y en 40% de los pacientes con MSI, en los pacientes con MSI la mutación de BRAF se relaciona con enfermedad esporádica, ya que ocurre en <1% de pacientes con síndrome de Lynch. Las mutaciones BRAF y KRAS son mutuamente excluyentes (4).

En un estudio (9) que identificó las características clínico-patológicas de los pacientes con mutación de BRAF encontró que eran significativamente mayores que las pacientes con BRAF wild-type (74.7 vs. 68.2 años) y se asoció a género femenino (59.5% vs. 38.9%; $P < 0.0001$), se asociaron estadísticamente a localización próxima (68.2% vs. 31%; $P < 0.0001$), tipo mucinoso (24.5% vs. 7.4%; $P < 0.0001$), pobre diferenciación (31.6% vs. 7%; $P < 0.0001$) e inestabilidad microsatelital (57% vs. 6.2%; $P < 0.0001$).

En otro estudio (4) la mutación de BRAF se asoció con mayor edad ($p < 0.01$). No se encontró que las mutaciones de BRAF o KRAS correlacionaran con la etapa, el tipo histológico o el grado de diferenciación. Los pacientes con cualquiera de las dos mutaciones mostraron peor supervivencia comparado con los pacientes con tumor doble wild-type (dWT), con una supervivencia a 5 años de 76% (IC95%: 67-85%) contra 93% de los dWT y un HR 3.57 (IC95% 1.07-11.98, $p=0.04$).

En varios estudios se ha demostrado que los pacientes con CCR refractario a quimioterapia y mutaciones en BRAF no responden a cetuximab o panitumumab (15).

PI3K

Las PI3K son una familia de cinasas lipídicas agrupadas en tres clases con diferentes estructuras y preferencias de sustrato. La activación de la PI3K clase IA se inicia cuando el factor de crecimiento se une a RTK. Las mutaciones en PIK3CA pueden ocurrir al mismo tiempo que las mutaciones en KRAS o BRAF. Estas mutaciones se han asociado con una menor supervivencia libre de enfermedad en pacientes con CCR con KRAS-wild type estadio I-III (15).

PTEN

La vía de señalización iniciada por PI3K es inhibida por la fosfatasa y homólogo de tenista (PTEN, por sus siglas en inglés). La actividad de PTEN se puede perder a través de varios mecanismos, incluyendo mutaciones en PTEN, pérdidas de alelos en el cromosoma 10q23 o hipermetilación de la región promotora de PTEN, su papel en el CCR no es claro (15).

La mayoría de los CCR tienen estabilidad microsatelital (MSS), dentro de aquellos que no son MSI-H algunos tumores muestran inestabilidad en loci determinados con repeticiones tetra-nucleótidas que contienen (AAAG) o (AGAT), pero no en los loci con repeticiones mononucleótidas, este tipo de inestabilidad microsatelital se denomina alteraciones microsatelitales elevadas en repeticiones selectas de tetra-nucleótidos (EMAST, por sus siglas en inglés) (13).

Se realizó un estudio (13) en el que se encontró que la combinación de la presencia y/o ausencia de EMAST y de es un marcador potencial para el pronóstico en la etapa clínica II/III del CCR después de la recurrencia, se encontró que es un factor independiente para disminuir el periodo libre de enfermedad en CCR etapa clínica II, pero no en la III, puede que la presencia de EMAST se asocie a invasión a nódulos linfáticos, y los pacientes con EMAST positivo podrían ser considerados para quimioterapia adyuvante

b) Tumores no-hipermutables

No se conoce el mecanismo de la inestabilidad cromosómica, pero es la causa más común, afectando a aproximadamente 85% de los pacientes con CCR esporádico. La pérdida de APC y TP53 de los organoides intestinales parece ser suficiente para causar aneuploidía significativa, con la pérdida de SMAD4 y KRAS siendo mínimamente aditivos (6).

El gen APC es un supresor tumoral, que cuando es inactivado provoca que los niveles de β -catenina se eleven para aumentar la proliferación celular, se encuentra mutado en 81% de los CCR no-hipermutables. La activación oncogénica de KRAS sigue a la inactivación de APC durante la progresión tumoral. KRAS codifica una proteína que regula la respuesta del crecimiento en el núcleo. La mutación de la proteína KRAS activa esta respuesta de manera incesante, causando proliferación y crecimiento del tumor, la prevalencia de esta mutación es del 41% en los CCR no-hipermutables (6).

c) Vía del fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP)

En los seres humanos la metilación del ADN ocurre en residuos de citosina que preceden guainas, llamados dinucleótidos enlace C-fosfodiéster-G (CpG). Las islas CpG son regiones genéticas que contienen una gran cantidad de nucleótidos de citosina y guaina conectados por un enlace fosfodiéster, éstas islas son más frecuentes en las regiones reguladoras 5' de los genes (regiones promotoras) y están presentes en el 40-50% de los genes humanos, en células sanas normalmente no se encuentra metiladas (14, 16).

Una de las alteraciones epigenéticas en el CCR es la hipermetilación de las islas CpG en la región promotora de los genes supresores tumorales que puede inhibir la unión de los factores de transcripción y silenciar la expresión de estos genes (10).

Los tumores CIMP se describieron por primera vez en 1999 (19), en general estos son tumores hipermutados que tienen deficiencia en MMR, resultando en MSI-H. Los tumores positivos para CIMP tienen características clinicopatológicas únicas incluyendo la predilección por localización proximal (comúnmente en la flexura esplénica), sexo femenino, son tumores de alto grado con histología mucinosa y tienen mutaciones en KRAS y BRAF (6, 7, 14, 16).

El rol de CIMP sigue siendo debatido y contradictorio en muchas publicaciones. Se ha encontrado que el factor molecular pronóstico de recurrencia en estadio clínico II y III de CCR es el estatus de MSI (14).

Se realizó un estudio en Alemania en 2016 (10) donde no se encontró asociación significativa entre el estatus de CIMP y el pronóstico para CCR. Sin embargo, se encontró que se asociaba con las siguientes características: edad mayor, género femenino, localización próxima, MSI-H y mutaciones en BRAF, pero no se encontró asociación con la supervivencia global ni con el supervivencia específica de la enfermedad. Independientemente, se encontró que MSI-H estaba asociado con mayor sobrevida, mientras que la mutación en BRAF confiere un peor pronóstico.

El diagnóstico del cáncer colorrectal se hace histológicamente mediante biopsias que se toman durante la colonoscopia. La localización de metástasis más común es el hígado, pero también se recomienda buscar metástasis a pulmón (2).

El cáncer colorrectal se clasifica de acuerdo a la profundidad de la invasión local (T), el involucro de ganglios linfáticos (N) y la presencia de metástasis (M).

Tabla 1. Clasificación del carcinoma colorrectal de acuerdo a TNM.	
Etapa T	Definición
Tx	No hay información de la infiltración local del tumor.
Tis	Tumor restringido a la mucosa, no hay infiltración a la muscularis mucosae
T1	Infiltración a través de la muscularis mucosae hacia la submucosa, no hay infiltración de la muscularis propia.
T2	Infiltración a la muscularis propia.
T3	Infiltración a la subserosa o al tejido pericólico o perirrectal sin peritoneo, o ambas; no hay infiltración a la serosa o a órganos vecinos.
T4a	Infiltración a la serosa.
T4b	Infiltración a tejidos u órganos vecinos.
Etapa N	
Nx	No hay información del compromiso de los ganglios linfáticos.
N0	No hay compromiso de los ganglios linfáticos.
N1a	Células cancerígenas detectadas en 1 ganglio linfático regional.
N1b	Células cancerígenas detectadas en 2-3 ganglios linfáticos regionales.
N1c	Tumores satelitales en la subserosa o en el tejido graso peri-cólico o perirrectal, no hay compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
N2a	Células cancerígenas detectadas en 4-6 ganglios linfáticos regionales.
N2b	Células cancerígenas detectadas en > 7 ganglios linfáticos regionales.

Etapa M	
Mx	No hay información disponible de metástasis distales.
M0	No hay metástasis distales detectables.
M1a	Metástasis a un órgano distante o a ganglios linfáticos distantes.
M1b	Metástasis a más de un órgano o set de ganglios linfáticos o metástasis peritoneal.
Brenner H, Kloor M, Pax CP; Colorectal Cancer <i>Lancet</i> 2014;383:1490-1502.	

Estas etapas se toman en cuenta para poder hacer una clasificación por etapa clínica, que es la base para las decisiones terapéuticas. La etapa clínica al diagnóstico es el factor pronóstico más importante (2).

Tabla 2. Clasificación del cáncer colorrectal de acuerdo a su etapa clínica.

Etapa Clínica	T	N	M
Etapa 0	Tis	N0	M0
Etapa I	T1/T2	N0	M0
Etapa II	T3/T4	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
Etapa III	Cualquiera	N+	M0
IIIA	T1-T2 T1	N1 N2a	M0
IIIB	T3-T4a T2-T3 T1-T2	N1 N2a N2b	M0
IIIC	T4a T3-T4a T4b	N2a N2b N1-N2	M0
Etapa IV	Cualquiera	Cualquiera	M+
IVA	Cualquiera	Cualquiera	M1a
IVB	Cualquiera	Cualquiera	M1b
Brenner H, Kloor M, Pax CP; Colorectal Cancer <i>Lancet</i> 2014;383:1490-1502.			

Actualmente el método más exacto para evaluar el pronóstico de un paciente con CCR requiere la estadificación patológica del tumor y la valoración de características histológicas específicas del tumor. Algunos estudios clínicos han demostrado que es posible utilizar firmas específicas de ADN metilado para desarrollar biomarcadores pronósticos en pacientes con CCR. Entre los candidatos se encuentra el estatus de CIMP, que se correlaciona con un pronóstico poco favorable, pero se requiere más investigación (16).

Bajo los sistemas convencionales el cáncer colorrectal se estatifica de acuerdo al grado de diferenciación glandular, si tienen >50% de glándulas formadas se considera de bajo grado, si tienen <50% de formación de glándulas se considera de alto grado. Las guías de 2010 de la OMS recomiendan que los carcinomas mucinosos colorrectales se estatifiquen de acuerdo a la inestabilidad microsatelital o errores en el emparejamiento del ADN, los CCR MSI/MMRd se consideran bajo grado y los carcinomas MSS/MMRp se consideran de alto grado (12).

En un estudio en Australia entre 1998 y 2011 (12) se reunió una cohorte de pacientes con diagnóstico CCR a los que se comparó la supervivencia a largo plazo de pacientes con carcinomas MSI/MMRd comparado con pacientes con carcinomas MSS/MMRp, se encontró que los pacientes con CCR mucinoso MMRd eran de mayor edad, del género femenino y los tumores generalmente se localiza en la parte proximal del colon (ciego y colon ascendente).

La supervivencia a 5 años fue similar en los pacientes con carcinoma mucinoso MMRd comparada con los pacientes con cáncer de bajo grado no mucinoso (73 vs 67%, $P=0.367$), y mejor de manera estadísticamente significativa que la de los pacientes con carcinoma no mucinoso de alto grado (73 vs 53%, $P<0.001$) y que los pacientes con carcinoma mucinoso MMRp (73 vs 57%, $P=0.023$). Por lo tanto, éste estudio provee fuerte evidencia para apoyar la premisa de las guías de la OMS 2010 de evaluar el estatus de inestabilidad microsatelital o errores en el emparejamiento del ADN como herramienta para el pronóstico de estos pacientes.

La recurrencia metastásica es la causa principal de muerte en los pacientes con cáncer de colon. La estratificación convencional es insuficiente para predecir adecuadamente las metástasis o la recurrencia del CCR. Los mecanismos biológicos que derivan en un mal pronóstico clínico no están entendidos por completo, por lo que es necesario desarrollar factores pronósticos y nuevos blancos terapéuticos para el tratamiento y prevención de CCR (11).

El Exo70 es un componente crítico en el complejo Exocyst, este complejo es esencial para la exocitosis porque se encarga de la unión de vesículas secretoras a un dominio específico de la membrana plasmática. El Exo70 juega un papel clave en la migración, formación de invadopodia e invasión.

En un estudio (11) se encontró una expresión más elevada de Exon70 en metástasis distantes ($P=0.015$) y en etapa clínica avanzada ($P=0.025$). Además, se asocian a un tamaño tumoral más grande ($P=0.42$) y mayor invasión ($P=0.04$). Además, se encontró que la sobreexpresión de Exo70 se correlaciona con una disminución de la supervivencia global, esto se podría traducir en una recomendación de iniciar radioterapia y quimioterapia agresiva para reducir la malignidad del tumor y las metástasis en pacientes con altos niveles de Exo70, por esto se podría utilizar el Exo70 como un marcador pronóstico.

En cuanto al tratamiento, se recomienda que las personas en etapa clínica I no reciban ningún tratamiento además de la cirugía porque la tasa de recurrencia es muy baja (3%). El tratamiento para los pacientes etapa II es controvertido ya que este grupo de pacientes tienen una supervivencia global a los 5 años de 80%, pero se recomienda terapia adyuvante en pacientes con factores de riesgo (2, 17). Los pacientes con CCR etapa II con dMMR/MSI-H tienen un excelente pronóstico y no se benefician de la quimioterapia con 5-fluorouracilo (7).

Los pacientes con etapa III se benefician de terapia adyuvante. A los pacientes etapa IV con metástasis hepáticas o pulmonares resecables se les debe realizar cirugía, si son irresecables, se les debe ofrecer quimioterapia paliativa (2).

El pronóstico de los pacientes con CCR es extremadamente malo por las metástasis y la recurrencia local, por lo tanto, nuevos tratamientos terapéuticos y factores pronósticos se requieren para mejorar el pronóstico de estos pacientes(11).

Actualmente existen terapias blanco con los anticuerpos monoclonales contra EGFR (cetuximab y panitumumab) y los anticuerpos monoclonales contra el factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGF-A), como el bevacizumab, que es primera o segunda línea de tratamiento en CCR metastásico. Aproximadamente el 80% de los cánceres colorrectales sobre-expresan EGFR, que se correlación con disminución de la supervivencia y aumento en el riesgo de metástasis (3,8).

El uso terapéutico de los anticuerpos monoclonales anti-EGFR está aprobado para el CCR metastásico, sin embargo, se reconoce que las mutaciones en el exon 2 de KRAS y NRAS son un factor predictivo para que no exista beneficio clínico con este tratamiento(7, 8).

Aproximadamente el 45% de los CCR están asociados a mutaciones activadoras del gen KRAS. Las mutaciones se localizan generalmente en los codones 12 (30%) y 13 (8%) del exon 2. Estas mutaciones somáticas resultan en la activación constitutiva la vía de EGFR y, por lo tanto, confiere una resistencia a la terapia anti-EGFR. Recientemente se ha reportado que otras mutaciones en los genes KRAS (exones 3 y 4) y NRAS (exones 2,3 y 4) se asocian con resistencia a los anticuerpos anti-EGFR (9).

En un estudio (8) se seleccionaron varias moléculas como candidatos para resistencia a anticuerpos anti-EGFR que puedan ser utilizados en pacientes con RAS wild-type. Se encontró que altos valores de ARNm de ERBB2, MET y VEGFA estaban asociados con una peor supervivencia general comparada de los pacientes con niveles bajos de estos genes. Esto indica que la posibilidad de que la expresión de estos genes esté asociada a una resistencia inherente o adquirida al tratamiento con anticuerpos anti-EGFR.

Se ha reportado previamente que la pérdida de la expresión de PTEN es un factor pronóstico negativo para respuesta al tratamiento con anticuerpos anti-EGFR en pacientes con CCR metastásico (8). Una mutación en la subunidad catalítica alfa de fosfoinositida 3-cinasa (PIK3CA) que es parte de la vía de señalización de EGFR y puede conferir resistencia a estas terapias. Los pacientes con tumores positivos a KRAS y BRAF tienen peor pronóstico (7).

Se ha encontrado en investigación preclínica que la amplificación de HER2 se observa específicamente en una subpoblación de pacientes con tumores resistentes a cetuximab y que tienen tumores cuádruples negativo (KRAS/NRAS/BRAF/PIK3CA wild-type), además se descubrió que la combinación de inhibidores de HER2 y EGFR induce una regresión tumoral de larga duración (8).

Existe evidencia de que los pacientes con CCR MSI-H no responden a la quimioterapia con 5-fluorouracilo, a diferencia de los pacientes con tumores no-hipermutables esto es debido a la falta de función de MMR ADN para reconocer y ejecutar una respuesta citotóxica normal al 5-fluorouracilo que se incorpora en el ADN. Los CCR MSI-H tienen una propensión a presentarse en el colon próximal a la flexora esplénica, donde se encuentran el >70% (6).

En un estudio (17) se demostró que los componentes de la vía PI3K/Akt son marcadores pronóstico en CCR estadio clínico II, se asocia con un aumento en el crecimiento de las células, de la migración y de la invasión de las líneas celulares del cáncer colorrectal. La muestra era muy pequeña y el estudio no es estadísticamente significativo. Los pacientes en alto riesgo con estas mutaciones se beneficiarían con quimioterapia adyuvante.

No existen marcadores predictivos o pronósticos establecidos además de RAS y BRAF con respecto al tratamiento en CCR metastásico. Se han realizado análisis de biomarcadores en relación con la respuesta de los anticuerpos anti-EGFR en CCR metastásico además de las mutaciones de RAS, en algunos reportes la expresión alta de epiregulina (EREG) y amfiregulina (AREG) en tejidos tumores se asoció con un mejor resultado después del tratamiento con cetuximab en pacientes con CCR metastásico (8).

A pesar de que ha habido avances en el desarrollo de terapias oncológicas, la generación actual de quimioterapias son subóptimas por su eficacia modesta y la resistencia intrínseca o adquirida (16).

Los biomarcadores pronósticos son útiles para identificar a pacientes con cáncer que están en alto riesgo recaída metastásica y, por lo tanto, candidatos potenciales para quimioterapia adyuvante. En contraste, los biomarcadores predictivos se definen como marcadores que les pueden utilizar para identificar subgrupos de pacientes que sea más probable que respondan a una terapia (7).

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El cáncer colorrectal es el cuarto cáncer más frecuente en México y es responsable de 700 000 muertes al año (1). Representa el tercer cáncer más común y la cuarta causa de muerte por cáncer en el mundo, existen aproximadamente 1.2 millones de casos nuevos y es causa 600 000 muertes al año globalmente. La edad media de diagnóstico en países desarrollados es de 70 años (2).

La mortalidad relacionada con cáncer ha incrementado en casi 40% en los últimos 40 años y se espera que incremente un 60% más en los próximos 15 años, se estima que fallezcan 13 millones de personas por cáncer en 2030. A pesar de los avances quirúrgicos y de la terapia médica, los índices de curación y de supervivencia han cambiado muy poco en las últimas siete décadas (3).

El CCR se origina como consecuencia de las alteraciones genéticas y epigenéticas (7). Las vías moleculares que se observan en el CCR esporádico describen diferentes tipos histopatológicos y moleculares, y puede predecir el pronóstico y la supervivencia del paciente (6). Los nuevos sistemas de clasificación que se basan en perfiles de mutación complejos de patrones de expresión genética son métodos prometedores para la identificación de pacientes que pueden responder a ciertos regímenes de quimioterapia (2). La identificación de subtipos de CCR que ligan características moleculares a los resultados clínicos pueden guiar la estratificación y dar información para un diseño racional de medicamentos dirigidos a una vía específica (7).

La terapia personalizada para CCR ha visto muchos avances en la enfermedad metastásica (etapa IV) donde los anticuerpos monoclonales que se dirigen al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) han mejorado significativamente la supervivencia, pero aún no existe papel para la terapia dirigida en enfermedad no metastásica (7). Por esto, es importante continuar probando y desarrollando biomarcadores con aplicación clínica que permitan el desarrollo de terapias dirigidas a los hallazgos moleculares y que den información sobre el pronóstico y permitan una mejor estadificación.

JUSTIFICACIÓN

El cáncer colorrectal surge a partir de modificaciones genéticas y epigenéticas que regulan la proliferación, apoptosis y angiogénesis (5). Los CCR esporádicos se pueden agrupar en dos categorías: hipermutados, aproximadamente el 16% de los esporádicos y no-hipermutados, aproximadamente el 84% de los esporádicos (6).

Se sabe que los pacientes con tumores con inestabilidad microsatelital (MSI-H) tienen mejor pronóstico que los pacientes que tienen tumores con estabilidad microsatelital. El fenotipo MSI-H es útil para predecir la respuesta a quimioterapia, ya que no muestran beneficio con adyuvancia con 5-fluorouracilo, pero tienen mejor respuesta a la terapia con irinotecan (2). Las mutaciones en BRAF confieren un peor pronóstico y las mutaciones en KRAS predicen resistencia a los anticuerpos anti-EGFR (cetuximab y panitumab) en enfermedad avanzada (5), disminuyendo la tasa de respuesta con monoterapia de 20-0% aproximadamente (2,5).

Esto ha despertado la necesidad de hacer análisis moleculares en todos los pacientes con cáncer colorrectal a los que se les administrará quimioterapia adyuvante (2). La clasificación molecular del CCR esporádico demuestra un uso que se le puede dar al conocimiento sobre las vías moleculares como biomarcadores predictivos para los pacientes. La presencia de MSI-H en el tumor primario ha sido la más útil y es utilizada comúnmente (6).

Existe la necesidad de identificar biomarcadores predictivos adicionales para mejorar los resultados terapéuticos. A pesar de los avances en el perfil molecular del CCR, no se ha tenido progreso en

identificar marcadores predictivos más allá de gen RAS (7). Realizar un perfil mutacional más completo permite mejorar el entendimiento de la situación clínica del paciente y tiene una repercusión directa en la opciones de tratamiento que se pueden ofrecer y esto puede tener un beneficio en el pronóstico.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia en los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal, separados por etapas clínicas, diagnosticados de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México con perfil de mutaciones, comparados con aquellos a los que no se les realizó dicho perfil, respecto a la supervivencia global, el periodo de libre de enfermedad y el periodo libre de progresión hasta junio 2018?

HIPÓTESIS

Hipótesis Nula

No existe diferencia en la supervivencia global, el periodo libre de enfermedad y el periodo libre de progresión hasta diciembre de 2017 de los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal a los que se realizó perfil de mutaciones comparados con los pacientes a los que no se les realizó dicho perfil en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México.

Hipótesis Alterna

Existe diferencia en la supervivencia global, el periodo libre de enfermedad y el periodo libre de progresión hasta diciembre de 2017 de los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal a los que se realizó perfil de mutaciones comparados con los pacientes a los que no se les realizó dicho perfil en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México.

OBJETIVOS

Objetivo Primario

Describir y comparar las diferencias que existen en la supervivencia global, periodo libre de enfermedad y periodo libre de progresión hasta junio de 2018 en de los pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México, con respecto a si tienen o no perfil de mutaciones.

Objetivos Secundarios

- Describir que tipo de tratamiento recibieron los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal del Hospital Español de México en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017.
- Describir la prevalencia de mutaciones en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal del Hospital Español de México en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017.
- Justificar la realización de un perfil de mutaciones en todos los pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal para dirigir las opciones de tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Tipo de estudio

Retrospectivo, observacional, longitudinal, retrolectivo y analítico.

b) Población

Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de cáncer colorrectal que hayan sido diagnosticados mediante estudio histopatológico en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México.

c) Diseño del estudio

Los expedientes clínicos se revisaron en un proceso de tres etapas. En la etapa inicial se revisó la base de datos del Hospital Español para pacientes ingresados a hospitalización en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 para un seguimiento mínimo de 6 meses y se obtuvo el número de expediente de los pacientes que contasen con un diagnóstico en la nota de egreso de “cáncer colorrectal” o “cáncer de recto”.

Los expedientes recopilados pasaron a una segunda etapa en donde se buscó la confirmación del diagnóstico por medio de estudio histopatológico con reporte de cáncer colorrectal.

Teniendo el diagnóstico confirmatorio, se revisaron los expedientes de forma detallada en una tercera etapa para obtener las siguientes variables: sexo, lugar de nacimiento, edad al diagnóstico, edad al fallecimiento, tabaquismo, consumo de alcohol, diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2, diagnóstico de otras comorbilidades, índice de masa corporal calculado, consumo de aspirina, historia de enfermedad inflamatoria intestinal, historia de pólipos en colon, familiar de primer grado con diagnóstico de cáncer colorrectal, reporte histopatológico con diagnóstico de cáncer colorrectal, etapa clínica al diagnóstico, localización del tumor, sitio de metástasis, periodo libre de enfermedad/progresión, perfil mutacional, tratamiento con quimioterapia, tratamiento quirúrgico, supervivencia global, causa de muerte. Los datos de cada paciente se obtienen a través del expediente clínico de internamientos previos en el hospital. La localización, estirpe del tumor y perfil de mutaciones se definirán por medio del reporte de estudios de imagen, hoja quirúrgica o resultado de histopatología.

Con los datos obtenidos se compararán las poblaciones que tengan un perfil de mutaciones conformado por los siguientes genes: KRAS, NRAS, BRAF y MSI.

La información obtenida se recopiló de forma electrónica en una hoja de recolección (Anexo 1) y posteriormente se agregó a una base de datos electrónica de Numbers. Se hizo registro electrónico de todos los expedientes que cumplieron con los criterios de la primera etapa de revisión, pero únicamente se llenaron los formatos de aquellos que tuviesen todos los criterios de inclusión mencionados.

El valor pronóstico de la realización del perfil mutaciones se medirá tomando en cuenta los siguientes criterios:

1. Supervivencia global: periodo de tiempo en meses desde el diagnóstico histopatológico de cáncer de colon y/o recto hasta que muere a causa del cáncer de colon y/o recto o por otra causa.
2. Periodo libre de enfermedad: corresponde al periodo de tiempo en meses, en etapas I, II y III de cáncer de colon y/o recto, que se mantienen sin evidencia clínica o radiológica de recurrencia de enfermedad, tomando en cuenta el inicio de este periodo después de un tratamiento quirúrgico o el fin del tratamiento de quimioterapia adyuvante.
3. Periodo libre de progresión: corresponde al periodo de tiempo en meses, en etapas IV de cáncer de colon y/o recto, que se mantienen sin evidencia clínica o radiológica de progresión de enfermedad, tomando en cuenta el inicio de este periodo al comenzar un tratamiento de quimioterapia hasta que se documenta la progresión de enfermedad.

d) Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de cáncer colorrectal que cuenten con confirmación histopatológica.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal realizado en otra institución que no tengan confirmación histopatológica.
- Pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal que hayan recibido tratamiento quirúrgico, quimioterapia o radiación en otra institución.
- Pacientes que recibieron un agente de quimioterapia o inmunológico por otro padecimiento oncológico.

Criterios de eliminación:

- Pacientes con expedientes clínicos incompletos

e) Tamaño de la muestra

No se realizó cálculo de casos mínimos necesarios para el estudio. Se incluyeron los casos que cumplieron con los criterios de inclusión en el periodo establecido.

f) Legislación

El protocolo fue sometido al Comité de Ética y al Comité de Ética en Investigación del Hospital Español de México, toda la investigación realizada se apegó al uso y manejo de expediente clínico adecuado establecido y aprobado por dicho Comité.

La confidencialidad de los datos recabados de los expedientes médicos fueron cuidados en todo momento, evitando su conocimiento por parte de cualquier persona no autorizada expresamente para recabar y analizar los datos.

g) Técnicas de instrumentación y recolección

Variables

Tabla 3. Variables, definiciones conceptuales y operacionales.			
Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de medición
Sexo	Condición orgánica masculina o femenina de los seres humanos.	Femenino o Masculino.	Binominal.
Lugar de nacimiento	Lugar de nacimiento registrado en el acta de nacimiento.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Edad al diagnóstico	Cantidad de años vividos hasta el diagnóstico.	Calculado a partir de la fecha de nacimiento hasta la fecha del diagnóstico.	Cuantitativa discreta.
Edad al fallecimiento	Cantidad de años vividos hasta el fallecimiento.	Calculado a partir de la fecha de nacimiento hasta la fecha de fallecimiento.	Cuantitativa discreta.

Tabaquismo	Consumo de tabaco.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Consumo de alcohol	Consumo de bebidas que contengan alcohol.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Diabetes Mellitus tipo 2	Que cumpla criterios para diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa binominal.
Enfermedades crónicas co-existentes.	Enfermedades de larga duración y progresión lenta.	Historia de: Hipertensión arterial sistémica, cardiopatías, neumopatías y nefropatías.	Cualitativa nominal.
Índice de Masa Corporal calculado (IMC)	Índice sobre la relación del peso y la altura utilizado para clasificar.	Calculado a partir de la siguiente fórmula: peso en kg/ (altura en metros) ²	Cualitativa nominal.
Consumo de aspirina	Consumo diario de ácido acetil-salicílico.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa binominal.
Historia de Enfermedad Inflamatoria Intestinal	Familiar en primer grado que cuente con diagnóstico de Enfermedad Inflamatoria Intestinal.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Historia de pólipos en colon	Historia de colonoscopia que reporte pólipos en colon.	Obtenido del reporte de colonos copia del expediente clínico.	Cualitativa binominal.
Familiar en primer grado con diagnóstico de cáncer colorrectal	Familiar en primer grado que cuente con diagnóstico de cáncer colorrectal.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa binominal.
Reporte histopatológico de cáncer colorrectal	Reporte histopatológico que cumpla con criterios para diagnóstico de cáncer colorrectal.	Obtenido del reporte de histopatología del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Etapa clínica al diagnóstico	Etapa clínica según los definido por las guías para Cáncer de Colon de la NCCN de 2017.	Obtenido del reporte de estudios de imagen, reporte quirúrgico o estudio histopatológico.	Cualitativa nominal.
Localización del tumor	Sitio de origen primario del tumor.	Obtenido del reporte de estudios de imagen, reporte quirúrgico o estudio histopatológico.	Cualitativa nominal.

Sitio de metástasis	Sitios de metástasis del tumor primario.	Obtenido del reporte de estudios de imagen, reporte quirúrgico o estudio histopatológico.	Cualitativa nominal.
Supervivencia global	Periodo de tiempo en meses desde el diagnóstico histopatológico de cáncer de colon y/o recto hasta que muere a causa del cáncer de colon y/o recto o por otra causa.	Calculado a partir de la fecha del tratamiento hasta la fecha de fallecimiento.	Cualitativa nominal.
Periodo libre de enfermedad	Medida de tiempo transcurrido desde la desaparición de la evidencia clínica, radiológica y analítica de la enfermedad tumoral, hasta la recurrencia de la misma.	Calculado a partir del periodo de tiempo después de que se administra el tratamiento primario que el paciente sobrevive sin signos ni síntomas de cáncer.	Cualitativa nominal.
Periodo libre de preogresión	Corresponde al periodo de tiempo en meses, en etapas IV de cáncer de colon y/o recto, que se mantienen sin evidencia clínica o radiológica de progresión de enfermedad, tomando en cuenta el inicio de este periodo al comenzar un tratamiento de quimioterapia hasta que se documenta la progresión de enfermedad.	Calculado a partir del periodo de tiempo durante y después del tratamiento de la enfermedad que vive el paciente con la enfermedad pero no empeora.	Cualitativa nominal.
Perfil de mutaciones	Perfil realizado con técnicas moleculares para obtener mecanismos moleculares mutados o sobreexpresados en tejidos tumorales.	Obtenido a partir del reporte de histopatología del expediente clínico. Mutaciones en: KRAS, NRAS, BRAF, p53, MSI positivo o negativo.	Cualitativa nominal.
Tratamiento con quimioterapia	Tratamiento sistémico con diferentes sustancias químicas para tratamiento de cáncer.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.

Tipo de quimioterapia	Tratamiento sistémico con diferentes sustancias químicas para tratamiento de cáncer.	Obtenido del expediente clínico.	Cualitativa nominal.
Tratamiento quirúrgico	Resección total o parcial del tumor de manera quirúrgica.	Obtenida del expediente clínico.	Cualitativa binominal.
Causa de muerte	Causa del fallecimiento del paciente.	Obtenido a partir de la causa anotada en el certificado de defunción.	Cualitativa nominal.

Instrumento de recolección

Hoja de recolección (Anexo 1).

COSTOS

Las herramientas necesarias para la investigación no generaron un costo directo.

ESTRATEGIA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas se expresaron como, medias y medianas, las variables categóricas como proporciones. Las comparaciones inferenciales se llevarán a cabo por medio de la prueba de T de Student o la prueba U de Mann-Whitney. Se utilizará la prueba de χ^2 o la prueba exacta de Fisher para evaluar la significancia entre las variables categóricas, se determinará significancia estadística con valor de $p < 0.05$ con una prueba de dos colas e intervalos de confianza al 95%. Para evaluar las diferencias en los periodos de supervivencia global, periodo libre de enfermedad y periodo libre de progresión se utilizó el test de log-rank y los resultados se presentan en curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS versión 20.0 (IBM software, Armonk, NY, EUA).

RESULTADOS

Se revisaron 148 expedientes que contaban con diagnóstico de “cáncer colorrectal” o “cáncer rectal” realizado en el periodo de enero de 2010 a diciembre de 2017 en el Hospital Español de México (Figura 1); de los cuales 115 tuvieron confirmación del diagnóstico mediante resultado de histopatología realizado por el Departamento de Patología de la misma institución.

Se dividió a los pacientes en dos grupos: 1) 65 Pacientes a los que no se les realizó Perfil Mutacional para Cáncer Colorrectal (PMCCR, 56.5%) y 2) 50 pacientes a los que se les realizó PMCCR, el cual consistía en haberse realizado una o más de las siguientes mutaciones: KRAS, NRAS, BRAF, p53 o MSI-H. Se realizó un seguimiento mínimo de 6 meses hasta junio de 2018.

Durante la revisión de expedientes 13 (20%) del grupo sin PMCCR y 20 (40%) del grupo con PMCCR no cumplieron con el seguimiento mínimo de 6 meses, por lo tanto no pudieron ser analizados para el objetivo primarios. Los pacientes que se perdieron en seguimiento se les realizó cirugía y diagnóstico en la institución pero no continuaron seguimiento y/o tratamiento con quimioterapia en la institución. Algunos de estos pacientes eran extranjeros que probablemente regresaron a su país para continuar tratamiento, o nacionales que por razones personales y/o económicas decidieron continuar el tratamiento y/o seguimiento en otra institución.

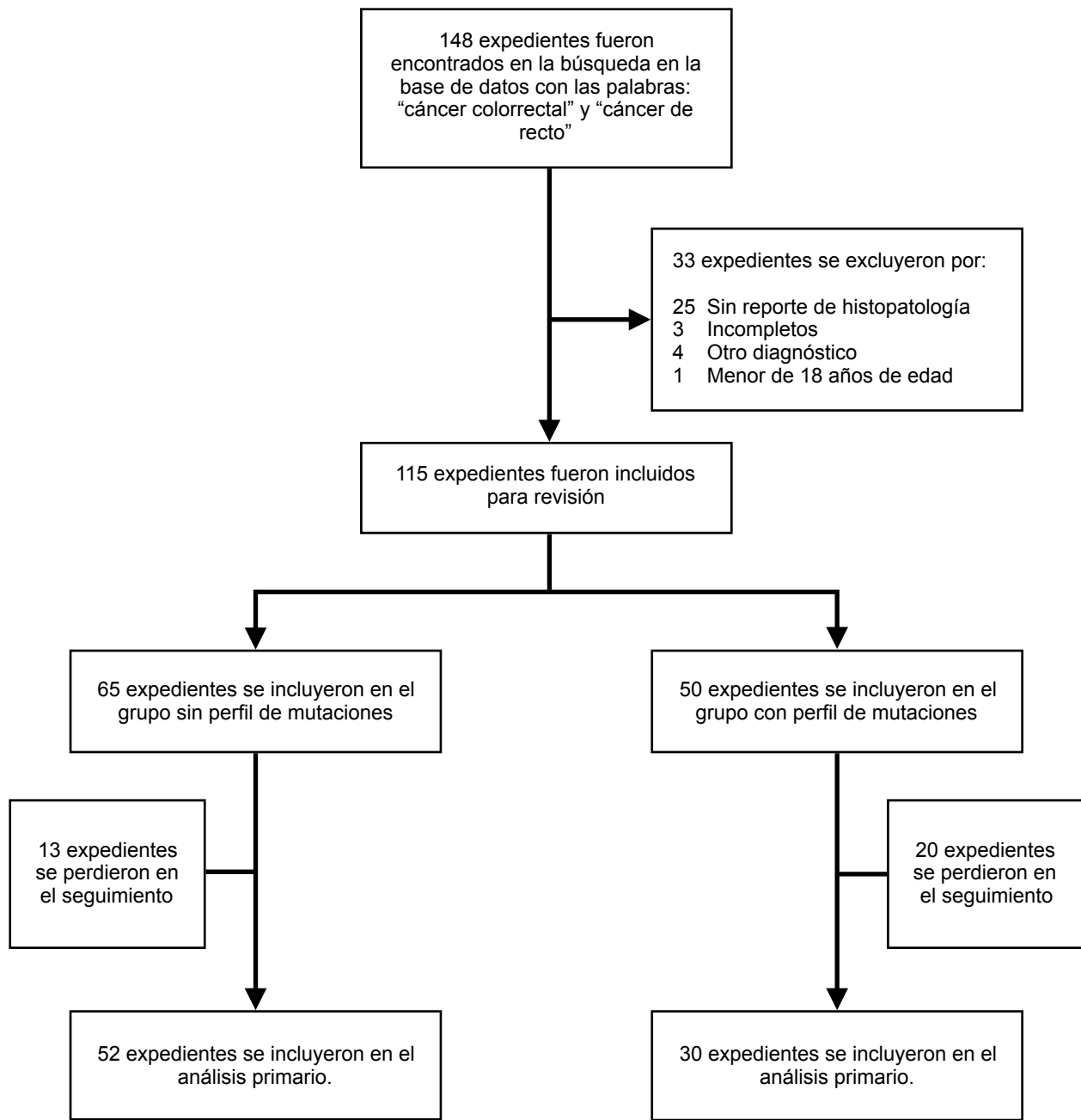


Figura 1. Diagrama de flujo de búsqueda, selección y seguimiento de pacientes.

Existieron varias diferencias estadísticamente significativas en las características basales entre ambas poblaciones (Tabla 4). La media de edad al diagnóstico (\pm DE) fue de 71.2 ± 12.1 en el grupo sin PMCCR vs. 60.2 ± 14 en el grupo con PMCCR ($p < 0.001$), siendo significativamente menor en el grupo con PMCCR.

También existió diferencia en la proporción de pacientes nacido en México (70.7% vs. 90%, $p=0.010$) en el grupo sin PMCCR vs. el grupo con PMCCR, respectivamente. Dentro del grupo sin PMCCR el 24.6% de los pacientes eran migrantes de España, el resto de los pacientes de ambos grupos eran migrantes de los siguientes países: Francia (2), Argentina (1), Chile (1), Cuba (1), E.E.U.U. (1) y Perú (1).

Tabla 4. Características basales de la población de estudio.

Variable	Grupo sin perfil de mutaciones (n= 65)	Grupo con perfil de mutaciones (n= 50)	Valor de p
Sexo masculino (%)	38 (58.4)	25 (50)	0.366
Edad al diagnóstico	71.2 ±12.1	60.2 ±14	< 0.001
Nacidos en México (%)	46 (70.7)	45 (90)	0.010
Tabaquismo (%)			
Fumador	6 (9.2)	10 (20)	0.195
Ex-fumadro	25 (38.5)	14 (28)	
Nunca	34 (52.3)	26 (52)	
Consumo de alcohol (%)			
Abstemio	42 (64.6)	34 (68)	0.450
Social	23 (35.4)	15 (30)	
Alcoholismo	0	1 (2)	
Comorbilidades (%)			
DM tipo 2	11 (16.9)	8 (16)	0.895
HAS	29 (44.6)	13 (26)	0.051
Neumopatía	2 (3.1)	0	0.504
Cardiopatía	12 (18.5)	2 (4)	0.022
Nefropatía	0	1 (2)	0.435
Otras	3 (4.6)	0	0.256
IMC (%)			
Normal	30 (46.2)	26 (52)	0.437
Sobrepeso	28 (43.1)	16 (32)	
Obesidad grado I	5 (7.7)	4 (8)	
Obesidad grado II	2 (3.1)	2 (4)	
Obesidad grado III	0	2 (4)	
Consumo de aspirina (%)	19 (29.2)	4 (8)	0.005
Enfermedad Inflamatoria Intestinal (%)	1 (1.5)	0	1
Antecedente de pólipos (%)	10 (15.4)	11 (22)	0.466

Familiar en primer grado con diagnóstico de cáncer colorrectal (%)	10 (15.4)	3 (6)	0.144
Reporte de histopatología (%)			
Adenocarcinoma	63 (96.9)	50 (100)	0.457
Adenoescamoso	1 (1.5)	0	
Escamoso	1 (1.5)	0	
Etapa clínica al diagnóstico (%)			
Etapa I	16 (24.6)	7 (14)	0.009
Etapa II	16 (24.6)	16 (32)	
Etapa III	24 (36.9)	9 (18)	
Etapa IV	9 (13.8)	18 (36)	
Sitio del tumor (%)			
Proximal	22 (33.8)	12 (24)	0.488
Transverso	2 (3.1)	4 (8)	
Distal	29 (44.6)	23 (46)	
Recto	12 (18.5)	11 (22)	
Sitio de metástasis (%)			
Pulmonar	0	1 (2)	0.005
Hepática	2 (3.2)	11 (22)	
Otras	7 (10.8)	7 (14)	
Ninguna	56 (82.6)	31 (62)	
Tratamiento quirúrgico (%)	61 (93.8)	46 (92)	0.726
Edad al fallecimiento	72.6 ±13.6	68.5 ±7.36	0.503
Las frecuencias se expresan en porcentajes n (%). Los valores de tendencia central se expresan media ±DE.			

La única comorbilidad en la que hubo diferencia estadísticamente significativa fue en antecedente de cardiopatía (grupo sin PMCCR 18.5% vs. grupo con PMCCR 4%, $p=0.022$), así mismo, se encontró diferencia significativa en el consumo de aspirina (29.2% vs. 4%, $p=0.005$), respectivamente.

En cuanto a la etapa clínica al diagnóstico, se encontró que los pacientes a los que sí se les realizó PMCCR se diagnosticaron en etapas clínicas más avanzadas, etapa clínica III (36.9% vs. 18%), etapa clínica IV (13.8% vs. 36%, $p=0.009$). En el grupo sin PMCCR el sitio más común de metástasis fue "otro" (10.8%), en su mayoría peritoneo y ovario; mientras que en el grupo con PMCCR el sitio más común fue hígado (22%), igualmente hubo diferencia entre la proporción de pacientes en el grupo sin PMCCR y en el grupo con PMCCR sin metástasis (82.6% vs. 31%, $p=0.005$, respectivamente).

El tratamiento proporcionado a cada sujeto se atuvo a discreción de su médico tratante y de los deseos particulares de cada sujeto (Figura 2). En la mayoría de los casos las quimioterapias adyuvantes fueron administradas durante un periodo de 6 meses, posterior al cual se valoró respuesta al tratamiento y se inició el periodo libre de enfermedad o se documentó recaída. En los sujetos con cáncer de recto, en todos los casos que se administró quimioterapia neoadyuvante se realizó con Capecitabina durante 3 meses, cuando se administró posteriormente quimioterapia para adyuvancia, ésta no fue registrada.

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en los tipos de tratamiento con quimioterapia que se administraron en los dos grupos, particularmente en las proporciones de pacientes que no recibieron quimioterapia (48.1% vs. 27%) y en los pacientes que recibieron quimioterapia paliativa (7.4% vs. 37.8%, $p=0.003$) para el grupo sin PMCCR vs. con PMCCR, respectivamente.

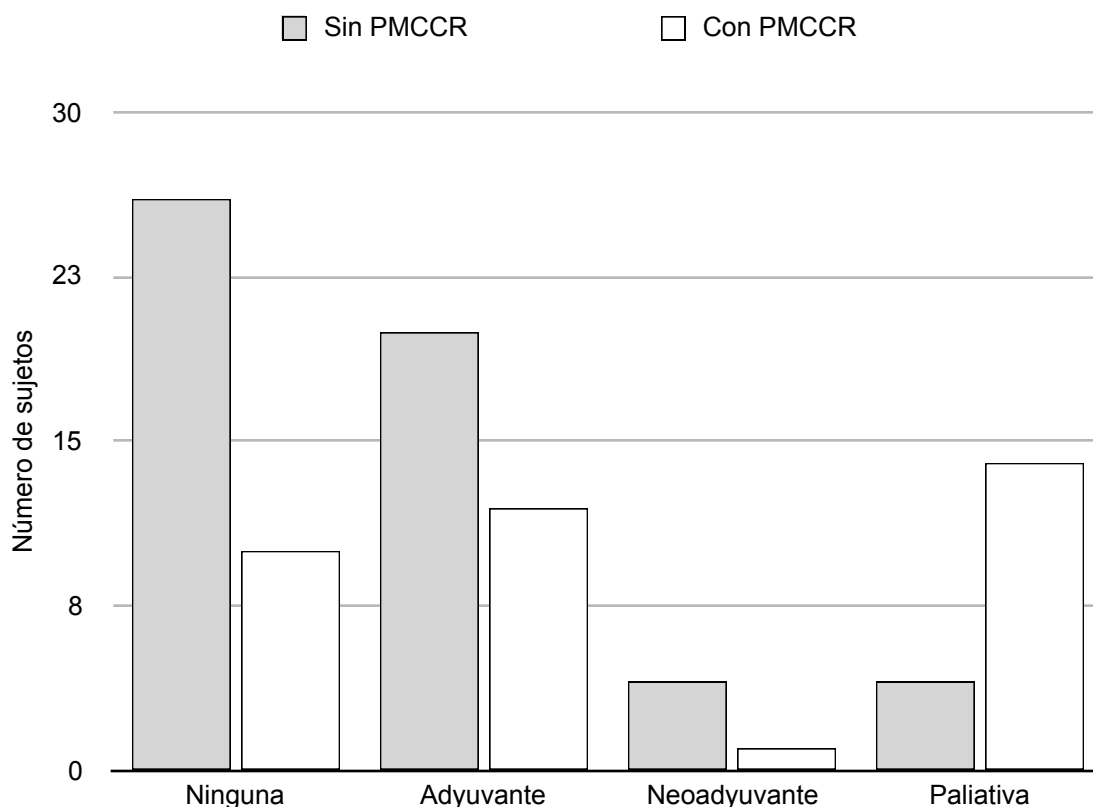


Figura 2. Comparación de los tipos de quimioterapia que se administraron en cada grupo.

No se administró ninguna quimioterapia (Figura 3) que no estuviese aprobada por la NCCN (National Comprehensive Cancer Network, E.E.U.U; 21). Únicamente se registraron las quimioterapias que se utilizaron como primera línea; cuando hubo cambio de tratamiento por progresión de la enfermedad o por recaída, éste tratamiento no fue registrado. La quimioterapia más utilizada en el grupo con PMCCR fue FOLFOX (9 sujetos) y en el grupo sin PMCCR fueron FOLFOX y Capecitabina en iguales proporciones (7 sujetos).

En total 4 sujetos recibieron regímenes de quimioterapia que incluían panitumumab, a dos sujetos se les realizó únicamente perfil para KRAS, a 1 se realizó perfil mutaciones de KRAS, NRAS, BRAF y MSI-H, y a 1 se le realizó KRAS y MSI-H, todos los genes de estos sujetos fueron wild-type.

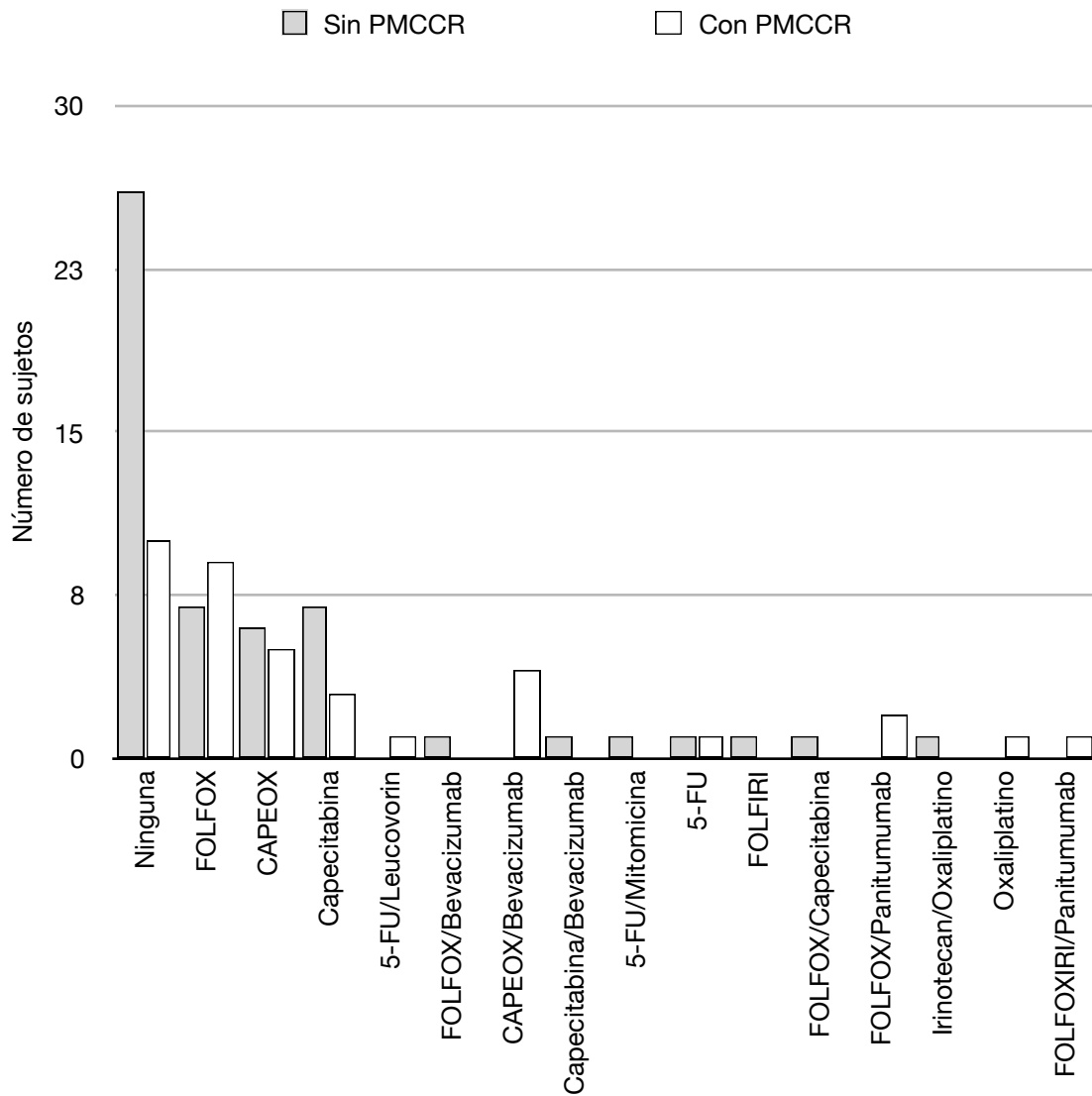


Figura 3. Comparación de regímenes de quimioterapia administrados en ambos grupos. 5-FU: Fluorouracilo. FOLFOX (Oxaliplatino + Leucovorina + Fluorouracilo), CAPEOX (Capecitabina + Oxaliplatino), FOLFIRI (Irinotecan + Leucovorina + Fluorouracilo), FOLFOXIRI (Irinotecan + Oxaliplatino + Leucovorina + Fluorouracilo).

A ningún sujeto se le realizó perfil que incluyera todos los genes. El estudio más solicitado fue KRAS (39 sujetos), de los cuales 14 tuvieron mutación, el segundo más solicitado fue MSI-H (35), de los cuales 8 fueron positivos. NRAS se solicitó para 21 sujetos y BRAF para 19, ningún sujeto tuvo mutación de esos dos genes. Únicamente a un sujeto se le solicitó perfil para p53 y fue positivo para mutación.

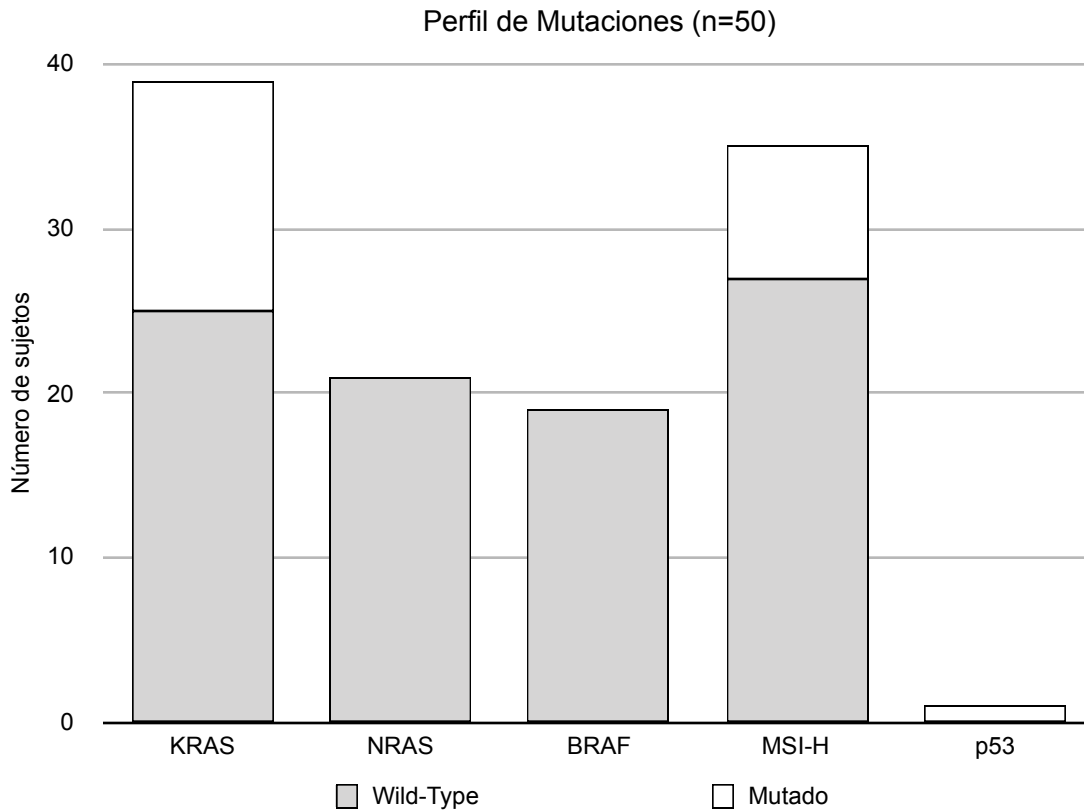


Figura 4. Población total a la que se realizó perfil de mutaciones.

Objetivos Primarios

Primeramente se realizó un análisis de Supervivencia Global (SG) con curvas de Kaplan-Meier (Figura 5). La media de tiempo de supervivencia global en el grupo al que se le realizó PMCCR fue de 54.36 meses (IC95%: 38.9-69.8 meses), y en el grupo al que no se le realizó PMCCR fue de 67.64 meses (IC95%: 55.4-79.8 meses), no existió diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos ($p=0.790$).

Nuestro siguiente objetivo fue evaluar el Periodo Libre de Enfermedad (PLE) en aquellos pacientes con etapa clínica de la enfermedad al diagnóstico I, II y III (Figura 6), obteniendo los siguientes datos: para el grupo con PMCCR una media de 69.14 meses (IC95%: 53.07-85.21) y para el grupo sin PMCCR 75.83 meses (IC95%: 63.25-88.41), sin tener una diferencia significativa ($p=0.533$).

El último objetivo primario fue evaluar el Periodo Libre de Progresión (PLP) en el grupo de pacientes con etapa clínica IV al diagnóstico (Figura 7) encontrando en el grupo con PMCCR una media de 30.76 meses (IC95%: 19.91-41.55) y en el grupo sin PMCCR una media de 21.5 (IC95%: 3.2-39.79), sin ser estadísticamente significativo ($p=0.169$).

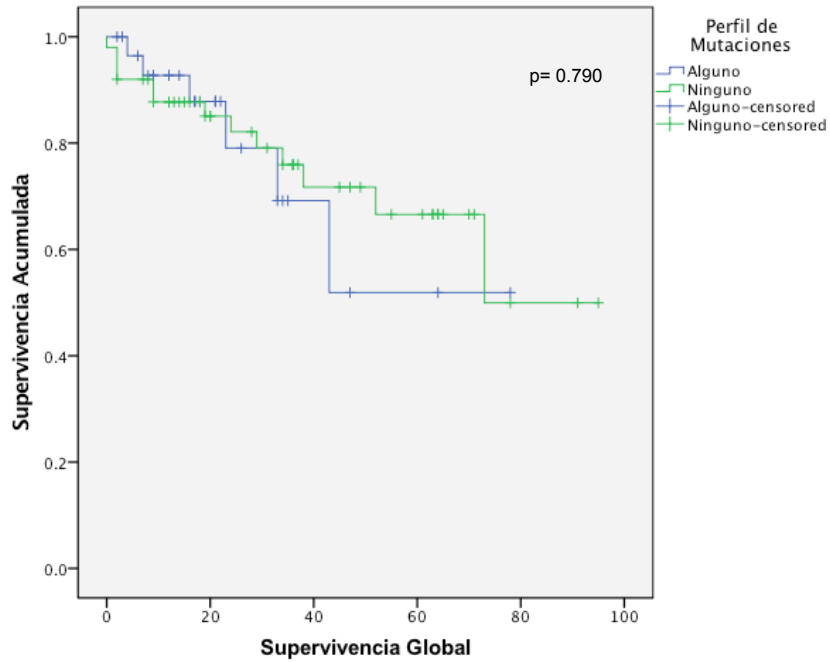


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier para Supervivencia Global (meses) comparando el grupo al que se realizó PMCRR vs. el grupo al que no se realizó ningún perfil mutacional.

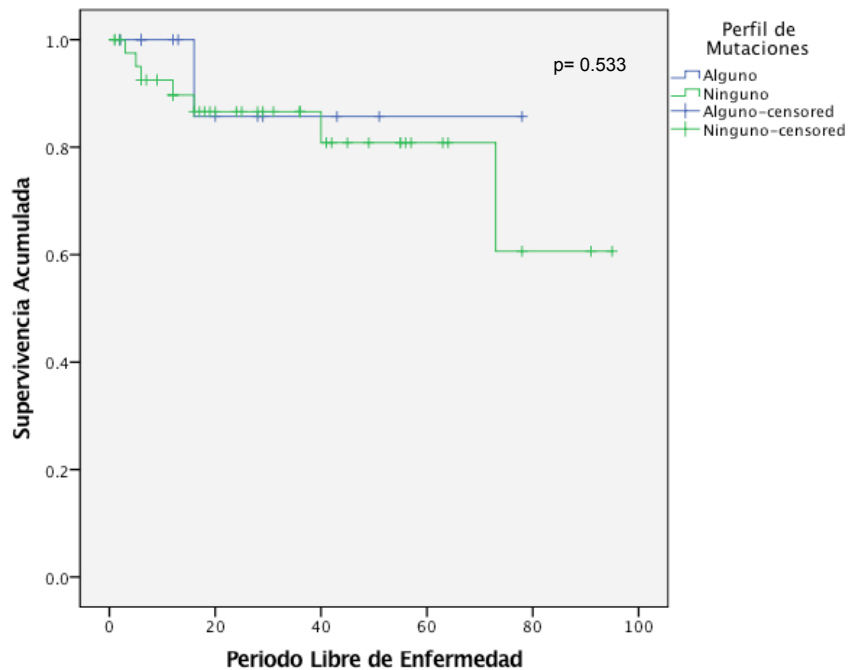


Figura 6. Curva de Kaplan-Meier para Periodo Libre de Enfermedad (meses) comparando el grupo al que se realizó PMCRR vs. el grupo al que no se realizó ningún perfil mutacional.

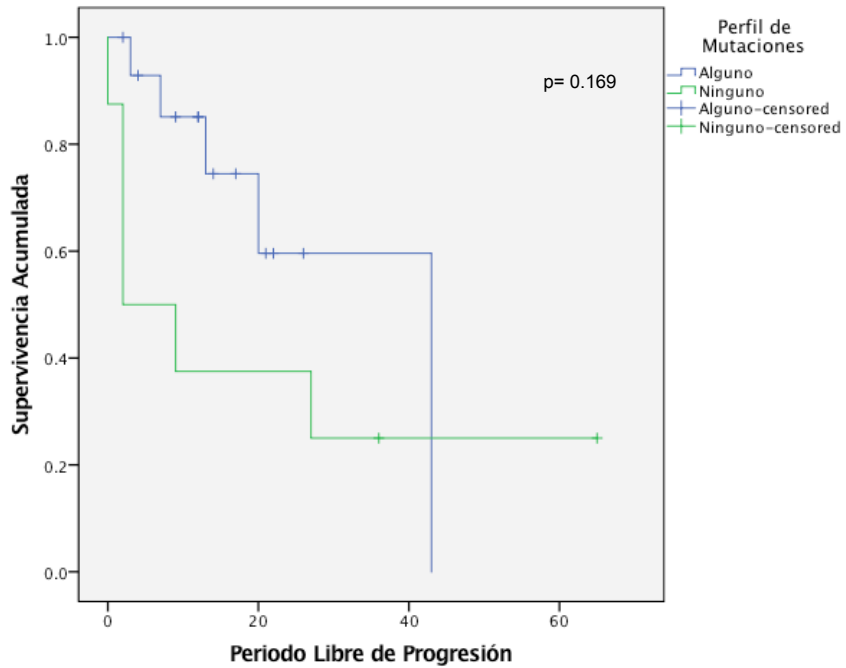


Figura 7. Curva de Kaplan-Meier para Periodo Libre de Progresión (meses) comparando el grupo al que se realizó PMCCR vs. el grupo al que no se realizó ningún perfil mutacional.

Se realizó un análisis no planeado valorando la SG en el grupo de pacientes con PMCCR realizado según el gen analizado, encontrando los siguientes datos: Los pacientes con KRAS mutado (KRASm) tuvieron una media de SG de 28.4 meses (IC95%: 13.2-43.6) vs. los pacientes con KRAS wild-type (KRASwt) que presentaron una media de 35 meses (IC95%: 26.2-44.9), con una $p=0.229$. Sin embargo, al evaluar el PLP en pacientes en etapa clínica IV se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de pacientes con KRASm y pacientes con KRASwt (9.4 ± 5.5 vs. 19.8 ± 11.8 ; $p=0.049$, respectivamente); mientras en etapas clínicas tempranas no hubo diferencia significativa (19.3 ± 21.2 vs. 8 ± 5 ; $p=0.453$).

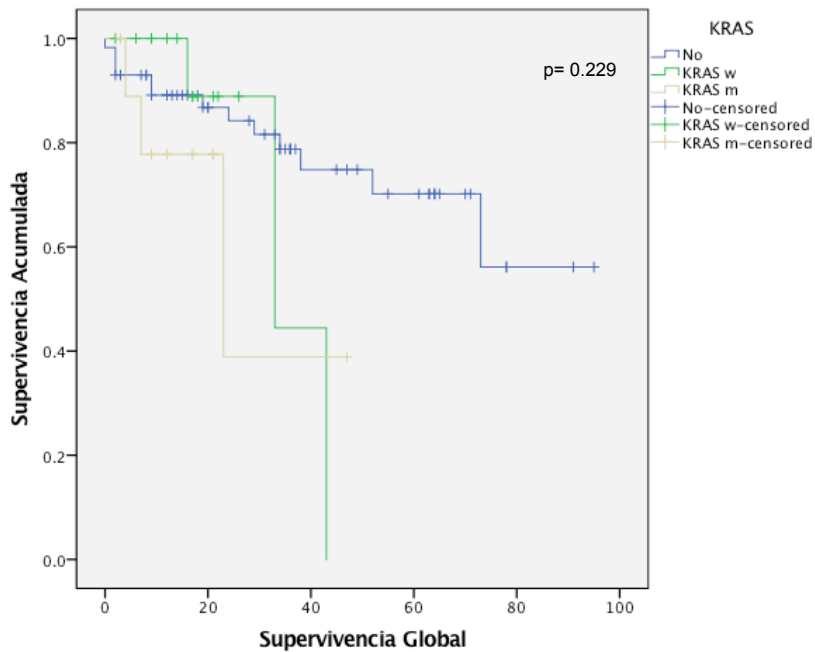


Figura 8. Curva de Kaplan-Meier para Periodo Libre de Progresión (meses) comparando los grupos a los que no se les realizó perfil de KRAS, los que tenían KRASm y KRASwt.

No consideramos para este análisis NRAS, BRAF y p53 debido a que de los dos primeros no se obtuvo ningún sujeto positivo para esta mutación, y para p53 porque solamente se realizó en un caso. Sin embargo, se observó que la inestabilidad microsatelital (MSI) es un posible factor pronóstico, mostrando una tendencia a mayor supervivencia libre de enfermedad en pacientes en etapa clínica II (28.5 ± 31.8 meses, $p=0.505$) y una tendencia para mayor supervivencia libre de progresión en los pacientes en etapa clínica IV (15.5 ± 9.1 meses, $p=0.884$). Desafortunadamente el porcentaje de sujetos que presentó MSI-H fue muy bajo, y dentro de nuestra muestra la mitad de estos pacientes perdió seguimiento, por lo que no se pueden obtener conclusiones definitivas.

DISCUSIÓN

En este estudio retrospectivo no se encontró diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global, el periodo libre de enfermedad y el periodo libre de progresión. Debido a estos resultados, no consideramos que conocer el perfil mutacional (KRAS, NRAS, BRAF, p53) modifique el pronóstico de los pacientes en las diferentes etapas clínicas.

Los resultados obtenidos en SG para ambos grupos pudieran estar afectados por otros factores que debemos considerar, como que al grupo al que se realizó PMCCR había una mayor cantidad de sujetos que se diagnosticaron en etapa clínica IV (36%), mientras que en el otro grupo, había mayor cantidad de sujetos que se diagnosticaron en estadio clínico II (24.6%), lo cual pudo influir en las diferencias en la supervivencia global, aunque esta no haya sido estadísticamente significativa.

Aunque no encontramos una diferencia significativa en PLE y PLP, se pudo identificar una tendencia en el grupo de pacientes con etapa clínica IV, que pudiera ser traducida a que en este subgrupo de pacientes es relevante conocer el perfil mutacional, ya que esto permitirá seleccionar *a priori, una mejor opción de* tratamiento siendo el perfil de mutaciones un factor predictivo de respuesta al mismo.

Otro factor a tomar en cuenta es que dentro del grupo de los pacientes a los que no se les realizó PMCCR tenemos un subgrupo de pacientes no conocido que pudieron haber presentado alguna mutación, esto significaría que en este grupo existe una sección de pacientes que pudieran alojar alguna mutación y un segundo grupo de pacientes que definitivamente no presentan mutaciones. Debido a ello decidimos hacer un análisis no planeado para evaluar de mejor manera al grupo de pacientes en el cual si se realizó un PMCCR y comparar aquellos pacientes con mutación conocida contra los pacientes que definitivamente no tienen mutaciones.

En este análisis no planeado, encontramos que los casos con mutaciones de KRAS, sin considerar etapa clínica, tuvieron menor supervivencia global, y tomando en cuenta a los pacientes con etapa clínica IV se observó una diferencia estadísticamente significativa en periodo libre de progresión, por lo cual consideramos que en esta etapa clínica, conocer el estado mutacional de KRAS tiene un valor no solamente predictivo, sino también pronóstico.

Es importante subrayar que en nuestra población no se encontró ningún caso que tuviese mutaciones en KRAS y BRAF al mismo tiempo, lo cual confirma que son mutuamente excluyentes, y aunque en la literatura está descrito que los genes KRAS y MSI pueden coexistir en el mismo individuo, en nuestra población no encontramos ningún caso con estas circunstancias.

Se ha reportado que el tipo histológico más común de cáncer de colon es el adenocarcinoma, que representa aproximadamente del 90-95% de todos los tumores de colon (29), en nuestro estudio representó el 98.2% de los tumores.

También se ha descrito que alrededor del 25-30% de los pacientes se presentan en etapa clínica IV al diagnóstico (24), lo cual es consistente con nuestros resultados ya que el 23.4% de la población se encontraba en etapa clínica IV en el momento del diagnóstico.

Ciardello et al. (23) han reportado que la frecuencia de mutaciones de KRAS en América Latina es de 36%, similar a la de Europa (40%) y mayor que en Asia (22%). En un estudio en Chile (22) se encontró que la mutación más frecuente fue la del gen KRAS, que se observó en 16 pacientes (27%). El CCR con MSI aparece en aproximadamente el 15% de los CCR esporádicos (34). En éste estudio encontramos

que la frecuencia de mutación de KRAS fue de 35% y la presencia de MSI de 22%. Las mutaciones en BRAF se detectan en aproximadamente 8-15% de los tumores colorrectales (24, 29), nosotros no encontramos ningún paciente con mutación en BRAF, lo más probable es que se deba al tamaño de la muestra.

Respecto al comportamiento pronóstico de las mutaciones genéticas se han publicado varios resultados contradictorios.

En algunos trabajos se ha asociado mutaciones de BRAF con una falta de respuesta a tratamientos con anticuerpos monoclonales anti-EGFR, mientras que en otros se ha encontrado que las mutaciones de BRAF tienden a asociarse con un periodo libre de enfermedad más corto y una disminución de la supervivencia global, independientemente del estatus de KRAS y los tratamientos (24). En este estudio (34) se encontró que las mutaciones en BRAF se asociaron con una menor probabilidad de diseminación tumoral en toda la cohorte, así como recurrencia metastásica. Sin embargo, el carácter de factor pronóstico y predictivo del gen aún no está corroborado y queda por confirmar.

Con respecto al tratamiento de pacientes con CCR y el estado de estabilidad o inestabilidad microsatelital, los pacientes con tumores MSI alta han mostrado una sensibilidad diferente a los agentes quimioterapéuticos, apareciendo como más resistentes al cisplatino, carboplatino y al 5-fluorouracilo, pero sensibles al irinotecán. Se ha propuesto considerar el estatus de MSI para definir terapia en estos pacientes (22). También se ha reportado que los tumores con MSI se caracterizan por tener un mejor pronóstico comparado con el cáncer con MSS, sobretodo en etapas clínicas II y III (34).

Hace más de una década la mutación KRAS ha sido identificada como un factor pronóstico negativo para recurrencia de la enfermedad en pacientes con CCR sometidos a cirugía. En los últimos años se ha identificado que tanto el grupo de pacientes con KRAS mutado, como el grupo con KRAS no mutado, son heterogéneos de acuerdo a su pronóstico clínico (29).

En un estudio de 105 pacientes en España (36) se encontró que la media de PLE del grupo con KRAS m fue menor comparada con la del grupo con KRASwt (39.23 meses IC95%: 33.89-44.57 vs. 45.48 meses IC95%: 43.14-47.82; $p=0.01$). Mientras que en un estudio pequeño (31 pacientes) en Veracruz (28) se encontró que al realizar el análisis comparativo entre el tiempo de supervivencia y el estado de KRAS no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.416$).

En Suecia se realizó un estudio (34) donde encontraron que los pacientes con mutaciones KRAS tenían enfermedad más diseminada, en contraste, las mutaciones en BRAF o la MSI eran menos comunes en pacientes con enfermedad diseminada o en aquellos que desarrollaban recurrencia en etapas clínicas II y III. Se encontró que en los pacientes con tumores KRASwt y MSI era menos probable que tuvieran enfermedad diseminada (OR: 0.22, IC95%: 0.08-0.62; $p=0.041$) y recurrencia de la enfermedad en etapas clínicas II y III (OR: 0.31; IC95%: 0.10-0.94) que los pacientes con KRAS mutado y tumores MSS. En nuestro estudio encontramos 9 pacientes con estas características, desafortunadamente no es posible hacer análisis por la gran cantidad de pérdidas en el seguimiento.

En el estudio RASCAL II (35) se encontró que las mutaciones en KRAS estuvieron asociadas con peor pronóstico comparadas con KRAS wild-type en más de 3000 pacientes con CCR, ésta asociación fue mayor en pacientes etapa III que etapa II, esta asociación estaba restringida a la mutación KRAS 12Gly>Val.

También se ha encontrado que las mutaciones de BRAF e, inconsistentemente, en KRAS confieren menor supervivencia en pacientes con CCR MSS estadio clínico II y III. Los pacientes con cualquiera de las dos mutaciones mostraron menor supervivencia comparado con los pacientes con tumor doble wild-type (dWT), con una supervivencia a 5 años de 76% (IC95%: 67-85%) contra 93% de los dWT y un HR: 3.57 (IC95% 1.07-11.98, $p=0.04$).

Se han hecho varios ensayos clínicos que toman en cuenta los perfiles de mutaciones como factores predictivos para selección de pacientes para una terapia dirigida y una mejor utilización de recursos. En los últimos 20 años se ha incrementado la supervivencia global, la disposición de nuevos agentes

citotóxicos, el advenimiento de terapias blanco y las implementación de la medicina personalizada han sido parte imprescindible durante este proceso (29).

En 2008 se demostró (25) que la presencia de mutaciones en el gen KRAS era un factor predictivo negativo, ya que seleccionaba aproximadamente al 40% de pacientes que no se benefician de los tratamientos dirigidos frente a EGFR. Se ha observado que en pacientes con KRASwt, el empleo de cetuximab en monoterapia, comparado con tratamiento de soporte, prolongaba significativamente la supervivencia libre de progresión (3.7 meses vs. 1.9 meses; HR: 0.40, $p < 0.001$) y la supervivencia global (9.5 meses vs. 4.8 meses; HR: 0.55; $p < 0.001$) con tasas de respuesta del 12.8 frente al 1.2%.

En otro estudio (26) se encontró que en pacientes con KRASwt, el empleo de panitumumab en monoterapia, comparado con tratamiento de soporte, prolongaba significativamente el PLE (12.3 semanas vs. 7.3 semanas; HR: 0.45; $p < 0.001$) y la SG (8.1 meses vs. 7.6 meses; HR: 0.67; $p < 0.001$), con tasas de respuesta del 17 frente al 0%.

Se ha comparado el esquema FOLFIRI con panitumumab (27) como quimioterapia de segunda línea y se ha mostrado un beneficio en la tasa de respuestas en los pacientes con KRASwt (35 vs. 10%; $p < 0.0001$) y el periodo libre de progresión (5.9 meses vs. 3.9 meses; HR: 0.73; $p = 0.004$), aunque el estudio no consiguió demostrar un incremento en la supervivencia global (14.5 meses vs. 12.5 meses; HR: 0.85; $p = 0.12$).

En el estudio CRYSTAL (30), se combinó el esquema FOLFIRI con cetuximab y se encontró que se prolongaba el periodo libre de progresión. En un subanálisis se observó mayor beneficio para los pacientes con KRASwt tanto en las tasas de respuesta como en PLP y SG.

El estudio OPUS (31) que evaluó el esquema FOLFOX4 con cetuximab, no logró demostrar beneficio en SLP, aunque si resultó en una mejor tasa de respuesta, en un subanálisis para pacientes con KRASwt, se encontraron beneficios tanto en las tasas de respuesta como en la SLP. También se observó en ambos estudios una reducción radiológica del tamaño tumoral a las 8 semanas igual o más de 20% en pacientes con KRASwt tratados con quimioterapia + cetuximab, con un PLP (14.1 vs. 7.3 meses; HR: 0.32; $p < 0.001$; y 11.9 vs. 5.7 meses; HR: 0.22; $p < 0.001$) y SG (30 vs. 18.6 meses; HR: 0.53; $p < 0.001$); y 26 vs. 15.7 meses; HR: 0.43; $p = 0.006$) más largas.

Se realizó un meta-análisis de los estudios CRYSTAL y OPUS (37), donde se muestra una reducción del riesgo de progresión del 34% (HR: 0.66; $p < 0.0001$), un aumento de la supervivencia global (HR: 0.81; $p = 0.0062$) y de la tasa de respuesta (RM: 2.16; $p < 0.0001$) en pacientes con CCR metastásico con KRASwt tratados en primera línea con FOLFOX o FOLFIRI más cetuximab.

El estudio PRIME (32) evaluó la eficacia de panitumumab como primera línea para CCR metastásico con FOLFOX + panitumumab, demostrando superiora en la SLP en comparación con FOLFOX solo. En 2013 hubo una actualización del estudio (33), donde se hizo un análisis de los biomarcadores KRAS (exones 3 y 4) NRAS (exones 2, 3 y 4) y BRAF (exón 15), en cada grupo de tratamiento. Se mostró un incremento en la SG de los pacientes con RAS no mutado de 5.8 meses (0.78, IC95%: 0.62-0.99; $p = 0.04$).

En varios estudios retrospectivos se ha podido comprobar que los pacientes que muestran una mutación en el codón 13 de KRAS (G13D), presente en alrededor del 8-20% de los tumores con KRASm, presentan una mejor tasa de respuesta a terapia anti-EGFR en comparación con los pacientes que presentan cualquier otra mutación de KRAS en el codón 12 (24, 29). Asimismo, existe evidencia que señala que las mutaciones detectadas (sobre todo en el codón 12) confieren un peor pronóstico, así como metástasis hepáticas prontas y agresivas (28).

Alrededor de 9-28% de los pacientes sin mutación en KRAS fallan en la respuesta de la terapia mencionada, posiblemente debido a la heterogeneidad de las células tumorales del CCR, dada por la presencia de mutaciones en otros genes de la vía. Por ejemplo, se ha observado que en los pacientes con CCR etapa clínica II y MSI, el uso de 5-FU no beneficiaría al paciente, sugiriendo al estado de MSI como un valor predictivo de respuesta a terapia. La presencia de mutación BRAF podría tener un valor predictivo ya que terapias específicas como vemurfenib y GSK 2118436, usados para pacientes con

melanoma que tienen mutación en el gen BRAF podrían ser utilizados también en pacientes con cáncer colorectal (22).

Éste estudio tuvo varias limitaciones, la primera corresponde a los sesgos inherentes de los análisis retrospectivos. En segundo lugar, la pérdida de sujetos en el seguimiento fue muy grande, 28.6% del total de los sujetos incluidos en el estudio, los cuales representan el 20% del grupo sin PMCCR y 40% del grupo con PMCCR; las causas de la pérdida en el seguimiento son desconocidas, pero podemos suponer que en algunos casos al ser una institución privada y ser un padecimiento con un costo elevado, probablemente varios migraron a instituciones públicas para continuar su seguimiento.

Una tercera limitación es la heterogeneidad de población, ya que 14.7% de los sujetos incluidos en el total son de origen español y 6% de otro origen, por lo que los resultados obtenidos difícilmente son extrapolables a poblaciones fuera de nuestra institución. Esta heterogeneidad es reflejo de las características que constituyen al Hospital Español, al tener un programa especial de afiliación para personas originarias de España y sus descendientes directos.

En cuarto lugar, no fue posible realizar un análisis con los tratamientos utilizados ya que estaban sujetos a tres variables: 1) la selección de cada tratamiento dependía del médico tratante, 2) el acceso a los medicamentos no es equitativo ya que está sujeto a que los pacientes cuenten o no con seguro de gastos médicos; y en los pacientes con seguro de gastos médicos el tipo de medicamentos que cubra el seguro, y 3) la decisión personal del sujeto.

Y por último, antes de 2012 a ningún sujeto se le realizó ningún tipo de perfil de mutaciones, y no fue sino hasta 2015 que se empezó a pedir de manera rutinaria a la mayoría de los sujetos (13 sujetos a los que se solicitó vs. 10 sujetos a los que no en 2015), sin embargo, como podemos ver, a ningún sujeto se le solicitó la batería completa de genes, por lo que sería importante estandarizar esta práctica en la institución.

CONCLUSIONES

El cáncer colorrectal continua siendo la segunda causa de muerte relacionada al cáncer en países occidentales, es por esta razón que biomarcadores pronósticos y predictivos se necesitan de manera urgente para identificar los tratamientos más efectivos para pacientes específicos, así como para predecir y controlar la recurrencia de la enfermedad.

En nuestro estudio no encontramos ninguna diferencia estadísticamente significativa para supervivencia global, periodo libre de enfermedad y periodo libre de progresión entre el grupo de pacientes al que se realizó PMCCR y el grupo de pacientes que no tiene PMCCR. Es importante mencionar que al analizar el grupo con determinación de mutaciones aquellos pacientes que mayormente se benefician del conocimiento de este perfil mutacional son los pacientes en etapa clínica IV, en los cuales se puede considerar tanto factor pronóstico como predictivo de respuesta a tratamiento.

El perfil mutacional reportado en la literatura fue muy parecido al de nuestro estudio, con 35% de mutaciones en KRAS y 22% de tumores con MSI, dentro de las etapas clínicas IV aún en un 33% de nuestros pacientes no fue realizado el PMCCR. Es indispensable homogeneizar el conocimiento y estandarizar los perfiles mutacionales en los pacientes que mayormente se benefician de ellos, realizando guías de práctica clínica nacionales e institucionales para el abordaje diagnóstico, terapéutico y optimización de recursos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Salud Pública.
2. Brenner H, Kloor M, Pax CP, et al. Colorectal Cancer *Lancet* 2014;383:1490-1502.
3. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, et al. Colorectal Cancer *Nat Rev* 2015;1:1-25.
4. de Cuba EMB, Snaebjornsson P, Heideman DAM et al. Prognostic value of BRAF and KRAS mutation status in stage II and III micro satellite instable colon cancers, *Int. J. Cancer* 2016; 138:1139-1145.
5. Yoon HH, Shi Q, Alberts SR, et al. Racial differences in BRAF/KRAS mutation rates and survival in stage III colon cancer patients, *JNCI J Natl Cancer Inst* 2015; 107(10):djv186.

6. Carethers JM, Jung BH, Genetics and genetic biomarkers in sporadic colorectal cancer, *Gastroenterology* 2015;149(5):1177-1190.
7. Sinicrope FA, Okamoto K, Kasi PM, et al. Molecular biomarkers in the personalized treatment of colorectal cancer, *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14(5):651-658.
8. Takahashi N, Iwasa S, Taniguchi H, et al. Prognostic role of ERBB2, MET and VEGFA expression in metastatic colorectal cancer patients treated with anti-EGFR antibodies, *Br J Cancer* 2016; 114:1003-1011.
9. Rimbert J, Tachon G, Junca A, et al. Association between clinicopathological characteristics and RAS mutation in colorectal cancer, *Modern Pathol*; 2017:1-10.
10. Jia M, Jansen L, Walter V, et al. No association of CpG island methylation phenotype and colorectal cancer survival: population-based study, *Br J Cancer* 2016; 115:1359-1366.
11. Xiao L, Zheng K, Lv X, et al. Exo70 is an independent prognostic factor in colon cancer; *Scientific Reports*, 2017;7:5039.
12. Andrici J, Farzin M, Sioson L, et al. Mismatch repair deficiency as a prognostic factor in mucinous colorectal cancer, *Modern Pathol*, 2016;29:266-274.
13. Koi M, Garcia M, Choi C, et al. Microsatellite alterations with allelic loss at 9p24.2 signify less-aggressive colorectal cancer metastasis, *Gastroenterol*, 2016;150:944-955.
14. Gallois C, Laurent-Puig P, Taieb J. Methylator phenotype in colorectal cancer: A prognostic factor or not? *Crit Rev Oncol Hemat*, 2016;99:74-80.
15. de Roock W, de Vriendt V, Normanno N, et al. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer, *Lancet Oncol*, 2011;12:594-603.
16. Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic alterations in colorectal cancer: Emerging biomarkers, *Gastroenterology* 2015;149(5): 1204-1225.
17. Malinowsky K, Nitsche U, Janssen KP, et al. Activation of the PI3K/AKT pathway correlates with prognosis in stage II colon cancer, *Br J Cancer* 2014;110: 2081-2089.
18. Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006; 66:3992-3995.
19. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, et al. CpG methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96:8681-8686.
20. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990; 61: 759-767.
21. Benson A. B; Venook A. P; Cederquist L, et al. NCCN Guidelines Version 2.2017 Colon Cancer, 2017.
22. Hurtado C, Wielandt A. M; Zárata A. J. Análisis molecular del cáncer de colon esporádico, *Rev Med Chile* 2015; 143: 310-319.
23. Ciardello F, Tejpar S, Normanno N, et al. Uptake of KRAS mutation testing in patients with metastatic colorectal cancer in Europe, Latin America and Asia. *Target Onco* 2011; 6: 133-145.
24. Hernández-Losa J, Sanz J, Landolfi S, Recomendaciones para la determinación de mutaciones de K-RAS en cáncer de colon, *Rev Eso Patol*. 2012; 45(2): 76-85.
25. Karapetis C. S; Khambata-Ford S, Jonker D. J; et al. KRAS mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2008; 359: 1757-1765.
26. Amado R. G; Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Onco*. 2008; 26: 1626-1634.
27. Peeters M, Price T. J; Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 4706-4713.
28. Cabrera-Mendoza F, Gainza-Lagunes S, Castañeda-Andrade I, et al. Relevancia clínica del encogen K-ras en cáncer de colon, experiencia en una población mexicana.
29. Ochoa-Carrillo F. J; Astudillo-de la Vega H; Alvarado-Cabrero I, et al. Cáncer colorrectal metastásico, hacia un tratamiento personalizado, *Gaceta Mex de Oncol*. 2014; 13(1): 39-46.
30. Eng C. The evolving role of monoclonal antibodies in colorectal cancer: early presumptions and impact in clinical development. *The Oncologist* 2010; 15: 73-84.
31. Bokemeyer C1, Bondarenko I, Hartmann JT, et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. *Ann Oncol*. 2011; 22(7): 1535-1546.
32. Douillard J. Y; Siena S, Cassidy J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusion fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 4697-4705.

33. Douillard J. Y; Siena S, Cassidy J, et al. Final results from PRIME: randomized phase III study of panitumumab with FOLFOX4 for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2014; 25(7): 1346-1355.
34. Birgisson H, Edlund K, Wallin U, et al. Microsatellite instability and mutations in BRAF and KRAS are significant predictors of disseminated disease in colon cancer. *BMC Cancer.* 2015;15: 125-136.
35. Andreyev H. J; Norman A. R; Cunningham D; et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the "RASCAL II" study. *Br J Cancer.* 2001; 85(5): 692-696.
36. Gil-Raga M, Jantus-Lewintre E, Gallach S, et al. Molecular subtypes in early colorectal cancer associated with clinical features and patient prognosis. *Clin Transl Oncol.* 2018.
37. van Cutsem E, Rougier P, Köhne C. H; et al. A meta-analysis of the CRYSTAL and OPUS studies combining cetuximab with chemotherapy as first line treatment for patients with metastatic colorectal cancer: Results according to KRAS and BRAF mutation status, ECCO 15- ESMO 34. 2009, Abstract No. 6.077.

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCIÓN								
Número de paciente:		Número de expediente:		Lugar de nacimiento:		Notas:		
Nombre de paciente:				ACE:		Fecha Nacimiento:		
Sexo:	1 Femenino	Edad al diagnóstico: mayo 2014	1 < 50 años	Tabaquismo:	1 Fumador	Comorbilidades:	1 HAS	
	2 Masculino		2 > 50 años		2 Ex fumador		2 Neuropatía	
Causa de muerte:	1 Relacionada CRC	Edad al diagnóstico:			3 No		3 Cardiopatía	
	2 No rel. CRC		Diabetes Mellitus 2:	1 Sí	Consumo de aspirina:	1 Sí	4 Nefropatía	
	3 Vivo			2 No		2 No	5 Otra	
Tratamiento quirúrgico:	1 Sí	Historia de pólipos en colon:	1 Sí	Familiar en 1° con diagnóstico de cáncer colorrectal:	1 Sí	IMC:	0 Bajo peso	
	2 No		2 No		2 No		1 Normal 18.5-24.9	
Edad al fallecimiento:	N/A.	Sitio del tumor:	1 Proximal	Consumo de alcohol:	1 No		2 Sobrepeso 25-29.9	
Historia de Enfermedad Inflamatoria Intestinal	1 No		2 Transverso				2 Social	3 Obesidad I 30-34.9
	2 E. de Crohn		3 Distal				3 Alcoholismo	4 Obesidad II 35-39.9
	3 CUCI		4 Recto	Supervivencia global:	Meses:		5 Obesidad III > 40	
Sitio de metástasis:	1 Pulmonar	Tratamiento con quimioterapia:	1 No	P. libre de progresión:	Meses:	Etapa clínica al diagnóstico:	1 Etapa I	
	2 Hepática		2 Adyuvante	TNM:	T N M		2 Etapa II	
	3 Otra		3 Neoadyuvante	P. libre de enfermedad:	Meses:		3 Etapa III	
	4 Ninguna		4 Paliativa				4 Etapa IV	
Perfil de mutaciones:	1 KRAS w	Tipo de quimioterapia:	1 No	10 FOLFOX beva	19 Nivolumab	Reporte de histopatología:	4 Etapa IV	
	2 KRAS m		2 FOLFOX	11 CAPEOX Beva	20 Panitumumab		1 Adenocarcinoma	
	3 NRAS w		3 CAPEOX	12 FOLFOX cetuximab	21 Pembrolizumab		2 Adenoescamoso	
	4 NARS m		4 5-FU/RT	13 FOLFIRI Beva	22 Irinotecan Beva		3 Escamoso	
	5 BRAF w		5 Capecitabina/RT	14 FOLFIRI cetuximab	23 Irinotecan Cetuxi		4 Neuroendocrino poco diferenciado	
	6 BRAF m		6 5FU/Leucovorin/RT	15 FOLFOXIRI Beva			5 Neuroendocrino moderadamente diferenciado	
	7 p53 w		7 FLOX	16 5FU/leuco/beva				
	8 p53 m		8 Capecitabina	17 Capecitabina/beva			6 Neuroendocrino no diferenciado	
	9 MSI positivo		9 5-FU/leucovorin	18 Cetuximab				
	10 MSI negativo							