



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CURSO DE ESPECIALIDAD EN ONCOLOGÍA MÉDICA

**FACTOR PRONÓSTICO DE LA MUTACIÓN DEL GEN PI3K EN
PACIENTES CON CÁNCER DE COLON ESTADIO CLÍNICO II**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
SUBESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA:

DR. JOSÉ ANTONIO BAHENA GONZÁLEZ

**DRA. ERIKA BETZABÉ RUIZ GARCÍA
DIRECTOR DE TESIS**



CIUDAD DE MÉXICO

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

**FACTOR PRONÓSTICO DE LA MUTACIÓN DEL GEN PI3K EN PACIENTES CON
CÁNCER DE COLON ESTADIO CLÍNICO II**

**Dra. Erika Betzabé Ruiz García
Director de Tesis
Instituto Nacional de Cancerología**

CONTENIDO

<u>Capítulo</u>	<u>Pág.</u>
I. Introducción	5
II. Marco teórico	5
1. El colon	5
1.1. Anatomía	5
1.2. Histología	9
1.3. Fisiología	11
2. Cáncer de colon	11
2.1. Aspectos epidemiológicos	11
2.2. Factores de riesgo	13
2.2.1. Síndromes de cáncer de colon hereditario	13
2.2.2. Factores asociados a cáncer de colon esporádico	14
2.3. Factores protectores	17
2.4. Diagnóstico y estadiaje	18
2.4.1. Presentación clínica	18
2.4.2. Diagnóstico	19
2.4.3. Estadiaje	20
2.5. Tratamiento quirúrgico del cáncer de colon	22
3. Tratamiento con quimioterapia adyuvante en cáncer de colon estadio II	23
3.1. Beneficio de la quimioterapia basada en fluoropirimidinas	23
3.2. Beneficio del oxaliplatino	24
3.3. Estratificación del riesgo	24
3.3.1. Factores clínicopatológicos	24
3.3.2. Factores moleculares	26
4. Aspectos genéticos del cáncer	29
5. Aspectos biomoleculares del cáncer colorrectal	32
5.1. Vías moleculares asociadas a la génesis de tumores colorrectales	33
5.2. Alteraciones moleculares específicas	35

<u>Capítulo</u>	<u>Pág.</u>
5.2.1. Oncogenes	35
5.2.2. Genes supresores de tumores	36
5.2.3. Otros genes	39
6. La vía de PI3K	39
6.1. PI3K en cáncer colorrectal	41
III. Pregunta de investigación	44
IV. Planteamiento de tesis	44
1. Justificación	44
2. Objetivo	45
2.1. Objetivo general	45
2.2. Objetivos específicos	45
3. Hipótesis	45
3.1. Hipótesis nula	45
3.2. Hipótesis alterna	45
4. Diseño del estudio	46
V. Materiales y métodos	46
1. Planeación del estudio	46
2. Universo del estudio	46
3. Criterios de selección	47
3.1. Criterios de inclusión	47
3.2. Criterios de exclusión	48
4. Variables registradas	48
5. Análisis estadístico	50
6. Recursos	51
6.1. Recursos humanos	51

<u>Capítulo</u>	<u>Pág.</u>
6.2. Recursos materiales	51
7. Procedimientos	60
7.1. Desparafinación de tejidos con xilol	52
7.2. Extracción de ADN	52
7.3. Análisis de las mutaciones de PI3K	53
8. Consideraciones éticas	54
VI. Resultados	54
VII. Discusión	60
VIII. Conclusión	62
IX. Referencias	63

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es el cuarto lugar en incidencia a nivel mundial y la quinta causa de muerte relacionada a cáncer.¹

La resección quirúrgica es el único tratamiento curativo para la enfermedad locorregional, y el desenlace se relaciona a la extensión de la enfermedad al momento de la presentación.²

El tratamiento adyuvante que se ofrece a pacientes con resección de cáncer de colon ha ganado considerable interés por su capacidad para erradicar las micrometástasis presentes al momento de la cirugía, incrementando así las tasas de curación.³

Los beneficios de la adyuvancia en pacientes con estadio II (ganglios negativos) son menos contundentes que los que se pueden obtener en estadio III. Para guiar la decisión en cuanto al tratamiento adyuvante de pacientes con estadio II se suelen usar características clinicopatológicas y moleculares, a pesar de que la evidencia que las respalda es relativamente débil.

Las mutaciones de PI3K se encuentran con mayor frecuencia en cáncer avanzado o metastásico, lo cual sugiere que estas podrían contribuir en la evolución y diseminación a distancia de células malignas.⁴

II. MARCO TEÓRICO

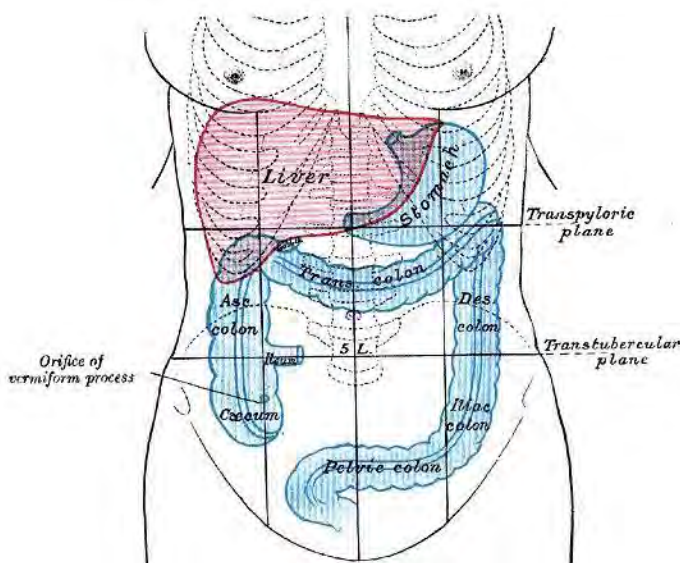
1. EL COLON

1.1 Anatomía

El intestino grueso se compone de ciego, apéndice, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, colon sigmoide, recto y conducto anal. Desde el punto de vista histológico y oncológico, la porción que va del ciego al colon sigmoide (excluyendo al apéndice)

ce) se aborda y se trata de una forma diferente al apéndice, el recto y el conducto anal. El presente texto utilizará el término “colon” para referirse a esta porción.⁵

Figura 1. Anatomía del colon. Tomada de: Medscape.com



El manual de estadiaje de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) divide al colon en ciego, colon ascendente, flexura hepática, colon transverso, flexura esplénica, colon transverso, flexura esplénica, colon descendente, colon sigmoide y unión rectosigmoidea.⁶

El intestino grueso se diferencia del intestino delgado por las tenias cólicas (tres bandas longitudinales formadas por fibras musculares, ausentes en el recto), las haustras (formaciones saculares comprendidas entre las tenias), los apéndices omentales u epiploicos (proyecciones grasas del omento que se disponen entre la tenia libre y la tenia epiploica) y su calibre (el diámetro interno es mayor).⁵

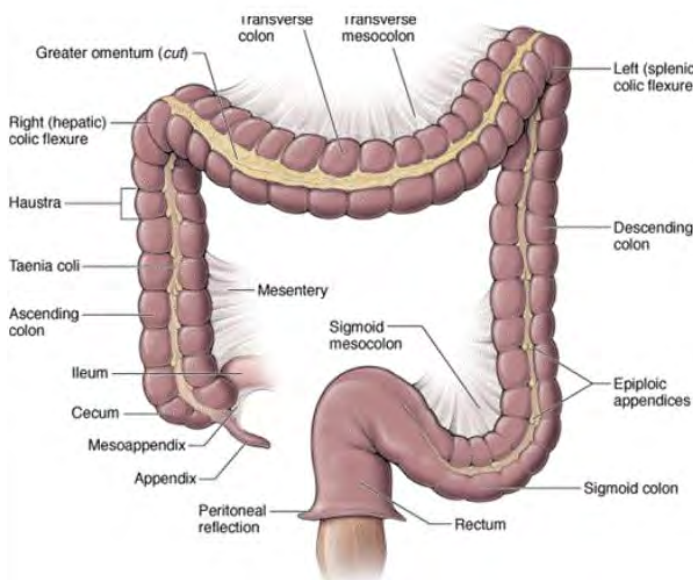


Figura 2. Apariencia macroscópica del colon. Tomado de: The Big Picture: Gross Anatomy (accessmedicine.mhmedical.com)

El íleon terminal penetra en el ciego de forma oblicua y se invagina en su interior. El ciego es una bolsa intestinal ciega de aproximadamente 7.5 cm de longitud y anchura, situada en la fosa iliaca derecha. Está envuelto casi en su totalidad por el peritoneo, sin embargo, no tiene mesenterio. Suele confinarse a la pared lateral del abdomen a través de uno o más pliegues cecales del peritoneo. El apéndice es un divertículo intestinal ciego que mide 6 a 10 cm de longitud, que se origina en la cara posteromedial del ciego, debajo de la unión ileocecal.

El ciego está irrigado por la arteria ileocólica, rama terminal de la arteria mesentérica superior. Una afluyente de la vena mesentérica superior, la vena ileocólica, drena la sangre del ciego y del apéndice. Los vasos linfáticos del ciego drenan en los ganglios linfáticos del mesoapéndice y en los ganglios linfáticos ileocólicos, situados a lo largo de la arteria ileocólica. La inervación del ciego deriva de los nervios simpáticos y parasimpáticos del plexo mesentérico superior. Las fibras nerviosas simpáticas se originan en la porción torácica inferior de la médula espinal, y las parasimpáticas, en los nervios vagos.

El colon ascendente se extiende por la parte superior, a la derecha de la cavidad abdominal, desde el ciego hasta el lóbulo derecho del hígado, donde gira a la izquierda en la flexura hepática. Está cubierto de peritoneo por delante y a los lados, y se encuentra en un plano retroperitoneal. Se separa de la pared anterolateral del abdomen por el omento mayor. Las arterias ileocólica y cólica derecha, ramas de la mesentérica superior, se encargan de la irrigación del colon ascendente y de la flexura hepática. Las afluentes de la vena mesentérica superior, las venas ileocólica y cólica derecha, drenan la sangre del colon ascendente. Los vasos linfáticos drenan primero la linfa en los ganglios linfáticos epicólico y paracólico; luego, en los ileocólicos y cólico derecho intermedio, y, por último, en los mesentéricos superiores. Los nervios para el colon ascendente llegan desde el plexo nervioso mesentérico superior.

El colon transversal mide aproximadamente 45 cm de longitud y es la porción más grande y móvil. Cruza el abdomen desde la flexura hepática hasta la flexura esplénica. La flexura esplénica se inserta en el diafragma a través del ligamento frenocólico. El mesenterio del colon transversal (mesocolon transversal) hace un bucle descendente, casi siempre debajo de las crestas ilíacas, y se adhiere a la pared posterior de la bolsa omental. La raíz del mesocolon transversal se sitúa a lo largo del borde inferior del páncreas y se continúa

con el peritoneo parietal por la cara posterior. El colon transversal se mueve con libertad, pero suele colgar a la altura del ombligo. De la irrigación arterial del colon transversal se encarga la arteria cólica media, rama de la mesentérica superior; sin embargo, también recibe irrigación de las arterias cólicas derecha e izquierda. El drenaje venoso corre a cargo de la vena mesentérica superior. El drenaje linfático lo hacen los ganglios linfáticos cólicos medios, que, a su vez, drenan a los ganglios linfáticos mesentéricos superiores. Los nervios del colon transversal proceden del plexo mesentérico superior y transmiten fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas.

Después de la flexura esplénica, el intestino se dobla hacia abajo, transformándose en el colon descendente. Este sigue un trayecto retroperitoneal hasta la fosa ilíaca izquierda, donde se continúa con el colon sigmoide. El peritoneo cubre el colon por delante y a los lados y lo une a la pared posterior del abdomen. Una tercera parte de las personas tiene un mesenterio corto. El colon sigmoide se caracteriza por un asa en forma de S, de longitud variable (suele medir 40 cm), y une el colon descendente con el recto. Se extiende desde la fosa ilíaca hasta el tercer segmento sacro, donde se une al recto. La terminación de las tenias cólicas, a unos 15 cm del ano, indica la unión rectosigmoide. El sigmoide suele disponer de un mesenterio largo y, por tanto, de una gran libertad de movimientos. La raíz del mesocolon sigmoide se inserta en forma de V invertida, que se extiende primero medial y superior por los vasos ilíacos externos y después medial e inferior, desde la bifurcación de los vasos ilíacos comunes hasta la cara anterior del sacro.

La irrigación arterial del colon descendente y sigmoide proviene de las arterias cólica izquierda y sigmoide superior, ramas de la arteria mesentérica inferior. La rama más superior de la arteria sigmoide superior se anastomosa con la rama descendente de la arteria cólica izquierda y forma parte de la arteria marginal del colon. La vena mesentérica inferior retorna la sangre del colon descendente y sigmoide y desemboca en la vena esplénica. Los vasos linfáticos pasan a los ganglios epicólico y paracólico, y luego, a través de los ganglios cólicos intermedios, situados a lo largo de la arteria cólica izquierda. Desde aquí, la linfa llega a los ganglios mesentéricos inferiores que rodean la arteria mesentérica inferior. La linfa de la flexura esplénica puede también drenar a los ganglios mesentéricos superiores. La inervación simpática del colon descendente y sigmoide deriva de la porción lumbar del tronco simpático y del plexo hipogástrico superior, a través de los plexos

situados en la arteria mesentérica inferior y sus ramas. La inervación parasimpática proviene de los nervios esplácnicos de la pelvis.

1.2. Histología

La mucosa del intestino grueso se compone de tres capas: epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa.⁷

El colon tiene un epitelio cilíndrico simple, compuesto por células de absorción de la superficie, células caliciformes y algunas células del sistema neuroendocrino. Las células de absorción son las más numerosas; son células cilíndricas altas que actúan en la digestión y absorción terminal de agua y nutrientes. Las células caliciformes son glándulas unicelulares que elaboran mucina, una capa protectora que reviste la luz. La cifra de células caliciformes se incrementa del ciego al colon sigmoide. Las células del sistema neuroendocrino producen hormonas paracrinas y endocrinas.

El tejido conectivo de la lámina propia está comprimido en hojas delgadas y laxas. El epitelio se invagina en la lámina propia formando glándulas conocidas como criptas de Lieberkühn, que incrementan el área de superficie del intestino. La lámina propia también contiene abundantes células linfoides que ayudan a proteger el revestimiento intestinal de la invasión por microorganismos.

La capa muscular de la mucosa se compone de una capa circular interna y una longitudinal externa de células de músculo liso.

La submucosa del intestino grueso está constituida por tejido conectivo denso irregular, fibroelástico, con un abastecimiento linfático y vascular abundante. Su inervación intrínseca proviene del plexo submucosa de Meissner parasimpático.

La muscular externa se compone de una capa de músculo liso circular interna y una longitudinal externa. La capa longitudinal externa no se continúa en toda su superficie (como sucede en el intestino delgado) sino que se reúne en tres fascículos musculares, las tenias del colon. El tono constante de las tenias forma las haustras del intestino.

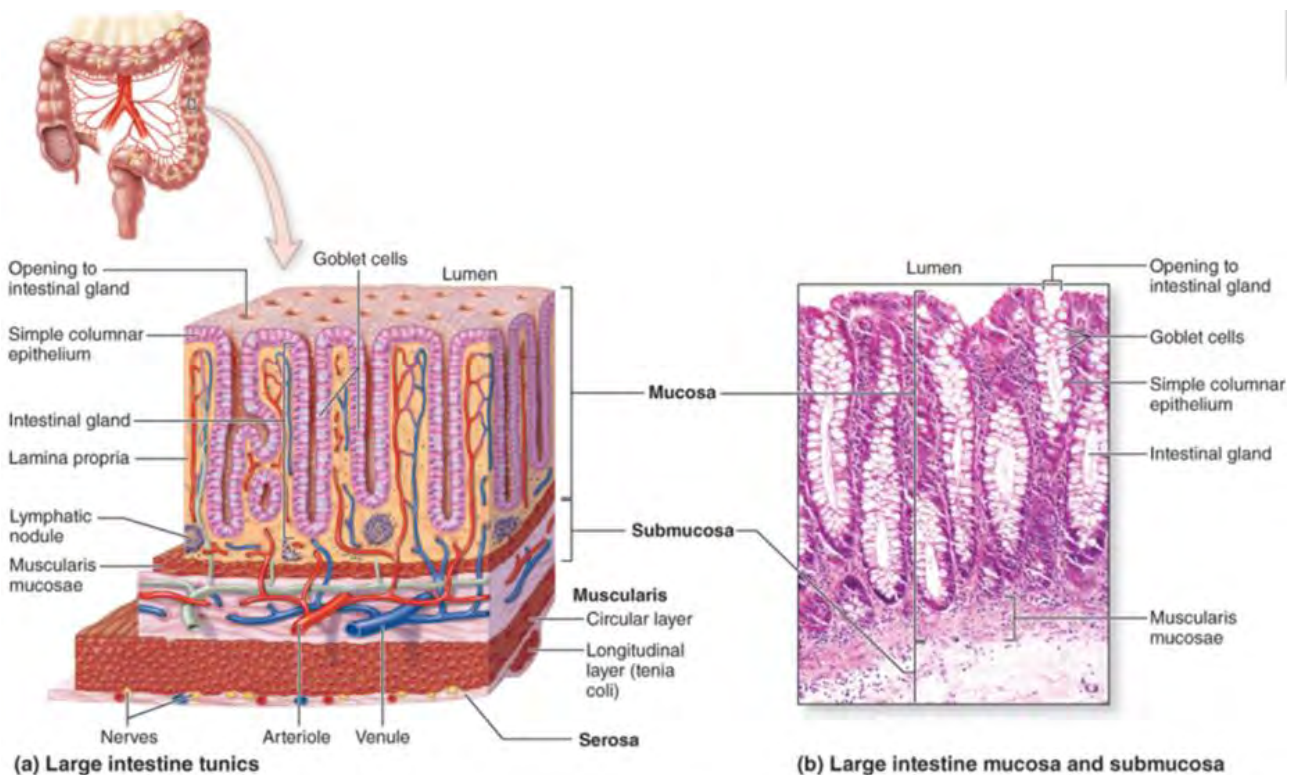


Figura 3. Histología del colon. Tomado de: Junqueira's Basic Histology (accessmedicine.mhmedical.com)

La capa muscular de la mucosa se compone de una capa circular interna y una longitudinal externa de células de músculo liso.

La submucosa del intestino grueso está constituida por tejido conectivo denso irregular, fibroelástico, con un abastecimiento linfático y vascular abundante. Su inervación intrínseca proviene del plexo submucosa de Meissner parasimpático.

La muscular externa se compone de una capa de músculo liso circular interna y una longitudinal externa. La capa longitudinal externa no se continúa en toda su superficie (como sucede en el intestino delgado) sino que se reúne en tres fascículos musculares, las tenias del colon. El tono constante de las tenias forma las haustras del intestino.

La serosa muestra múltiples bolsas llenas de grasa, denominadas apéndices epiploicos.

1.3. Fisiología

La función del colon consiste en absorber agua (alrededor de 1400 ml/día), electrolitos y gases, así como en compactar y eliminar las heces (alrededor de 100 ml/día).⁷

Las heces se componen de agua (75%), bacterias muertas (7%), residuo alimentario (7%), grasa (5%), sustancias inorgánicas (5%) y proteínas no digeridas, células muertas y pigmento biliar (1%).

La acción bacteriana en el colon produce gases compuestos de CO₂, metano y H₂, que a continuación se mezclan con nitrógeno y oxígeno del aire deglutido. El intestino grueso contiene 7 a 10 L de gases al día, de los cuales sólo se expulsan 0.5 a 1 L; el resto se absorbe a través del revestimiento del colon.

El colon también secreta moco y HCO₃⁻. El moco no sólo protege la mucosa, también facilita la compactación de las heces al permitir la adherencia de los desechos sólidos en una masa compacta. El HCO₃⁻ se adhiere al moco y actúa como un amortiguador para proteger la mucosa de los productos accesorios ácidos del metabolismo bacteriano dentro de las heces.

2. CÁNCER DE COLON

2.1. Aspectos epidemiológicos

El cáncer colorrectal es el cuarto lugar en incidencia a nivel mundial con 1,360,602 casos, representando el 9.7% de los casos de cáncer, y la quinta causa de muerte relacionada a cáncer con 693,933 eventos (8.5% del total de muertes por cáncer).¹ Los países con mayor tasa de incidencia se encuentran en Australia y Nueva Zelanda, Europa y Estados Unidos de Norteamérica. Las tasas más bajas están en África y Asia del sur.

Las estadísticas en México lo colocan en el cuarto lugar en incidencia, con 8,651 casos (5.8% del total) y en el séptimo de muerte por cáncer, con 4,694 casos (6% del total).¹

Su frecuencia es ligeramente mayor en hombres que en mujeres y la mortalidad también es mayor en los primeros. Los adenomas y los tumores malignos del colon en hombres tienen una mayor distribución proximal que en mujeres.⁸

La edad es un factor de riesgo mayor. Es poco común antes de los 40 años y su incidencia empieza a incrementarse significativamente entre los 40 y 50 años.⁹ Actualmente no se recomienda el tamizaje para personas menores de 50 años, a menos de que tengan una historia familiar que les predisponga a padecer un síndrome hereditario.

En Estados Unidos se estima que el 35% de los casos de cáncer colorrectal en pacientes jóvenes se asocia a algún síndrome hereditario.¹⁰ Esta tendencia también se ha observado en países con bajos recursos y países en vías de desarrollo.

Existe un cambio gradual hacia la presencia de tumores del colon derecho a nivel global.^{11,12} Esto podría estar relacionado a las mejoras en el diagnóstico y tratamiento, así como en el tamizaje y el retiro de pólipos adenomatosos del colon distal. La colonoscopia es mejor para prevenir el cáncer izquierdo que el derecho, lo cual podría estar contribuyendo a un cambio en la distribución de los tumores del colon. La biología también puede diferir entre los casos de cáncer del colon derecho y el izquierdo. Por ejemplo, los adenomas serrados, que son más planos y difíciles de detectar por endoscopia, y que suelen contener mutaciones de BRAF V600E y dar lugar a inestabilidad microsatelital, son más comunes en el colon derecho. Esto también podría contribuir a un cambio hacia una mayor frecuencia de tumores derechos.

La detección de lesiones premalignas y el reconocimiento temprano de lesiones cancerosas, además de un mejoramiento de las opciones de tratamiento sistémico han llevado a una disminución en la incidencia y la mortalidad del cáncer colorrectal.

2.2. Factores de riesgo

El riesgo de cáncer de colon está influenciado por factores ambientales y factores genéticos. Los factores de riesgo se suelen dividir entre los que están asociados a síndromes hereditarios asociados a cáncer de colon y los no hereditarios. La mayoría de los casos de cáncer colorrectal son de presentación esporádica.

2.2.1. Síndromes de cáncer de colon hereditario¹³

- Poliposis adenomatosa familiar, con sus variantes (síndrome de Gardner, síndrome de Turcot y poliposis adenomatosa familiar atenuada). Representa el 1% de los cánceres colorrectales.¹⁴ Su principal característica es la presencia de cientos a miles de adenomas durante la infancia y es causado por mutaciones en la línea germinal del gen Adenomatous polyposis coli (APC), del cual se hablará más adelante.

- Poliposis asociada a mutación de MUTYH. Se produce por mutaciones germinales en el gen de la glicosilasa de adenina mutY (MUTYH), que codifica para una enzima involucrada en los mecanismos de reparación por escisión de bases por daño oxidativo al ADN. El gen APC es particularmente susceptible a dicho daño.

- Síndromes de poliposis hamartosa. Histológicamente, los hamartomas son pólipos formados por elementos celulares normales, pero con una arquitectura muy distorsionada.¹⁵ Los síndromes asociados a estos incluyen el síndrome de Peutz-Jeghers, el síndrome de poliposis juvenil, los síndromes hamartomatosos asociados al gen de la proteína homóloga de fosfatasa y tensina (*PTEN*) (síndrome de Cowden y de Bannayan-Riley) y el síndrome de Cronkhite-Canada.

- Cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis. También conocido como síndrome de Lynch, es el síndrome de cáncer de colon hereditario más común y representa el 2-3% de los casos.¹⁶ Es originado por una mutación germinal en uno de varios genes del sistema de reparación de errores de apareamiento (MMR). Los genes de MMR se ocupan de mantener la integridad genómica al corregir los errores de bases que pueden surgir durante la replicación del ADN, y promueven la apoptosis de células que contienen estos errores. Estos genes son MutS homólogo 2 (MSH2), MutL homólogo 1 (MLH1), segrega-

ción postmeiótica 1 y 2 (PMS1 y PMS2), MutS homólogo 6 (MSH6) y MutL homólogo 3 (MLH3). La inactivación de estos genes se asocia a un incremento en la tasa de mutaciones en secuencias repetitivas de nucleótidos conocidas como microsatélites. A esto se le conoce como inestabilidad microsatelital (IMS).¹⁷

2.2.2. Factores asociados a cáncer de colon esporádico

- Historia de poliposis o historia de cáncer. Los pacientes con antecedente personal de poliposis o de cáncer colorrectal tienen un riesgo elevado de desarrollar un nuevo cáncer en el colon. La probabilidad de cánceres metacrónicos del colon es del 1.5% a 3% en 5 años.

El pólipo es un término clínico o una descripción macroscópica para denominar un crecimiento localizado que protruye desde la pared hacia la luz intestinal. Según la superficie de fijación pueden ser pediculados o sésiles. Suelen clasificarse en pólipos neoplásicos (adenomatosos y serrados) y no neoplásicos (hamartomatosos, inflamatorios, mucosos y submucosos).

Los pólipos adenomatosos son los pólipos neoplásicos más comunes, se consideran lesiones premalignas por tener un grado de displasia, y se clasifican en tubulares, tubulovillosos y villosos. Por definición no invaden a través de la muscular de la mucosa hacia la submucosa.

Los pólipos serrados son un grupo heterogéneo de pólipos con potencial de malignidad variable, llamados así por el patrón en "dientes de sierra" que adoptan las criptas, e incluye a los pólipos hiperplásicos, los adenomas serrados sésiles y los adenomas serrados tradicionales. Los pólipos hiperplásicos son pólipos no neoplásicos compuestos por células normales y sin displasia, suelen aparecer en recto-sigmoides, y son considerados precursores de los pólipos serrados sésiles, sobre todo cuando son grandes y localizados en el colon derecho.^{18,19,20} Los adenomas serrados sésiles suelen presentarse en el colon proximal e histológicamente se caracterizan por la ausencia de displasia y por tener extensiones horizontales de las criptas a nivel de la muscular de la mucosa en forma de "bota". Se ha descrito una secuencia de adenoma serrado-carcinoma, que incluye inestabilidad microsatelital, mutaciones de BRAF y KRAS, y alta frecuencia de metilación de islas

CpG (citosina [C] seguida de guanina [G]) (fenotipo hipermetilador).²¹ Cuando existe displasia la lesión se clasifica como adenoma serrado sésil con displasia. Los adenomas serrados tradicionales son más frecuentes en sigmoides y recto. Se caracterizan por proyecciones digitiformes del epitelio, formación de criptas ectópicas y una displasia difusa y leve. Se consideran lesiones precursoras, a pesar de que la progresión a cáncer es poco frecuente.²²

- Antecedente familiar de cáncer de colon. Tener un familiar con antecedente de cáncer de colon fuera de los síndromes hereditarios también confiere un riesgo importante. Las personas con un familiar de primer grado con cáncer colorrectal incrementa el riesgo dos veces por encima de la población normal.²³ Un ensayo clínico controlado y aleatorizado sugiere que a los individuos con un familiar de primer grado con cáncer colorrectal diagnosticado antes de los 50 años o dos familiares con cáncer diagnosticado a cualquier edad se les puede realizar una colonoscopia de tamizaje cada 6 años de forma segura.²⁴

- Colitis ulcerativa. La colitis ulcerativa crónica se asocia a tumores malignos del colon.²⁵ La pancolitis confiere un incremento en el riesgo de 5 a 15 veces en comparación con la población general y la enfermedad limitada al lado izquierdo se asocia a un aumento en el riesgo de 3 veces. Los principales determinantes de la aparición de un tumor son la extensión, duración y actividad de la enfermedad. Por otro lado, la enfermedad de Crohn también se asocia a un riesgo elevado de cáncer de colon, pero los datos son menos consistentes.

- Obesidad. Una revisión sistemática y metaanálisis que incluyó datos de 13 estudios reportó que una ganancia de en el peso entre la adultez temprana y la etapa a la mitad de la vida se asocia con un incremento significativo en el cáncer colorrectal (cociente de riesgo [HR] 1.23, IC 95% 1.14-1.34) El riesgo es mayor en personas con la mayor ganancia de peso.²⁶

- Radiación abdominal. Los pacientes supervivientes de tumores de la infancia que recibieron radiación abdominal tienen un riesgo elevado de neoplasias gastrointestinales, especialmente de cáncer colorrectal.^{27,28}

- Raza y género. En Estados Unidos, los afroamericanos tienen la mayor tasa de cáncer colorrectal entre los grupos étnicos. Además, la enfermedad aparece a edades más tempranas y la mortalidad en estos pacientes es 20% más alta que en blancos.²⁹

- Transplante renal. El transplante renal, cuando se asocia a inmunosupresión prolongada se ha asociado a un incremento en el riesgo de cáncer colorrectal. Las tasas de cáncer en pacientes transplantados son similares a las de individuos 20 a 30 años mayores.³⁰

- Diabetes mellitus y resistencia a la insulina. Un metaanálisis de 14 estudios estimó que el riesgo de adquirir cáncer de colon entre pacientes con diabetes es aproximadamente 38% mayor que en aquellos sin diabetes (riesgo relativo [RR] 1.38, IC 95% 1.26-1.51). Una explicación posible para esta relación es la hiperinsulinemia, ya que la insulina es un factor de crecimiento importante para las células de la mucosa del colon.³¹

- Carne roja y procesada. El consumo de carne roja o procesada parece estar asociada a un aumento en el riesgo de cáncer colorrectal, particularmente para tumores del lado izquierdo. Se ha implicado a la cocción con alta temperatura como factor de riesgo, probablemente por la producción de hidrocarburos poliaromáticos.³²

- Tabaco. Un metaanálisis de 106 estudios observacionales estimó el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal entre fumadores de cigarrillos en comparación con quienes nunca han fumado (riesgo relativo [RR] 1.18, IC 95% 1.11-1.25).³³ El riesgo de morir por cáncer también aumenta entre fumadores (RR 1.25, IC 95% 1.14-1.37).

- Alcohol. La asociación de alcohol y cáncer colorrectal también se ha observado en varios estudios. Un metaanálisis de 31 estudios concluyó que existe un incremento en el riesgo de cáncer en bebedores moderados (dos a tres bebidas al día, RR 1.21, IC 95% 1.13-1.28) y en bebedores intensos (más de tres bebidas al día, RR 1.52, IC 95% 1.27-1.81), pero no en bebedores leves (menos de dos bebidas al día).³⁴

- Otros factores de riesgo. Se han estudiado otros factores de riesgo con menos consistencia: terapia de deprivación androgénica, colecistectomía, enfermedad coronaria, mutaciones del gen BRCA, antecedente de cáncer de endometrio y algunos agentes infeccio-

tos (*Streptococcus bovis*, *Helicobacter pylori*, virus JC, virus del papiloma humano, *Fusobacterium* y *E coli*).

2.3. Factores protectores

Se han estudiado varios factores que podrían estar asociados a una disminución en el riesgo de cáncer colorrectal.

- Actividad física. La actividad física regular está asociada a protección contra el cáncer colorrectal. Un metaanálisis de 21 estudios encontró una reducción del 27% de tumores proximales en comparación con personas menos activas (RR 0.73, IC 95% 0.66-0.81) y una reducción de tumores distales de un 26% (RR 0.74, IC 95% 0.68-0.80).³⁵

- Consumo de fibra. Hay varios estudios que han identificado el papel de la fibra dietética en la patogénesis del cáncer colorrectal, sin embargo, el grado de protección que esta confiere es incierto, ya que los estudios epidemiológicos y los ensayos clínicos arrojan resultados discordantes.³⁶

- Folato y ácido fólico. El folato inhibe la patogénesis del cáncer en algunos tejidos, incluyendo el colon.³⁷ Sin embargo, se desconoce si alguno de estos compuestos tiene un papel en la prevención contra el cáncer colorrectal.

- Calcio y productos lácteos. Hay un metaanálisis que evalúa la eficacia de la suplementación con calcio en la prevención de la recurrencia de adenomas colorrectales.³⁸ Este concluyó que el riesgo de recurrencia es significativamente menor en pacientes que recibieron calcio (RR 0.80, IC 95% 0.68-0.93) Además existen estudios epidemiológicos sobre los productos lácteos y el riesgo de cáncer colorrectal, algunos que reportan una asociación y otros que la descartan. Un metaanálisis de 19 estudios de cohorte concluyó que las dietas con alto contenido de lácteos se asocian a una reducción del cáncer colorrectal (RR 0.82, IC 95% 0.74-0.93).³⁹

- Vitamina D. Esta vitamina y sus metabolitos actúan como inhibidores de la progresión del cáncer colorrectal por efectos sobre su iniciación y progresión.⁴⁰ Un metaanálisis que

incluyó nueve estudios de casos y controles mostró que cada incremento de 4 ng/mL en la concentración sérica de 25-hidroxivitamina D, se asoció a una disminución de la prevalencia de cáncer colorrectal del 6%.⁴¹ Además hay un estudio observacional que sugiere la posibilidad de que los niveles plasmáticos bajos de este metabolito podrían estar asociados con una disminución en la supervivencia de pacientes con cáncer de colon.⁴²

- Aspirina y AINEs. El uso regular de aspirina y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se asocia a una reducción en el riesgo de adenomas colónicos y cáncer colorrectal en individuos con riesgo promedio del 20 al 40%. Los reportes a largo plazo de ensayos británicos ahora reportan reducciones del 50% en cáncer de colon luego de un periodo de uso de al menos cinco años.^{43,44} El efecto es más marcado mientras más largo sea su uso. Algunas posibles explicaciones podrían ser un incremento en la apoptosis y una afectación del crecimiento tumoral por medio de la inhibición de la ciclooxigenasa-2.⁴⁵

2.4. Diagnóstico y estadiaje

2.4.1. Presentación clínica

El cáncer colorrectal se suele presentar de tres maneras: por signos y síntomas que elevan la sospecha, por medio de tamizaje en individuos asintomáticos, o debido a una emergencia por obstrucción, peritonitis o sangrado gastrointestinal agudo.

La mayoría de los pacientes con enfermedad temprana no presentan síntomas y se diagnostican por tamizaje.

Los signos y síntomas típicos del cáncer colorrectal incluyen sangrado de tubo digestivo, dolor abdominal, anemia por deficiencia de hierro, cambios en el hábito intestinal, distensión y náusea o vómito.^{46,47}

Los síntomas pueden diferir dependiendo de la localización del tumor. El cambio en los hábitos intestinales y la hematoquecia son más frecuentes en tumores izquierdos, mientras que la anemia por deficiencia de hierro es más común en tumores derechos. Los tu-

mores rectales suelen causar tenesmo, dolor rectal y disminución en el calibre de las heces.

Tabla 1. Signos y síntomas de presentación en cáncer de colon. Tomada de: Moreno CC, Clin Colorectal Cancer, 2016.

Table 3 Symptoms and Findings That Prompted Diagnostic Colonoscopy	
Abnormality Resulting in Diagnostic Colonoscopy	Percentage of Patients (n)
Blood per Rectum	36.5 (114)
Abdominal Pain	33.7 (105)
Anemia	22.8 (71)
Incidental Colonic Hypermetabolic Activity Detected on PET CT Imaging	1.9 (6)
Diarrhea	1.3 (4)
Abnormal Liver Function Tests	1.0 (3)
Brain Metastasis, Colorectal Primary	0.6 (2)
Abnormal Chest Radiograph With Lung Metastases	0.6 (2)
Hematuria With Colovesicle Fistula	0.3 (1)
Hepatic Flexure Mass Seen on MRI Done to Evaluate Fibroids	0.3 (1)
Rectal Mass on Physical Examination	0.3 (1)
Scrotal Bleeding, Colonic Mass Identified on CT Scan Performed To Evaluate for Etiology of Scrotal Bleeding	0.3 (1)
Upper Extremity Deep Vein Thrombus, Colonic Mass Identified on CT Scan Performed to Search For Malignancy as a Potential Etiology of Deep Vein Thrombus	0.3 (1)

Abbreviations: CT = computed tomography; MRI = magnetic resonance image; PET = positron emission tomography.

Los pacientes también pueden presentarse con signos y síntomas de enfermedad metastásica. El cáncer colorrectal se disemina por las vías linfática y hematológica, por contigüidad y transperitoneal. Los sitios más comunes de afectación metastásica son los ganglios regionales, el hígado, los pulmones y el peritoneo. Los pacientes se pueden presentar con signos y síntomas que sugieran cualquiera de estos sitios afectados.

2.4.2. Diagnóstico

Una vez que se tiene la sospecha de cáncer colorrectal, el primer estudio que se debe realizar es una colonoscopia o una radiografía contrastada que puedan localizar y caracterizar la lesión. Se prefiere la colonoscopia porque es necesario contar con un estudio de patología que establezca el diagnóstico.

Generalmente la sigmoidoscopia flexible no se considera un estudio suficiente para el estudio de pacientes con sospecha de cáncer colorrectal, debido a la tendencia de encontrar más tumores en el hemicolon derecho.

El valor diagnóstico de una radiografía contrastada más una sigmoidoscopia flexible es menor que el de la colonoscopia o el de una colonografía por tomografía para la evaluación de síntomas del tracto digestivo inferior.⁴⁸

Además de la colonoscopia, se recomienda realizar los siguientes estudios como parte de la evaluación del cáncer de colon:

- Revisión de laminillas
- Biometría hemática completa
- Química sanguínea
- Antígeno carcinoembrionario
- Tomografía de tórax, abdomen y pelvis

El antígeno carcinoembrionario (ACE) tiene una baja sensibilidad (alrededor de 46%) y especificidad (89%) para detectar el cáncer colorrectal.⁴⁹ Otras causas de elevación del ACE son gastritis, úlcera péptica, diverticulitis, enfermedad hepática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes y otros estados inflamatorios agudos o crónicos.

El nivel del ACE antes de la cirugía tiene un valor pronóstico y sirve en el seguimiento de pacientes con cáncer. Un nivel de ACE elevado durante el seguimiento obliga a descartar una recaída por medio de un estudio de imagen.

2.4.3. Estadaje

Se debe determinar la extensión de la enfermedad para planear un tratamiento y un pronóstico.

El sistema de estadaje de la American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC) es el sistema más utilizado para el estadaje del cáncer colorrectal. Este se basa en la clasificación de TNM (Tumor, Ganglios y Metástasis), cuya última actualización se publicó en el 2010 en base a resultados del registro de Surveillan-

ce, Epidemiology and Results (SEER) de Estados Unidos. El estadiaje patológico (pT, pN, pM) requiere evaluación histológica del espécimen extirpado.

Se prefiere realizar un examen físico y una tomografía que incluya tórax, abdomen y pelvis antes de la cirugía. El resultado de esta tomografía puede cambiar el plan quirúrgico. Puede demostrar la extensión regional del tumor, la presencia de ganglios linfáticos afectados, los implantes peritoneales, la enfermedad metastásica a distancia y algunas complicaciones como obstrucción, perforación y formación de fístula.⁵⁰

Tabla 2. Estadificación por TNM de la AJCC. Tomada de: Edge, AJCC Cancer Staging Manual, 2010.

ANATOMIC STAGE/PROGNOSTIC GROUPS					
Stage	T	N	M	Dukes*	MAC*
0	Tis	N0	M0	–	–
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1–T2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3–T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2–T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1–T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3–T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1–N2	M0	C	C3
IVA	Any T	Any N	M1a	–	–
IVB	Any T	Any N	M1b	–	–

Los pacientes con un cáncer de colon complicado que requiere cirugía de urgencia (por ejemplo, perforación u obstrucción) deben ser sometidos al resto del abordaje luego de que se resuelva el problema agudo.

La resonancia magnética de hígado se suele reservar para pacientes que tienen sospecha de enfermedad metastásica en dicho órgano, pero el resultado de la tomografía no es definitivo, especialmente si se requiere una mejor definición de la carga tumoral para decidir acerca de una resección potencial.

El papel de la tomografía por emisión de positrones (PET) en pacientes con cáncer colorrectal se reserva para la localización de sitios de recurrencia en pacientes con elevación del ACE y estudios convencionales negativos,⁵¹ y en pacientes que podrían ser candidatos para la resección de metástasis hepáticas.

2.5. Tratamiento quirúrgico del cáncer de colon

La resección quirúrgica es el único tratamiento curativo para el cáncer de colon, y se puede indicar en tumores localizados y en pacientes seleccionados con enfermedad metastásica resecable del hígado o pulmón.

El principal objetivo de la resección es la extracción completa del tumor, los pedículos vasculares mayores y la red linfática que drena al segmento colónico afectado. Esto se puede lograr por abordaje abierto o laparoscópico.

Los márgenes proximal y distal deben ubicarse al menos a 5 cm del tumor,⁵² y el número de ganglios resecados en la linfadenectomía para un estadiaje adecuado es de al menos 12.^{52,53} Se recomienda la escisión mesocólica completa para obtener el número adecuado de ganglios.

En tumores con invasión a órganos contiguos o con adherencias inflamatorias que involucren estructuras vecinas está indicada la resección en bloque de las estructuras contiguas, con la opción de una resección multivisceral con márgenes negativos.^{52,53}

El tratamiento de pacientes con estadio IV depende de la presencia o ausencia de síntomas o complicaciones relacionadas al tumor primario, así como de la resecabilidad de las lesiones metastásicas. Si hay metástasis hepáticas o pulmonares potencialmente resecables se requiere un abordaje quirúrgico agresivo para el primario y los depósitos secundarios. Si la enfermedad metastásica es irresecable, los pacientes con síntomas o complicaciones relacionados con el tumor primario deben recibir tratamiento dirigido a su resolución. En general no se recomienda la resección del tumor primario en pacientes asintomáticos con enfermedad metastásica irresecable, a menos de que se quiera evitar una complicación inminente.

3. TRATAMIENTO CON QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE EN CÁNCER DE COLON ESTADIO II

El desenlace del cáncer de colon se relaciona a la extensión de la enfermedad al momento de la presentación. La base de datos de SEER calculó la supervivencia a 5 años de 119,363 pacientes con cáncer de colon en base al estadio clínico por criterios estadiaje de la AJCC del 2002⁶ registrados entre 1991 y el 2000.² Los resultados fueron los siguientes:

Estadio I - 93%

Estadio IIA - 95%

Estadio IIB - 72%

Estadio IIIA - 83%

Estadio IIIB - 64%

Estadio IIIC - 44%

El objetivo de la quimioterapia adyuvante es erradicar las micrometástasis que se encuentran al momento de la cirugía y que contribuyen a la aparición de recurrencias, incrementando así las tasas de curación.

En pacientes con enfermedad en estadio III (ganglios positivos), el beneficio de la quimioterapia adyuvante ha sido demostrado de forma clara (una reducción relativa del riesgo de recurrencia de alrededor del 30%, y una reducción relativa del riesgo de muerte del 22 al 32%). Por otro lado, los beneficios de la adyuvancia en estadios II (ganglios negativos) son menos contundentes, y el uso de quimioterapia en este grupo es variable entre los diferentes grupos de riesgo.

3.1. Beneficio de la quimioterapia basada en fluoropirimidinas

Existen varios ensayos que estudian el valor de la quimioterapia basada en fluoropirimidinas en población combinada (estadios II y III)^{54,55,56,57,58,59,60,61} los cuales muestran un beneficio en supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, en comparación con la cirugía sola. La mayoría de ellos muestran beneficio clínica y estadísticamente significativo para estadios III únicamente.

En contraste con los resultados de otros ensayos exclusivos de pacientes con estadio II, el estudio QUASAR indicó un beneficio en supervivencia libre de recurrencia a 2 años pequeño, pero estadísticamente significativo, en pacientes tratados con 5FU/LV adyuvante (RR 0.71; IC 95%, 0.54-0.92).⁶² Sin embargo, el 64% de los pacientes tuvieron una cosecha menor a los 12 ganglios, lo que significa que los pacientes tenían un riesgo de recurrencia elevado y serían más propensos a tener un beneficio de la adyuvancia.

Los resultados de un meta-análisis de 5 ensayos en el que los pacientes con estadios II habían sido aleatorizados a cirugía sola o cirugía seguida de 5-FU/LV adyuvante, no lograron demostrar un beneficio de la quimioterapia en términos de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.⁶³ Además, el grupo Cancer Care Ontario realizó una revisión sistemática en la que comparó la quimioterapia adyuvante con la observación en pacientes con cáncer de colon estadio II y encontró un beneficio absoluto pequeño en supervivencia libre de enfermedad (5-10%).⁶⁴ Por otro lado, el grupo Adjuvant Colon Cancer End Points (ACCENT) realizó un análisis de nueve ensayos con alrededor de 6900 pacientes con estadio II, en donde la quimioterapia basada en 5-FU se asoció a una mejoría absoluta en supervivencia a 8 años de 5% (72% vs 66.8%; p=0.026).⁶⁵

3.2. Beneficio del oxaliplatino

También se ha evaluado el beneficio de oxaliplatino adyuvante en pacientes con cáncer de colon estadio II. Los resultados a largo plazo de los ensayos MOSAIC y NSABP C-07⁶⁶ muestran que no hay un beneficio clínico significativo de agregar este fármaco a un esquema de quimioterapia con 5-FU/LV en estos pacientes. Esta conclusión también la apoya un análisis del ACCENT que incluyó a más de 12,000 pacientes en los 5 ensayos que incluyeron pacientes tratados con este fármaco, y en donde no hubo beneficio en supervivencia con la adyuvancia.

3.3. Estratificación del riesgo

3.3.1. Factores clínicopatológicos

Para guiar la decisión en cuanto al tratamiento adyuvante de pacientes con estadio II se suelen usar características clinicopatológicas y moleculares, a pesar de que la evidencia que las respalda es relativamente débil.

Los siguientes son factores clinicopatológicos que han demostrado tener un valor pronóstico en pacientes operados por cáncer de colon, y que secundariamente podrían aumentar el beneficio de un tratamiento adyuvante:

- estadio T4
- alto grado tumoral o histología pobremente diferenciada (incluyendo tumores con células en anillo de sello y mucinosos)
- invasión linfovascular
- invasión perineural
- obstrucción o perforación intestinal
- márgenes cercanos, indeterminado o positivos
- muestra ganglionar inadecuada (menos de 12 ganglios en el espécimen)
- un nivel de ACE preoperatorio alto

En las guías de práctica del College of American Pathologists solamente se reconoce la enfermedad T4, el estado ganglionar, la invasión linfovascular, el nivel preoperatorio de ACE elevado y los márgenes positivos como factores pronóstico con categoría I (factores con un valor pronóstico definitivamente comprobado).⁶⁷ Estas guías no han sido actualizadas desde el 2000.

Por otro lado, la American Society of Clinical Oncology (ASCO), la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) y la European Society of Medical Oncology (ESMO) tienen sus definiciones propias de la enfermedad estadio II con alto riesgo.

A pesar de la influencia de estas características en el pronóstico, existe poca evidencia de que los pacientes con alguno de estos factores se benefician más de recibir quimioterapia. Algunos estudios que evalúan el beneficio de la quimioterapia en subgrupos de estadio II con alto riesgo son:

- Un estudio del North Central Cancer Treatment Group (NCCTG) que reclutó pacientes con estadios II y III ha sido el único que hizo una selección estricta de pacientes con esta-

dio II de alto riesgo para que recibieran quimioterapia basada en 5-FU.⁶⁸ Estos pacientes tuvieron un beneficio claro en la población combinada, pero los resultados no se estratificaron por etapa clínica.

- En el estudio MOSAIC los pacientes con estadio II y riesgo alto (T4, pobremente diferenciados, perforados, obstruidos, o <10 ganglios linfáticos en la muestra) mostraron una tendencia a mejorar la supervivencia libre de enfermedad con FOLFOX en comparación con 5-FU, sin embargo, el estudio no tuvo un brazo de cirugía sola. La supervivencia global fue similar en ambos brazos con tratamiento adyuvante.

- Un análisis del SEER que incluyó alrededor de 25,000 pacientes mayores de 65 años también fracasó en mostrar una ventaja en supervivencia de la adyuvancia en pacientes con estadio II, (HR para muerte de 1.02, IC 95% 0.84-1.25) en comparación el estadio III, donde sí hubo una mejoría al dar tratamiento (HR para muerte de 0.64, IC 95% 0.60-0.67).⁶⁹ El riesgo alto se definió por la presencia de obstrucción, perforación, T4, histología pobremente diferenciada o indiferenciada, y menos de 12 ganglios examinados.

- En contraste con los resultados previos, un análisis de la base de datos de la British Columbia Cancer Agency, la cual incluyó 1286 pacientes, sugiere un beneficio de la quimioterapia en pacientes con T4, pero no con otros factores de riesgo alto como obstrucción, perforación, menos de 12 ganglios, invasión linfocelular o perineural, o histologías pobremente diferenciados.⁷⁰

A pesar de la falta de ensayos aleatorizados que apoyen el beneficio de la adyuvancia en pacientes con estadios II y factores de alto riesgo, los principales grupos como ASCO y la NCCN sugieren que se tomen estos factores para medir los beneficios potenciales de la quimioterapia adyuvante en el cáncer de colon estadio II.

La decisión de usar tratamiento adyuvante en pacientes con estadio II debe basarse en una discusión con el paciente, después de darle una explicación sobre las características de la enfermedad y su pronóstico, así como la evidencia de la eficacia y las toxicidades asociadas al tratamiento.

3.3.2. Factores moleculares

Algunos datos moleculares que se han estudiado como factores con valor pronóstico y predictivo son la delección de 18q, la sobreexpresión de la timidilato sintetasa, las muta-

ciones de KRAS, BRAF y p53, la MSI/dMMR, la falta de expresión del factor de transcripción CDX2, la hipermetilación (inactivación epigenética) de genes de las vías de matriz extracelular, y los perfiles de expresión genómica (Oncotype, ColoPrint, ColoGuideEx, y otras firmas), así como la presencia de células tumorales circulantes.

- Inestabilidad microsatelital (MSI) y deficiencia en el sistema de reparación de errores de apareamiento (dMMR)

Un 15 a 20% de los cánceres colorectales tienen una deficiencia esporádica o heredada (síndrome de Lynch) en una de las proteínas de reparación de errores de apareamiento (MMR), principalmente en MLH1 o MSH2. La inestabilidad microsatelital alta (MSI-H) es la manifestación biológica de la deficiencia en el sistema de reparación de errores de apareamiento (dMMR) del ADN.

La dMMR es más frecuente en estadios II que en estadios III (21% vs 14%).⁷¹ La localización de estos tumores es más frecuente en el colon proximal y tienen una histología mucinosa. Tienen un mejor pronóstico y un menor riesgo de recurrencia en pacientes con estadio II que los que tienen estabilidad microsatelital (MSS), lo cual parece atenuarse en presencia de la mutación de BRAF, que es un hallazgo que apunta hacia la presencia de un tumor esporádico con fenotipo hipermetilador, más que un tumor propio de un síndrome de cáncer de colon hereditario no asociado a poliposis.⁷²

La presencia de MSI-H o dMMR también parece estar relacionada a una resistencia relativa, e incluso a un daño potencial asociado al uso de fluoropirimidinas. Una revisión sistemática de 32 estudios estratificó la supervivencia de pacientes con cáncer colorrectal por estado de la MSI y mostró una falta de beneficio de la adyuvancia con 5-FU (HR para muerte = 1.24).⁷³

Otro análisis combinado del estado de la MSI o de las proteínas del MMR de 457 especímenes de pacientes con cáncer estadio II o III reclutados en ensayos de adyuvancia tuvo conclusiones similares.⁷⁴ El tratamiento sistémico adyuvante con 5-FU mejoró la supervivencia en pacientes con estadio III con el MMR competente (pMMR, MSS), no así en tumores con dMMR, en relación a quienes no recibieron tratamiento (HR para supervivencia libre de enfermedad = 1.39, IC 95% 0.46-4.15).

El estado de dMMR pronostica un mejor desenlace en pacientes tratados con cirugía, pero la adyuvancia con 5-FU no se asocia a un beneficio en supervivencia en este subgrupo. Esta resistencia al 5-FU podría deberse a la incorporación de los metabolitos de 5-FU al ADN o por sobreexpresión de sus blancos, timidilato sintetasa y/o dihidropirimidina deshidrogenasa en tumores con dMMR.⁷⁵

Se desconoce si la falta de beneficio con 5-FU adyuvante se puede superar al agregar oxaliplatino. No hay ensayos prospectivos que comparen regímenes de adyuvancia con y sin oxaliplatino en pacientes con tumores con dMMR.

Al menos dos análisis confirman el valor pronóstico de la dMMR pero no su capacidad predictiva. En el primero se evaluaron las muestras de 1913 pacientes tratados en el estudio QUASAR.⁷⁶ Los pacientes con tumores con dMMR tuvieron un riesgo de recurrencia de la mitad que aquellos con pMMR (RR 0.53, IC 95% 0.40-0.70), además de que tuvieron un pequeño beneficio de recibir quimioterapia en comparación con los que no la recibieron (OR para recurrencia = 0.81, IC 95% 0.29-2.22). Este beneficio pequeño se repitió en el estudio de las muestras de 2141 pacientes con cáncer estadio II o III tratados dentro de ensayos de adyuvancia basada en 5-FU.⁷⁷ Entre los pacientes con estadio III, el tratamiento basado en 5-FU se asoció a una disminución en las recurrencias a distancia en comparación con quienes no recibieron tratamiento (11% vs 29%, p=0.01)

- Mutación del gen *BRAF*

La presencia de una mutación de *BRAF* en un paciente con cáncer colorrectal con dMMR es un indicador de mal pronóstico. Estas mutaciones también podrían ser un factor pronóstico negativo en casos de cáncer de colon estadio II con pMMR. Algunos estudios que apoyan esto son:

- Un análisis de datos de tres ensayos de quimioterapia adyuvante en pacientes con estadios II y III encontró que la mutación de *BRAF* no pronostica la supervivencia libre de recurrencia, pero sí la supervivencia global en pacientes con tumores con inestabilidad microsatelital baja (MSI-low, MSI-L) y MSS (HR para muerte = 2.2, IC 95% 1.4-3.4).(Roth, 2010)

- Un estudio de pacientes con cualquier estadio, la mutación de BRAF V600E se vio en el 5% de tumores MSS y en el 52% de tumores MSI-H.⁷⁸ Los pacientes con tumores con MSI-H tuvieron una supervivencia a 5 años excelente, independiente del estado de la mutación V600E, mientras que en tumores con MSS la presencia de la mutación empeoró la supervivencia a 5 años significativa (17 vs 60%).
- En un análisis combinado de 2299 pacientes incluidos en dos ensayos del NSABP, que midió el valor de la quimioterapia en pacientes con estadios II o III, las mutaciones de BRAF se asociaron con una supervivencia pobre.⁷⁹ La supervivencia a 5 años fue mayor en pacientes con tumores con dMMR y BRAF no mutado (90%) y peor en pacientes con pMMR y BRAF mutado (69%), mientras que esta fue intermedia en pacientes con tumores con pMMR y BRAF no mutado (82%) y con dMMR y BRAF mutado (84%).
- Un reporte de datos del ensayo PETACC-3 de adyuvancia, el cual se realizó en pacientes con estadios II y III, estableció que la mutación de BRAF V600E es un marcador asociado a menor supervivencia libre de recurrencia y supervivencia global en pacientes con tumores izquierdos con MSS (HR para muerte = 6.4, IC 95% 3.6-11.5) pero no para los derechos o con MSI-H.⁸⁰

4. ASPECTOS GENÉTICOS DEL CÁNCER

El cáncer es una enfermedad con implicaciones genéticas en su patogenia, que surge de la acumulación de distintas alteraciones moleculares en el genoma de las células somáticas. Estas alteraciones pueden producir cambios en los procesos de crecimiento, diferenciación, proliferación y muerte celular, dando lugar al origen y la evolución de los tumores.

El genoma humano haploide (con una sola representación de cada par de cromosomas) tiene un aproximado de 20,000 a 25,000 genes que codifican para diferentes proteínas, contenidos en unos 3,200 millones de pares de bases de ácido desoxirribonucleico.⁸¹

Los seres humanos del mismo sexo comparten el 99.9% de su secuencia de ADN, sin embargo, su variabilidad fenotípica se debe a pequeñas variaciones en sus genes, conocidas como polimorfismos o alelos.⁸²

La principal fuente de variabilidad en el genoma de los seres humanos procede de las sustituciones de nucleótido único o polimorfismos de nucleótido único (SNP). Estos son detectables a gran escala mediante microarreglos de ADN y han sido útiles como marcadores para los mapas de ligamiento. Las otras variaciones se refieren a duplicaciones, inversiones, inserciones o variantes en el número de copias del genoma.

Una mutación es una alteración en la secuencia de los nucleótidos de un genoma, la cual puede tener diferentes efectos en la salud. Pueden afectar una secuencia codificante (produciendo proteínas incorrectas), una secuencia reguladora (alterando el nivel de expresión de un gen), o puede ocasionar alteraciones cromosómicas, numéricas o estructurales.

Las mutaciones se consideran anormales y pueden dar lugar a enfermedades, mientras que los polimorfismos son variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos y otros.

Antes del esclarecimiento del genoma humano ya se habían descubierto varios genes relacionados al cáncer, tales como *KRAS*, *TP53* y *APC*, por medio de análisis de oncovirus, mapas de ligamiento o cartografía genética, pérdida de heterocigocidad, y citogenética.

En el 2002 se publicó uno de los primeros perfiles mutacionales de genes involucrados en la génesis del cáncer.⁸³ Este trabajo mostró que el gen *BRAF* se encuentra frecuentemente mutado en melanomas (66%), y con una frecuencia menor en otros tipos de cáncer. Luego se evidenció que las mutaciones de *BRAF* son mutuamente excluyentes con las de *KRAS*, lo cual ayudó a descubrir que estos genes forman parte de la misma vía de señalización.^{83,84}

La familia de genes fosfatidilinositol 3-kinasa (*PI3K*) también juega un papel importante en la proliferación, adhesión, supervivencia y motilidad celular. Gracias a la secuenciación de los exones de su dominio cinasa se logró evidenciar que el gen *PIK3CA*, el cual codifica para una de las subunidades de PI3K, puede sufrir mutaciones somáticas en 32% de los cáncer colorrectales, 36% de carcinomas de endometrio, y 25% de los cánceres de mama.⁸⁵ *PI3K* y *KRAS* son los dos oncogenes con mayor frecuencia de mutaciones en tumo-

res malignos humanos. Asimismo, las mutaciones de *PI3K* y del gen de la proteína homóloga de fosfatasa y tensina (*PTEN*) no suelen ocurrir juntas en el mismo tumor, lo cual apoya el hecho de que pertenecen a la misma vía.⁸⁶

Con el advenimiento de técnicas de secuenciación de segunda generación se ha logrado detectar la mayoría de las mutaciones somáticas implicadas en la formación de tumores.^{87,88,89} Además, en los últimos años se han desarrollado varias herramientas de bioinformática que comparan los datos genéticos de un tumor con datos de tejido sano del mismo paciente, siendo capaces de detectar distintas manifestaciones de estas mutaciones, como las SNP, inserciones pequeñas y deleciones, reorganizaciones cromosómicas extensas, y variaciones en el número de copias.⁸⁷ Un ejemplo de cambios en la secuencia de los nucleótidos es el que ocurre con *BRAF*.

Las sustituciones de nucleótidos son las mutaciones somáticas más frecuentes en tumores malignos. En promedio se encuentra un cambio de nucleótido por millón de bases, pero los melanomas y los tumores con deficiencias del sistema de reparación de errores de apareamiento llegan a alcanzar tasas de mutación hasta 10 veces mayores.

El conocimiento del genoma del cáncer ha hecho posible la clasificación molecular de algunos tumores en base a la frecuencia y distribución de las mutaciones que presentan. Este análisis molecular ha dado lugar a nuevas perspectivas sobre los mecanismos alterados en cada cáncer particular y ha facilitado la asociación entre la información genómica, los aspectos epidemiológicos, las manifestaciones clínicas y el descubrimiento de blancos terapéuticos.

El cáncer de pulmón y el cáncer colorrectal son ejemplos de que las distintas mutaciones pueden definir la taxonomía histológica de un tumor. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una proteína de superficie celular cuyo ligando es el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Dicho receptor tiene una cinasa de tirosina que cuando se encuentra mutada, define a un subtipo de carcinomas de pulmón de células no pequeñas, que es más frecuente en pacientes del género femenino, no fumadores, con un origen asiático, y con histología de adenocarcinoma.⁹⁰ Este subtipo de tumores confiere un factor predictivo de respuesta a terapia dirigida contra el EGFR.^{91,92,93} Por otro lado, la fusión de

los genes *EML4* y *ALK* (fusión *EML4-ALK*) define otra subdivisión, con implicaciones distintas desde el punto de vista epidemiológico, biológico y terapéutico.⁹⁴

El cáncer colorrectal se suele categorizar en base al perfil mutacional de genes involucrados en la vía de *KRAS*. Las mutaciones de *KRAS* ocurren en 40% de los casos y las de *BRAF* en el 10%, aproximadamente.

5. ASPECTOS BIOMOLECULARES DEL CÁNCER COLORRECTAL

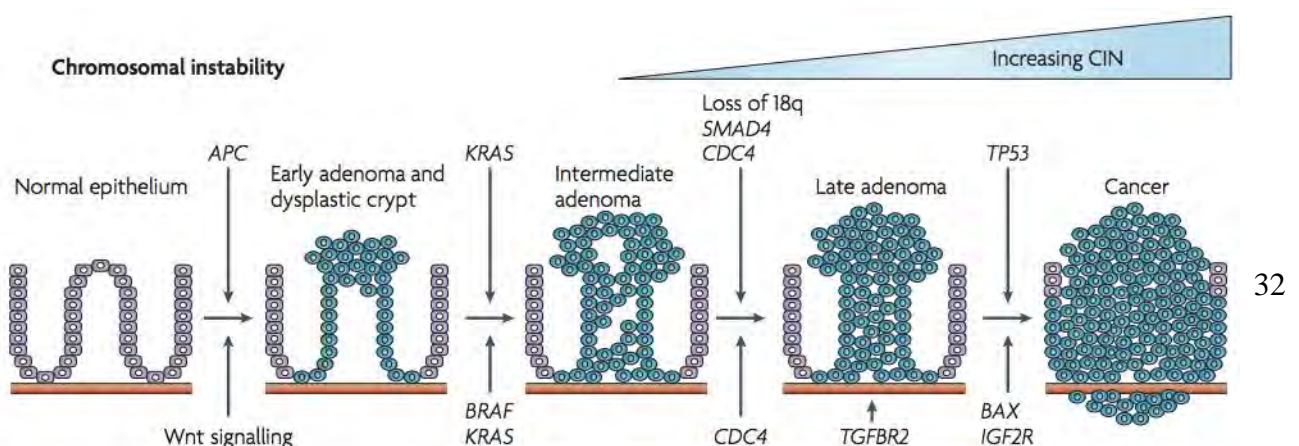
La transformación de un epitelio colónico normal o un cáncer invasor sucede debido a cambios genéticos específicos. Las mutaciones pueden ser heredadas o adquiridas. Debido a que estas mutaciones suelen conferir una ventaja de crecimiento selectivo, pueden resultar en proliferación de la célula que contiene el material genético mutado (evolución clonal). De la nueva población clonal puede haber una célula que adquiera una segunda mutación y una ventaja de crecimiento clonal adicional. La adquisición secuencial de otras mutaciones produce la aparición de más grupos de expansión clonal y eventualmente la habilidad para invadir y metastatizar.

Las mutaciones en la línea germinal dan lugar a los síndromes hereditarios, mientras que los tumores esporádicos resultan de la acumulación de mutaciones somáticas.

El cáncer colorrectal surge a partir de pólipos benignos en la mucosa intestinal.

Las mutaciones en el gen adenomatosis polyposis coli (*APC*) ocurren de manera temprana en el proceso de formación de cánceres colorrectales heredados y esporádicos, mientras que las mutaciones del gen supresor de tumores *p53* suceden de manera tardía.

Figura 4. Secuencia adenoma-carcinoma. Tomado de: Walther, Nat Rev Cancer, 2009



Además de las mutaciones puntuales, otros cambios genéticos implicados en la génesis de los tumores incluyen la alteración en la metilación de ADN, así como rearrreglos, ampliaciones, sobreexpresiones y deleciones genéticas.

El evento necesario para dar inicio a la cancerogénesis es la aparición de mutaciones en las vías de señalización (Wingless type) Wnt.

Las vías Wnt transportan señales a partir de receptores de superficie de la familia Frizzled (Fzd) hacia dentro de la célula.⁹⁵ La activación de estos receptores recluta a la proteína Dishevelled (Dvl), que posteriormente es fosforilada y activada.

Existe una vía canónica y dos vías no canónicas. La diferencia entre estas categorías es que la vía canónica involucra a la proteína Beta-catenina, mientras que las no canónicas trabajan con independencia de esta. Las vías no canónicas son la vía de polaridad celular planar y la vía Wnt/calcio. La vía canónica conduce a la regulación de la transcripción génica. La no canónica de polaridad celular planar participa en la organización del citoesqueleto, la disposición celular dentro del epitelio, y la migración. La vía de Wnt/calcio estimula la liberación intracelular de calcio del retículo endoplásmico y también participa en el movimiento celular.

La vía canónica ocasiona que la Beta-catenina se acumule en el citoplasma y se transloque al núcleo como coactivador de factores de transcripción. Además, la activación de Dvl bloquea al complejo proteico citoplasmático formado por las moléculas axina, GSK y adenomatosis polyposis coli (APC), encargado de la degradación de la Beta-catenina.

La inactivación de *APC* suele ser el paso inicial en el desarrollo de la mayoría de los pólipos en el desarrollo del cáncer heredado y el esporádico.

5.1. Vías moleculares asociadas a la génesis de tumores colorrectales

Luego de las mutaciones en la vía Wnt pueden ocurrir otros caminos que contribuyen a la acumulación de más mutaciones.

a. Vía de la inestabilidad cromosómica

El 80% de casos de cáncer colorrectal presenta inestabilidad cromosómica.⁹⁶ Esta se asocia a mutaciones que activan vías que promueven el crecimiento (p. ej, *KRAS*) o que disminuyen la actividad de genes supresores como P53.

Los tumores con inestabilidad cromosómica pueden ser heredados (como en el caso de la poliposis adenomatosa familiar) o esporádicos, y se caracterizan por anomalías cromosómicas que incluyen deleciones, inserciones y pérdida de heterocigosidad.

Los carcinomas con alteraciones en la vía de la inestabilidad cromosómica suelen ser *BRAF* wild type.

b. Vía de la reparación de los errores de apareamiento / Fenotipo mutador

El 20% de los cánceres de colon tiene defectos en el sistema de reparación de errores de apareamiento del ADN (MMR), una vía biológica destinada a mantener la estabilidad genómica,⁹⁷ lo cual resulta en inestabilidad microsatelital alta (MSI-H).⁹⁸

Las enzimas de MMR se ocupan de mantener la integridad genómica al corregir los errores de bases que pueden surgir durante la replicación del ADN. Esta vía falla cuando las enzimas no son funcionales, como resultado de la mutación de uno de sus genes, más frecuentemente *MLH1* o *MSH2*. Las células con una capacidad de reparación deficiente pueden acumular errores a lo largo del genoma, principalmente en secuencias repetitivas de nucleótidos llamadas microsatélites.

Estos defectos pueden ocurrir de forma esporádica y en asociación con la formación de pólipos adenomatosos o serrados, teniendo como resultado una predisposición familiar para cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis o síndrome de Lynch. Sin embargo, en la mayoría de los casos esporádicos, el silenciamiento de los genes MMR no se debe a una mutación específica, sino a la hipermetilación del gen promotor de la enzima MMR (generalmente *MLH1*), lo que conlleva un silenciamiento transcripcional del gen.

c. Vía del fenotipo hipermetilador

El ADN puede ser metilado por medio de la adición de un grupo metilo a una base de citosina. Como la secuencia de ADN no se altera, esto se considera un fenómeno epigenético y no genético.

La hipermetilación de las enzimas de MMR es un paso crítico que da lugar a inestabilidad genómica.^{99,100} Una característica frecuente de esta vía es la alta frecuencia de metilación de islas CpG (citosina [C] seguida de guanina [G], unidas por un enlace de fosfodiéster). El fenotipo metilador de islas de CpG es la metilación de regiones promotoras de varios genes, incluyendo supresores tumorales y genes de reparación de ADN, la cual lleva al silenciamiento de estos genes.

Los tumores colorrectales que surgen de adenomas serrados y pólipos hiperplásicos suelen asociarse a un fenotipo hipermetilador.

5.2. Alteraciones moleculares específicas

Los tumores del colon pueden tener diferentes alteraciones en los oncogenes, los genes supresores de tumores y los genes de la MMR, así como fenómenos epigenéticos como hipometilación e hipermetilación del ADN.

5.2.1. Oncogenes

- RAS

El oncogen RAS existe en tres variantes celulares, *HRAS*, *KRAS* y *NRAS*. Entre estos, *KRAS* es el que sufre mutaciones en humanos más frecuentemente. Estos genes codifican para proteínas que regulan el paso de señales extracelulares hacia dentro de la célula y el núcleo.

Las mutaciones de RAS, típicamente mutaciones puntuales, hacen a la proteína resistente a la hidrólisis de GTP por la GTPasa, dejándola como una proteína unida a GTP con activación constitutiva y en un estado de estímulo continuo. La mutación de KRAS ocurre durante la progresión de adenoma a carcinoma y se ha encontrado en alrededor del 40% de casos de cáncer colorrectal⁸⁴ y en 50% de los adenomas mayores de 1 cm.

Es raro encontrar la mutación de RAS en adenomas menores a 1 cm, lo cual sugiere que estas mutaciones se adquieren de forma tardía en la progresión de adenomas.¹⁰¹

Al menos dos estudios sugieren que las mutaciones de RAS son más frecuentes en cánceres proximales que en distales.^{102,103}

5.2.2. Genes supresores de tumores

A nivel celular, los genes supresores de tumores actúan de forma recesiva, lo cual significa que la función de la proteína normal sólo se pierde cuando las dos copias del gen (alelos) se inactivan por mutaciones puntuales, rearrreglos o deleciones. Las formas heredadas del cáncer requieren una mutación en la línea germinal, más una segunda mutación somática que ocurre más tarde en el desarrollo. En las formas no heredadas, ambas mutaciones surgen espontáneamente en una célula del órgano afectado (ambas son somáticas).

El concepto de pérdida de heterocigosidad se refiere al fenómeno por el cual un cromosoma pierde uno de los alelos de un gen, por deleción u otro mecanismo. Cuando una célula pierde heterocigosidad por la falta de un gen supresor tumoral aumenta la probabilidad de la aparición de un cáncer.

En cáncer colorrectal se ha detectado pérdida de heterocigosidad en los cromosomas 5q (la localización del gen APC), 18q (la ubicación de los genes DCC, SMAD4 y SMAD2) y 17q (localización del gen TP53)

- Gen APC

El gen supresor de tumor APC es uno de los principales genes en el desarrollo temprano del cáncer colorrectal. El 80% de cánceres esporádicos tienen mutaciones somáticas en ambos alelos, y la mutación sencilla de este gen en la línea germinal es responsable de la poliposis adenomatosa familiar.

La proteína APC wild type o normal previene la acumulación de la Beta catenina citoplasmática e intranuclear por medio de su fosforilación y degradación. La pérdida de la función de APC resulta en una acumulación nuclear de la Beta catenina, la cual se une al factor de transcripción Tcf-4 y lo activa.¹⁰⁴ El resultado final es la proliferación celular.

Las mutaciones de APC se asocian a inestabilidad cromosómica, lo que predispone a la célula a sufrir “ataques” en otros genes que podrían contribuir a progresión tumoral y transformación maligna.

Se cree que una mutación de APC en la línea germinal podría contribuir al desarrollo del cáncer colorrectal familiar en judíos Ashkenazi. El 28% de personas de esta raza con historia personal y familiar de cáncer colorrectal tiene una transversión de timina por adenina en el gen APC, en comparación con el 6% de las personas sin estos antecedentes.¹⁰⁵

- Gen TP53

El gen *TP53*, ubicado en el cromosoma 17p es el gen más frecuentemente mutado en el cáncer en humanos. El 50 a 70% de los cánceres colorrectales presentan pérdida de ambos alelos e inactivación de *TP53*.¹⁰⁶ El gen *TP53* rara vez está perdido en adenomas, lo cual sugiere que la pérdida de p53 representa un evento relativamente tardío en la tumorigenesis.¹⁰⁷

El gen *TP53* produce la proteína p53, la cual se une al ADN y actúa como activador transcripcional de al menos 20 genes inhibidores del crecimiento. Generalmente las células detienen su crecimiento en respuesta a agresores del ADN (p. ej, moléculas e hipoxia) por medio de la activación de p53.

Las mutaciones de TP53 en la línea germinal podrían estar asociadas a cáncer colorrectal a edades tempranas. Un reporte del Colon Cancer Family Registry de Estados Unidos identificó estas mutaciones en 6 de 457 individuos (1.3%) con cáncer colorrectal diagnosticado antes de los 40 años.¹⁰⁸

Varios estudios han mostrado que los pacientes cuyos tumores tienen mutaciones de TP53 tienen peores desenlaces y menor supervivencia que aquellos sin estas, sin embargo, en la actualidad se desconoce el valor clínico de este hallazgo.¹⁰⁶

- Cromosoma 18q: los genes DCC, SMAD4 y SMAD2

La región 18q se encuentra perdida en el 73% de los cánceres colorrectales y en 47% de adenomas con focos de carcinoma invasor, pero en menos del 15% de adenomas menos avanzados.¹⁰⁹ El gen suprimido en cáncer colorrectal (*DCC*) se encuentra en 18q21 y se desconoce su función normal exacta, pero se han identificado mutaciones de este gen en cáncer colorrectal.¹¹⁰ La pérdida de la expresión del gen *DCC* podría tener un valor pronóstico negativo en pacientes con cáncer colorrectal temprano.¹¹¹

Otro gen supresor en 18q que se identificó durante la investigación de pérdidas de alelos en cáncer pancreático es el gen suprimido en cáncer de páncreas (*DPC4*), ahora más conocido como *SMAD4*. Este gen codifica una proteína que forma parte de la vía del factor de crecimiento transformador-beta (TGF-beta). Las proteínas TGF-beta se unen a sus receptores transmembrana tipo I (TGFBR1) y tipo II (TGFBR2), y suprimen el crecimiento celular, pero algunas células tumorales son resistentes a su efecto.¹¹²

El gen *SMAD2* también se encuentra en 18q y la mutación en este gen supresor también se ha encontrado en cánceres colorrectales esporádicos.¹¹³

5.2.3. Otros genes

Existen otros genes que parecen tener un papel importante en la carcinogenesis colorrectal, sin embargo no se ha definido su papel exacto y su mecanismo dentro de la tumorigenesis. Algunos de ellos son:

- COX-2
- PPAR
- PI3K

6. LA VÍA DE PI3K

La fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) es una familia de enzimas heterodiméricas asociadas a una gran diversidad de funciones celulares, que incluyen crecimiento celular, proliferación, supervivencia y migración, así como al desarrollo del cáncer.^{114,115} La familia de PI3K incluye tres clases (I, II y III) que se distinguen por su estructura y función. Esta enzima tiene una de cinco posibles subunidades reguladoras, llamadas p85a, p55a, p50a, p85beta o p55gamma, unida a una de cuatro subunidades catalíticas, llamadas p110a, p110beta, p110delta o p110gamma. Las subunidades reguladoras son codificadas por los genes *PIK3R1*, *PIK3R2* y *PIK3R3*, mientras que las subunidades catalíticas se expresan a partir de los genes *PIK3CA*, *PIK3CB*, *PIK3CD* y *PIK3CG*.^{114,116} Las mutaciones somáticas que se han relacionado a una inducción en la activación de PI3K suelen encontrarse en los genes *PIK3CA* y *PIK3CB*.¹¹⁷ El subgrupo de PI3K que más se ha asociado a cáncer en humanos es el IA.¹¹⁶

A partir del análisis de pólipos y de tumores de cáncer colorrectal se ha mostrado que existen mutaciones del gen *PIK3CA*, que codifica para p110alfa, en 6% de lesiones no malignas.¹¹⁸ Este estudio sugiere que estos podrían ser cambios tempranos en la tumorigenesis del cáncer colorrectal; sin embargo, también se ha descrito que las mutaciones de *PIK3CA* son eventos tardíos en la secuencia de adenoma-carcinoma.¹¹⁷ Por otro lado, se desconoce cuál es la contribución de *PIK3CB* en la transición de pólipos a carcinomas.

Los adenomas colorrectales y los carcinomas suelen mostrar una fuerte expresión de AKT, lo cual apoya la teoría de que la sobreexpresión de esta molécula es otro evento temprano en la transformación maligna.¹¹⁹

PTEN es un regulador negativo de PI3K y se ha demostrado una disminución en la expresión de PTEN en 46% de pólipos adenomatosos, mientras que todos (100%) los especímenes de mucosa colónica normal expresan PTEN.¹²⁰

La activación de PI3K se da de forma fisiológica por medio de un estímulo extracelular, vía cinasas de tirosina de receptores transmembrana o por estimulación de RAS activado.¹²¹ Tras uno de dichos estímulos, p85 se une a los residuos de tirosina localizados en el dominio intracelular del receptor, causando una pérdida del efecto inhibitorio de p85 sobre p110, y la consecuente activación de PI3K. PI3K fosforila al fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) para formar fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), y la acumulación de PIP3 en la membrana celular conlleva el reclutamiento de AKT y su fosforilación por PDK1 y mTORC2.

La proteína AKT promueve el crecimiento y la supervivencia celular por 3 mecanismos principales: inhibición de proteínas proapoptóticas de la familia bcl-2; aumento en la degradación de p53 (una proteína supresora de tumores); y aumento en la transcripción de genes antiapoptóticos. Además, AKT estimula el grupo de proteínas blanco de rapamicina de mamíferos (mTOR), que a su vez incrementa la síntesis proteica.¹¹⁵

mTOR actúa en medio de una red que integra señales de los receptores de factores de crecimiento, regulando el crecimiento y el tamaño tumoral. La hace en parte, controlando la transcripción de varios mRNA a proteínas. Existe en dos complejos conocidos como complejo TOR 1 (TORC1) y 2 (TORC2). Los análogos de rapamicina sólo inhiben a TORC1, que es el principal responsable de la fosforilación río abajo de proteínas como S6K1/2 y 4E-BP1, que regulan la transcripción de proteínas.

La principal proteína reguladora de la vía de PI3K es PTEN, una molécula supresora de tumor que defosforila PIP3 a PIP2.¹²¹ La disminución de la actividad de PTEN puede darse por medio de mutaciones somáticas o por medio de silenciamiento epigenético por hipermetilación de promotor. Por otro lado, las células deficientes en PTEN dependen de

PIK3CB y su producto p110beta para activar a PI3K, por lo que se han desarrollado terapias dirigidas contra *PIK3CB* en pacientes con tumores con función disminuida de PTEN.¹²²

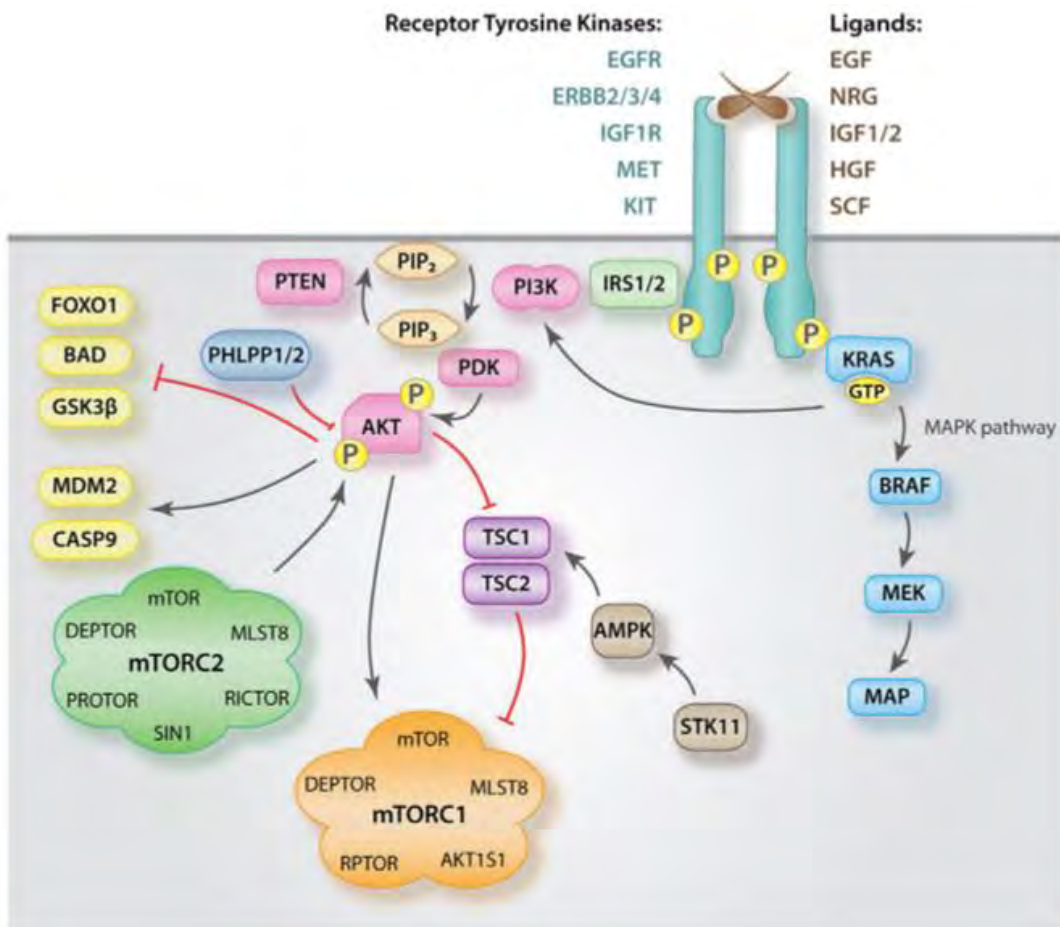


Figura 4. Componentes de la vía PI3K/AKT en cáncer colorrectal. Tomado de: Danielsen SA, Biochim Biophys Acta, 2015

Se desconoce el papel exacto de PI3K en las vías de la carcinogénesis del colon.

6.1. PI3K en cáncer colorrectal

a. Cáncer colorrectal resecable

Mientras que en pacientes con cáncer colorrectal estadio III el estándar de tratamiento incluye la adyuvancia con quimioterapia, los beneficios del tratamiento sistémico en estadio II no se han logrado demostrar. En base a esto, en la actualidad los pacientes con estadio II se clasifican en base a hallazgos clínicos y biomoleculares, en bajo o alto riesgo

de recurrencia, aportando así una guía en la decisión de ofrecer quimioterapia o no. Es necesario descubrir nuevos biomarcadores pronósticos y predictivos para mejorar la selección de los pacientes.

Un estudio en 158 pacientes postoperados por cáncer colorrectal estadios II-III mostró que la presencia de mutaciones en PIK3CA se asoció a una disminución en la supervivencia libre de recaída y en la supervivencia enfermedad-específica. Dicho efecto que tiene la mutación de PIK3CA sobre la supervivencia global se confirmó en otro análisis de pacientes con cáncer de colon resecable estadios I-III.¹²³ Otro análisis de 450 pacientes con cáncer de colon estadios I-III confirmó que las mutaciones de PIK3CA se asocian menor supervivencia cáncer-específica.¹²⁴

Hay estudios que muestran que el aumento en la expresión de PI3K conlleva un incremento en la actividad de ciclooxigenasa-2 (COX2), y que PI3K podría ser un predictor del beneficio de consumir aspirina en pacientes con cáncer colorrectal.^{125,126,127,128}

En un estudio de 158 muestras de tumores colorrectales de pacientes que se sometieron a cirugía curativa, se buscaron mutaciones en PIK3CA y KRAS, y sobreexpresión de AKT.¹²³ Las mutaciones de PIK3CA tuvieron una asociación significativa con una menor supervivencia libre de recurrencia en estadios II/III ($p=0.0216$) y con una menor supervivencia enfermedad-específica en todos los pacientes ($p=0.0357$). Además, la mutación de PIK3CA fue el único factor pronóstico independiente y significativo para supervivencia libre de recurrencia en pacientes en estadio II/III (HR 2.47). Este fue el primer estudio que sugiere el valor pronóstico de las mutaciones de PIK3CA en pacientes con cáncer colorrectal, sin embargo, estos resultados deben ser interpretados con precaución, ya que el poder estadístico de este estudio fue limitado.

Otro análisis realizado en 450 cánceres colorrectales confirmó que las mutaciones de PIK3CA se asocian a una menor supervivencia cáncer-específica en pacientes con enfermedad en estadios I-III. El efecto de estas mutaciones en supervivencia fue más pronunciado en pacientes con carcinomas KRAS wild type.¹²⁴

Por otro lado, otro estudio demostró que las mutaciones de PIK3CA no se asocian a pronóstico en pacientes con cáncer de colon estadio III.¹²⁹

b. Cáncer colorrectal en estadio avanzado

El EGFR es un receptor que activa las vías de RAS-RAF-MAPK y de PI3K-AKT-mTOR. La inhibición de este receptor por medio de los anticuerpos monoclonales cetuximab y panitumumab provoca una inhibición en la transducción de señales por el EGFR y una mejora en la tasa de respuesta en pacientes con *KRAS* wild-type. La presencia de mutaciones en el gen *PIK3CA* se ha asociado a una resistencia a los tratamientos anti-EGFR;¹³⁰ el poder predictivo de las mutaciones en el exon 20 es mayor que el de las mutaciones en el exon 9 en términos de tasa de respuestas, supervivencia libre de progresión y supervivencia global.¹³¹ La inactivación de PTEN también podría ser un predictor negativo de respuesta. El hecho de que las alteraciones de PIK3CA y PTEN suelen coexistir con mutaciones de KRAS o BRAF suele significar una dificultad para definir su papel individual.

Las mutaciones de PI3K se encuentran con mayor frecuencia en cáncer avanzado o metastásico, lo cual sugiere que estas podrían contribuir en la evolución y diseminación a distancia de células malignas.¹³² Un estudio mostró que la frecuencia de expresión de PI3K fue mayor en tumores metastásicos que en las lesiones primarias (46.7 y 30% respectivamente).¹³³

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia de las mutaciones del gen PI3K en pacientes mexicanos con diagnóstico de cáncer de colon estadio clínico II, y el valor pronóstico que agregan a la supervivencia libre de enfermedad?

IV. PLANTEAMIENTO DE TESIS

1. Justificación

El cáncer de colon es una causa importante de morbimortalidad en el mundo y las estadísticas en México lo colocan en el cuarto lugar en incidencia y en el séptimo de muerte por cáncer.

El uso de quimioterapia adyuvante es el estándar en pacientes en forma con estadio III, mientras que el beneficio de este tratamiento en estadio II no ha sido bien documentado. Existen varias características clínicas, histopatológicas y moleculares que clasifican a los pacientes en riesgo de recurrencia bajo o alto, y que apoyan en la decisión de dar o no quimioterapia. Se requieren nuevos biomarcadores de predicción que ayuden a mejorar la selección de pacientes, y hay datos que sugieren que las alteraciones de PI3K podrían ser un buen factor para estratificarlos.

Se desconoce la prevalencia de la mutación de PI3K en pacientes mexicanos con cáncer de colon estadio II, así como el valor pronóstico que esta agrega a la supervivencia libre de enfermedad de esta población.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Analizar las mutaciones en el gen PI3K en pacientes con cáncer de colon estadio clínico II, y asociarlas con la supervivencia libre de enfermedad.

2.2. Objetivos específicos

Calcular la supervivencia libre de enfermedad en la población de pacientes mexicanos con cáncer de colon estadio II.

Estimar el valor pronóstico de los diferentes factores de riesgo previamente identificados en la literatura, en la población de pacientes con cáncer de colon estadio II.

Analizar la frecuencia de las mutaciones del gen PI3K en pacientes con cáncer de colon estadio clínico II.

Correlacionar la presencia de las mutaciones de PI3K con los factores de riesgo de recaída previamente identificados.

Correlacionar la supervivencia libre de enfermedad con la presencia y la ausencia de la mutación de PI3K.

3. Hipótesis

3.1. Hipótesis nula

La presencia de las mutaciones en el gen de PI3K en pacientes con cáncer de colon estadio II no se correlaciona con un impacto en los desenlaces.

3.2. Hipótesis alterna

La presencia de las mutaciones en el gen PI3K en pacientes con cáncer de colon estadio II está asociado con la supervivencia libre de enfermedad.

4. Diseño del estudio

Retrospectivo

V. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Planeación del estudio

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo a partir del análisis de datos del archivo electrónico de pacientes que fueron valorados en la Unidad Funcional del servicio de Gastroenterología del Instituto Nacional de Cancerología por el probable diagnóstico de cáncer de colon. Se definió “cáncer de colon” con base en la evidencia histopatológica de dicha neoplasia. Los datos clínicos y la presentación sirvieron como parte del abordaje diagnóstico de cada caso en particular. Se identificó a los pacientes que se clasificaron en etapa clínica II a partir del análisis patológico de las piezas quirúrgicas de los pacientes que fueron operados. Se clasificó a los pacientes en etapa clínica II en base al sistema de la AJCC 2010, el cual lo define como aquellos tumores con T3-4, N0, M0. Se utilizó un formato para la captura de datos clínicos y demográficos para la obtención de variables dependientes e independientes, y su posterior análisis.

2. Universo del estudio

El INCan es un organismo descentralizado de tercer nivel, dependiente de la Secretaría de Salud, que brinda atención médica especializada a enfermos oncológicos no derechohabientes de la seguridad social provenientes de todo el país. Es un hospital de enseñanza médica e investigación, y se considera un centro de referencia y órgano rector de la atención del cáncer en México.

En el periodo de noviembre de 2010 a septiembre de 2015 se analizaron 651 casos nuevos con diagnóstico de probable cáncer de colon en la Unidad funcional de Gastroenterología. El diagnóstico de cáncer de colon tipo adenocarcinoma se confirmó en 528 casos. De los 123 casos en los que se descartó un adenocarcinoma de colon, la mayoría se debió a un cambio en el diagnóstico hacia cáncer de recto.

La frecuencia de las etapas de presentación fue la siguiente: 32 casos en etapa I (6.06%), 140 casos en etapa II (26.51%), 131 casos en etapa III (24.81%), 184 casos en etapa IV (34.84%) y 41 casos sin etapificar (7.7%) (Figura 1)

De los 140 pacientes con diagnóstico de cáncer de colon tipo adenocarcinoma en etapa II se excluyeron 63. Se tomaron en cuenta 77 casos para el análisis de datos.

3. Criterios de selección

3.1. Criterios de inclusión

1. Pacientes mexicanos con diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma de colon, postoperados, con etapa clínica II.
2. 18 años de edad o mayores
3. Con una evaluación del estado funcional por escala de ECOG (por sus siglas en inglés) y resultado de 0 a 3.
4. Análisis de patología completo de acuerdo al protocolo del Colegio Americano de Patólogos, incluyendo la búsqueda de los factores de riesgo para recaída establecidos en la literatura.
5. Previa valoración en la Unidad Funcional de Gastroenterología para la toma de decisión en cuanto al plan de tratamiento.

6. Recuento de granulocitos $\geq 1.5 \times 10^9/L$ y recuento de plaquetas $> 100 \times 10^9/L$.
7. Valor de bilirrubina sérica ≤ 1.5 veces el límite superior normal.
8. Valores de AST y/o ALT ≤ 2 veces el límite superior normal.
9. Creatinina sérica ≤ 1.5 veces el límite superior normal.

3.2. Criterios de exclusión

1. Tratamiento anticancerígeno previo al abordaje quirúrgico.
2. Pieza quirúrgica con menos de 12 ganglios.
4. Duración de seguimiento después de la cirugía menor a 2 meses
5. Hallazgo de enfermedad metastásica antes de que se cumplan 2 meses posterior a la cirugía.
6. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

4. Variables registradas

1. Fecha de primera vez en el INCan
2. Fecha de valoración en Unidad funcional
3. Género
4. Edad
5. Fecha de nacimiento
6. Lado del colon afectado
7. Histología
8. Cáncer de colon en familiar de 1ero o 2do grado
9. Cáncer de mama en familiar de 1ero o 2do grado
10. Cáncer de ovario en familiar de 1ero o 2do grado
11. Cáncer de endometrio en familiar de 1ero o 2do grado

12. Diagnóstico de cáncer de colon hereditario
13. Antecedente de tabaquismo
14. Antecedente de alcoholismo
15. Antecedente de consumo de marihuana
16. Antecedente de diabetes mellitus tipo 1
17. Antecedente de diabetes mellitus tipo 2
18. Antecedente de hipertensión arterial sistémica
19. Antecedente de sobrepeso
20. Antecedente de obesidad
21. Antecedente de dislipidemia
22. Antecedente de infarto al miocardio
23. Antecedente de insuficiencia cardiaca
24. Antecedente de enfermedad vascular cerebral
25. Antecedente de cirrosis
26. Antecedente de otro tumor maligno primario
27. Antecedente de pólipos colorrectales
28. Meses del padecimiento actual
29. Presentación de la enfermedad con dolor abdominal
30. Presentación de la enfermedad con distensión abdominal
31. Presentación de la enfermedad pérdida de peso
32. Presentación de la enfermedad con diarrea
33. Presentación de la enfermedad con constipación
34. Presentación de la enfermedad con sangrado de tubo digestivo
35. Presentación con perforación intestinal
36. Presentación con oclusión intestinal

37. Fecha de la cirugía
38. Clasificación de T de la AJCC
39. Grado histológico
40. Estado de márgenes quirúrgicos
41. Invasión linfovascular
42. Invasión perineural
43. Presencia de factor de riesgo
44. Número de factores de riesgo
45. Número de ganglios resecaados
46. Clase funcional por ECOG
47. Recibió adyuvancia sistémica
48. Esquema de adyuvancia
49. Fecha de inicio de adyuvancia
50. Fecha de fin de adyuvancia
51. Presencia de recaída
52. Fecha de recaída
53. Presencia de defunción
54. Fecha de defunción
55. Fecha de última consulta
56. Estatus en la fecha de última consulta

5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizó la captura de las variables clínicas y patológicas de los pacientes candidatos al estudio. Se resumieron las variables continuas como medias y desviaciones estándar o como medianas con rango intercuartílico según la distribución de

los datos (normal o no), que se valoró por la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas fueron resumidas como frecuencias y porcentajes. Las diferencias entre grupos se evaluaron con la prueba de Chi cuadrada. Se estimaron los tiempos de supervivencia global y supervivencia libre de recaída mediante el método de Kaplan-Meier, y se compararon los tiempos mediante la prueba de log rank o la prueba de Breslow. El tiempo de supervivencia global se calculó desde la fecha de diagnóstico del paciente hasta la fecha de muerte o último seguimiento. Para la supervivencia libre de recaída, el tiempo se estimó desde la fecha de la cirugía hasta la fecha de recaída o la fecha de último seguimiento. Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico de SPSS v.22 en español. Las curvas de seguimiento fueron graficadas.

6. Recursos

6.1. Recursos humanos

1. El sustentante de la tesis y el tutor.
2. Asesor del procesamiento de las muestras y la interpretación de resultados.
3. Asesor del contenido científico y del proceso de extracción de ADN.
4. Asesor estadístico.
5. Patólogo que participó en la revisión de los bloques de parafina, para la obtención de muestras con valor significativo.

6.2. Recursos materiales

1. Archivo clínico INCANET para recolección de datos por expediente clínico.
2. Hoja de registro de datos para cada paciente.

3. Computadora personal con los siguientes contenidos de software: Google Chrome versión 51.0.2704.103, Apple Pages versión 5.6.2, Microsoft Excel versión 12.3.6, SPSS Statistics versión 21.

7. Procedimientos

7.1. Desparafinación de tejidos con Xilol.

Se obtuvieron 3 cortes de 10 mm de cada muestra y se realizaron dos lavados a temperatura ambiente con 1 mL de xilol precalentado a 65°C, después de colocar el mL de xilol se dio vortex por 10 segundos a cada muestra y se ultracentrigugaron a máxima velocidad por 3 minutos. Se desechó el sobrenadante y la pastilla se lavó de la misma forma con etanol absoluto. Los tejidos se incubaron a 65°C hasta que el alcohol se evaporó por completo.

7.2. Extracción de ADN genómico.

Para la extracción de ADN se utilizó el kit de qiagen "AllPrep DNA/RNA FFPE" y se siguieron las instrucciones del manual. Las muestras desparafinadas se resuspendieron en 150 ml de amortiguador PKD y se adicionaron 10 ml de proteinasa K, se mezclaron en vortex. Las muestras se incubaron a 56°C por 15 minutos, se incubaron en hielo por 3 minutos y se centrifugaron a 13, 500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se desechó y la pastilla se resuspendió en 180 ml de amortiguador ATL más 40 ml de proteinasa K, se mezcló y se incubó a 56°C por 1 hora. Posteriormente, las muestras se incubaron por 2 horas a 90°C sin agitación y se centrifugaron a máxima velocidad por 30 segundos. A cada muestra se le adicionaron 200 ml de amortiguador AL, se agitaron con vortex, se adicionaron 200 ml de etanol absoluto y se volvieron a mezclar. Los sobrenadantes se transfirieron a columnas QIAamp MinElute y se centrifugaron a 10 000 rpm durante un minuto. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 ml de amortiguador AW1 y

se centrifugaron durante 15 segundos a 10 000 rpm. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 ml de amortiguador AW2 y se volvieron a centrifugar como ya se describió. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos, se les adicionaron 700 ml de etanol absoluto y se volvieron a centrifugar como ya se describió. Las columnas se transfirieron a tubos nuevos y con las tapas abiertas se centrifugaron por 5 minutos a máxima velocidad con la finalidad de secar la membrana de las columnas. Las columnas se transfirieron a tubos de 1.5 mL, se adicionaron 50 ml de amortiguador ATE sobre la membrana de la columna y se incubó durante un minuto. Posteriormente, se centrifugaron por un minuto a máxima velocidad para eluir el ADN. Las muestras fueron cuantificadas en un nanodrop 2000 y se tomaron en cuenta ratios 260/280 entre 1.8-2.1 para pureza y de 260/30 entre 1.8 y 2.2. Para conocer la concentración exacta de cada una de las muestras se hizo una dilución 1:100 y se cuantificaron por qPCR con RNase P utilizando una curva estándar de 7 puntos por duplicado con diluciones 1:2 comenzando por una concentración de 5 ng/microlitros.

7.3 Análisis de las mutaciones de PI3K

La presencia de las mutaciones en el gen de PI3K fue analizada haciendo ensayos con sondas TaqMan marcadas con fluoróforos VIC y FAM (Applied Biosystems). Las muestras de ADN se ajustaron con agua libre de RNasas a la misma concentración y se colocó la muestra en placas de 96 pozos. Se hizo la mezcla de reacción utilizando Universal PCR master Mix 2x y las sondas TaqMan para cada mutación, y se colocaron en los pozos con el ADN. La placa se selló con una cubierta óptica, se centrifugó y se realizó una PCR en punto final utilizando un equipo 7500 Fast Real Time PCR System.

8. Consideraciones éticas

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud ARTÍCULO 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este Reglamento, las investigaciones se clasifican en las siguientes categorías:

I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta. Con base en este reglamento se considera un estudio de riesgo intermedio, por la toma de biopsias como parte del procedimiento diagnóstico y terapéutico. Las complicaciones fueron las propias de la cirugía, es decir, lesión orgánica, hemorragia, infección perioperatoria, atelectasia, dehiscencia de la herida, tromboembolismo venoso y problemas de la anestesia.

VI. RESULTADOS

1. Características sociodemográficas de la población estudiada.

La tabla 1 muestra las características basales de la población. De los 77 pacientes estudiados, 35 (54.5%) fueron mujeres y 45 (45.5%) hombres. La media de edad fue de 52 años. El lado más frecuentemente afectado fue el derecho, con 45 (58.4%) versus 32 (41.6%) casos. Cinco (6.5%) de los pacientes tuvieron una perforación intestinal, y diez (13%) tuvieron un cuadro de oclusión intestinal como parte de la presentación. La clasificación de la T de la AJCC más frecuente fue la T3, con un total de 55 (71.4%) casos, en

comparación con los 22 (28.6%) casos con T4. La frecuencia de cada grado histológico sucedió de la siguiente forma: 17 (22.1%) casos con grado 1, 39 (50.6%) casos con grado 2, 19 (24.7%) casos con grado 3, y 2 (2.6%) casos con grado 4. El número de casos con invasión linfocascular fue de 15 (19.5%) y el número de casos con invasión perineural fue de 8 (10.4%). Por último, la mayoría (58%) de los pacientes tuvieron algún factor de riesgo de recaída clínico o patológico.

Table 1. Características generales de los pacientes (N=77)

Género	% (n/N)
Mujeres	54.5 (35/77)
Hombres	45.5 (45/77)
Edad	
Media (DE)	52 (14.3)
Lado afectado	
Derecho	58.4 (45/77)
Izquierdo	41.6 (32/77)
Perforación intestinal	
Si	6.5 (5/77)
No	93.5 (72/77)
Oclusión intestinal	
Si	13.0 (10/77)
No	87.0 (67/77)
T de la AJCC	
T3	71.4 (55/77)
T4	28.6 (22/77)
Grado histológico	
1	22.1 (17/77)
2	50.6 (39/77)
3	24.7 (19/77)
4	2.6 (2/77)
Invasión linfocascular	

Si	19.5 (15/77)
No	80.5 (62/77)
Invasión perineural	
Si	10.4 (8/77)
No	89.6 (69/77)
Algún factor de riesgo	
Si	58.4 (45/77)
No	41.6 (32/77)

Abreviaturas DE: desviación estándar.

2. Análisis de supervivencia

La mediana de seguimiento fue de 20 meses. La mediana de supervivencia libre de enfermedad (SLE) para todos los pacientes fue de 16.7 (7.39 - 26.12) meses (Tabla 2). En el análisis univariado para supervivencia libre de enfermedad, el género masculino mostró una tendencia hacia una mayor SLE en comparación con las mujeres, con 24.1 vs 16.7 meses (P=0.42). Los pacientes mayores de 55 años tuvieron una mayor SLE en comparación con los menores de 55 (17.6 vs 7.95 meses; P=0.01) (Figura 1). El lado afectado no influyó significativamente en la SLE, siendo la del lado derecho de 11.5 meses y del lado izquierdo de 27.3 meses (P=0.07). En el análisis de los factores de riesgo de recaída, no hubo diferencias estadísticamente significativas con la presencia o ausencia de perforación intestinal (24.1 vs 16.7 meses; P=0.53), oclusión intestinal (27.3 vs 16.7 meses; P=0.35) e invasión linfovascular (10.4 vs 17.6 meses; P=0.17). La T no influyó significativamente en la SLE (16.7 meses para los T3 y 24.1 meses para los T4; P=0.57), y tampoco lo hizo el grado histológico (10.7 meses para grado 1, 17.6 meses para grado 2, 11.5 meses para grado 3 y 16.7 meses para grado 4). Cuando se evaluó de forma conjunta la presencia o ausencia de alguno de los factores de riesgo, no se encontró diferencia esta-

dísticamente significativa entre tenerla o no, en términos de SLE (16.7 vs 7.9 meses, respectivamente; P=0.23).

Tabla 2. Análisis univariado de factores clínicos asociados a supervivencia libre de enfermedad.

	Análisis univariado		
	Mediana	IC 95%	P
Global	16.7 m	(7.38 - 26.1)	
Gender			
Mujeres	16.7	(5.6 - 27.9)	
Hombres	24.1	(0 - 52.92)	0.42
Mediana de edad			
<55 años	7.95	(NA)	
>55 años	17.6	(8.8 - 26.3)	0.01
Lado afectado			
Derecho	11.5	(4.3 - 18.7)	
Izquierdo	27.3	(0 - 56.4)	0.07
Perforación intestinal			
Si	24.1	(NA)	
No	16.75	(1.5 - 31.9]	0.53
Oclusión intestinal			
Si	27.3	(NA)	
No	16.7	(1.58 - 31.9)	0.35
T de la AJCC			
T3	16.7	(3.4 - 30.0)	
T4	24.1	(NA)	0.57
Grado histológico			
1	10.7	(1.81 - 19.6)	
2	17.6	(2.1 - 33.0)	
3	11.5	(NA)	
4	16.7	(NA)	0.79
Invasión linfovascular			
Si	10.4	(NA)	
No	17.6	(2.6 - 32.5)	0.17

Algún factor de riesgo			
Si	16.75	(1.80 - 31.70)	
No	7.95	(NA)	0.23

Abreviaturas DE: desviación estándar.

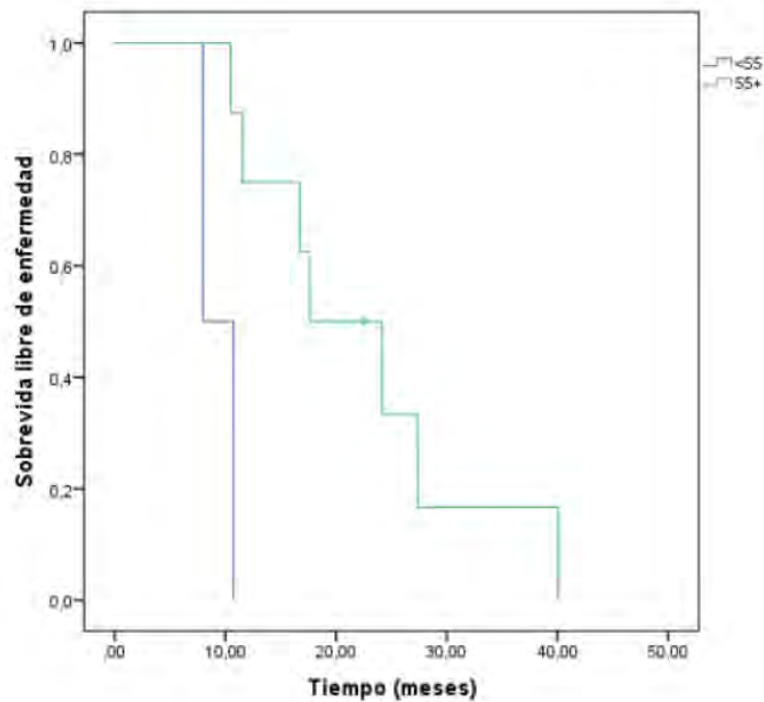


Figura 1. Supervivencia libre de enfermedad en pacientes mayores y menores de 55 años

3. Cuantificación de ADN.

Las 22 muestras se cuantificaron en nanodrop para conocer los ratios 260/280 (pureza) y 260/230 (restos orgánicos). Los rangos aceptados para utilizar las muestras de ADN fueron 1.8-2.0 y 1.8 a 2.2, respectivamente. Adicionalmente, las muestras fueron cuantificadas por qPCR utilizando RNase P (Figura2), con una curva estándar por duplicado con diluciones 1:2 iniciando con una concentración de 5 ng/μl y terminando con una de 0.08 ng/μl.

Amplification Plot (ΔR_n vs. Cycle) RNaseP

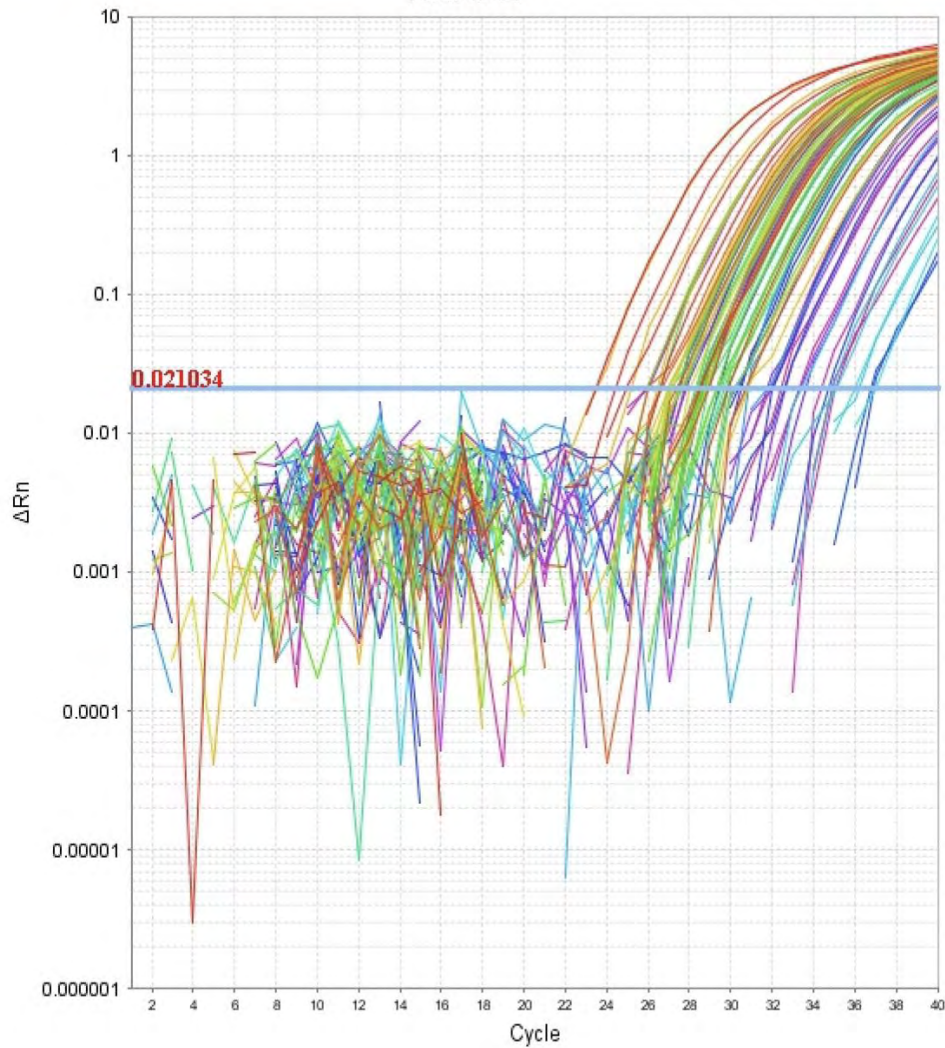


Figura 2. Ejemplo de las amplificaciones por qPCR de RNase P utilizada para
fificar las muestras de ADN utilizadas.

cuanti-

En la siguiente tabla se muestran los radios de cada muestra y las cuantificaciones (nanodrop y RNase P) de las muestras utilizadas en este trabajo. De las 2 muestras 5 no fue detectable la cuantificación para RNase P.

Tabla 4. Cuantificaciones de ADN de las muestras utilizadas en ng/ μ l con nanodrop y RNase P (qPCR).

ADN			
EC II Cáncer Colon			
ID	260/280 (pureza)	260/230 (restos orgánicos)	Rnase P
CC1	2	1.47	0.30
CC2	1.89	1.2	0.00
CC3	1.86	0.6	1.45
CC4	1.92	1.51	0.57
CC5	1.92	1.7	1.95
CC6	1.95	2.16	0.00
CC7	1.99	1.34	22.10
CC8	1.97	0.77	0.00
CC9	1.96	1.53	9.72
CC10	2.01	2.08	4.43
CC11	2.08	2.16	28.03
CC12	2.04	2.15	8.81
CC13	2.07	2.12	41.09
CC14	2.04	2.11	1.46
CC15	2.03	2.1	53.11
CC16	2.1	2.12	25.29
CC17	2.02	2.17	2.72
CC18	2.02	2.04	2.68
CC19	2.02	2.18	3.30
CC20	2	2.35	0.00
CC21	1.96	2.1	4.05
CC22	2.05	2.12	124.02

4. Frecuencia de la mutación de PI3K y valor pronóstico (análisis pendiente)

VII. DISCUSIÓN

La vía de PI3K-AKT se encuentra activada en varios tumores malignos. Esta activación da lugar a alteraciones en el crecimiento y la proliferación celular. Una de las principales cau-

sas que altera la vía es la mutación del gen PI3K. La frecuencia de esta mutación que se ha reportado se encuentra entre el 11 y el 18%.(Kato 2007 y Ogino 2009).

Dentro de nuestro conocimiento, este es el primer intento en explorar la frecuencia de presentación de la mutación del gen PI3K en población mexicana. Para esto se realizó un análisis retrospectivo de los especímenes de 77 pacientes con cáncer de colon en estadio clínico II, con el objetivo de conocer esta frecuencia y de correlacionar la presencia de la mutación con la SLE de los pacientes.

En nuestro estudio se reportó una mediana de edad de presentación de 52 años, la cual se encuentra por debajo de la reportada en registros grandes de esta patología (65-74 años).(SEER 18 2009-2013) Por otro lado, nuestro estudio encontró más tumores del lado derecho, lo cual confirma la tendencia reportada en otros países.

Uno de los principales factores que se utiliza para indicar quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de colon estadio II es la presencia de características que elevan el riesgo de recurrencia. En la población estudiada, la mayoría (58%) de los pacientes tuvieron algún factor de riesgo de recaída clínico o patológico. La frecuencia de estas características se presentó de la siguiente forma: perforación intestinal en el 6.5%, oclusión intestinal en el 13%, T4 en el 28%, grado 3 en el 24.7%, invasión linfocascular en el 19.5% e invasión perineural en el 10.4%. En el presente estudio, el único factor que tuvo una asociación con el riesgo de recurrencia fue el grupo de edad, siendo mayor para los pacientes mayores de 55 años.

El estudio cuenta con ciertas desventajas. El diseño retrospectivo es una de ellas. El número de pacientes estudiados es otra, aunada al hecho de que se hayan excluido casi la mitad de los pacientes con estadio II. Otra desventaja es la mediana de seguimiento (20 meses), la cual podría considerarse corta para las supervivencias reportadas en estudios de pacientes con estadio II, y que podría ser la causa del bajo número de eventos.

VIII. CONCLUSIÓN

El presente estudio pone en evidencia la edad baja de presentación del cáncer de colon en nuestro país, en comparación con lo reportado en otros países. La mayoría (58%) de los pacientes tuvieron algún factor de riesgo de recaída clínico o patológico. En nuestro estudio, el único factor que tuvo una asociación con el riesgo de recurrencia fue el grupo de edad, siendo mayor para los pacientes mayores de 55 años.

Este es el primer intento en explorar la frecuencia de presentación de la mutación del gen PI3K en población mexicana. Se requiere llevar a cabo otros estudios con diseño metodológico prospectivo, con mayor cantidad de enfermos estudiados y con muestras más homogéneas.

IX. REFERENCIAS

1. GLOBOCAN 2012 (globocan.iarc.fr/)
2. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1420.
3. Saltz LB. Adjuvant therapy for colon cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2010;19:319-827.
4. Cully M, You H, Levine AJ, et al. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6:184-92.
5. Moore KL, Dalley AF. (2002). *Capítulo 2: Abdomen*. En: *Anatomía con orientación clínica* (pp. 177-337). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
6. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al.(2010) *14: Colon and Rectum*. En: *AJCC Cancer Staging Manual, seventh edition* (pp. 143-164). New York, USA: Springer.
7. Gartner LP, Hiatt JL. (2002). *Capítulo 17: Sistema Digestivo: conducto alimentario*. En *Texto atlas de histología* (pp. 363-392). México, DF: McGraw-Hill Interamericana.
8. Landsdorp-Vogelaar I., van Ballengooijen M, Zauber AG, et al. Individualizing colonoscopy screening by sex and race. *Gastrointest Endosc* 2009;70-96.
9. Eddy DM. Screening for colorectal cancer. *Ann Intern Med* 1990;113:373
10. Mork M, You N, Ying J, et al. High prevalence of hereditary cancer syndromes in adolescents and young adults with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3544-9.
11. Schub R, Steinheber FU. Rightward shift of colon cancer. A feature of the aging gut. *J Clin Gastroenterol* 1986;8:630.
12. Thörn M, Bergström R, Kressner U, et al. Trends in colorectal cancer incidence in Sweden 1959-93 by gender, localization, time period, and birth cohort. *Cancer Causes Control* 1998;9:145.
13. Ashan H, Neugut AI, Garbowski GC, et al. Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med* 1998; 128:900.
14. Giardiello FM, Petersen GM, Piantadosi S, et al. APC gene mutations and extraintestinal phenotype of familial adenomatous polyposis. *Gut* 1997; 40:521.
15. Cauchin E, Toucheffeu Y, Matysiak-Budnik T. Hamartomatous tumors in the gastrointestinal tract. *Gastrointestinal tumors* 2015;2(2):65-74.
16. Marra G, Boland CR. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. *J Natl Cancer Inst*. Aug 2 1995;87(15):1114-25.
17. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138(6):2073-2087.
18. Higuchi T, Sugihara K, Jass JR. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology* 2005; 47:32.
19. Weston AP, Campbell DR. Diminutive colonic polyps: histopathology, spatial distribution, concomitant significant lesions, and treatment complications. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:24.

20. Provenzale D, Garrett JW, Condon SE, et al. Risk for colon adenomas in patients with rectosigmoid hyperplastic polyps. *Ann Intern Med* 1990; 113:760.
21. Legget B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010;138,2088-20100.
22. Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, et al. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 2005;124,380-391.
23. Tuohy TM, Rowe KG, Mineau GP, et al. Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: a population-based study in Utah. *Cancer* 2014;120(1):35-42.
24. Hennink SD, van der Meulen-de Jong AE, Wolterbeek R, et al. Randomized comparison of surveillance intervals in familial colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;10;33(35):4188-93
25. Beaugerie L, Svreck M, Seksik P, et al. Risk of colorectal high-grade dysplasia and cancer in a prospective observational cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013;145:166-175.
26. Karahalios A, English DR, Simpson JA, et al. Weight change and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2015;181:832.
27. Henderson TO, Oeffinger KC, Whitton J, et al. Secondary gastrointestinal cancer in childhood cancer survivors: a cohort study. *Ann Intern Med* 2012;156:757.
28. Nottage K, McFarlane J, Krasin MJ, et al. Secondary colorectal carcinoma after childhood cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30:2552.
29. Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60:277.
30. Webster AC, Craig JC, Simpson JM, et al. Identifying high risk groups and quantifying absolute risk of cancer after kidney transplantation: a cohort study of 15,183 recipients. *Am J Transplant* 2007;7:2140.
31. Giovannucci E. Insulin and colon cancer. *Cancer Causes Control* 1995;6(2):164.
32. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol* 2015;16(16):1599-1600.
33. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, et al. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 2008;300(23):2765.
34. Fedirko V, Tramacere i, Bagnardi V, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol* 2011;22(9):1958-73.
35. Boyle T, Keegel T, Bull F, et al. Physical activity and risks of proximal and distal cancers: a systematic review and metaanalysis. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1548.
36. Baena R, Salinas P. Dieta and colorectal cancer. *Maturitas* 2015;80(3):258-64.
37. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* 2000;130(2):129.
38. Shaukat A, Scouras N, Schünemann HJ. Role of supplemental calcium in the recurrence of colorectal adenomas: a metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol* 2005;100:390.

39. Aune D, Lau R, Chan DS, et al. Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Ann Oncol* 2012;23:37.
40. Byers SW, Rowlands T, Beildeck M, et al. Mechanisms of action of vitamin D and the vitamin D receptor in colorectal cancer prevention and treatment. *Rev Endocr Metab Disord* 2012;13:31.
41. Chung M, Lee J, Terasawa T, et al. Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: an updated meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann intern Med* 2011;155:827.
42. Zgaga L, Theodoratou E, Farrington SM, et al. Plasma vitamin D concentration influences survival outcome after a diagnosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2014;32:2430.
43. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, et al. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2011;377:31.
44. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010;376:1741.
45. Rigas B, Tsioulis GJ. The evolving role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colon cancer prevention: a cause for optimism. *J Pharmacol Exp Ther* 2015;353:2-8.
46. Hamilton W, Round A, Sharp D, et al. Clinical features of colorectal cancer before diagnosis: a population-based case-control study. *Br J Cancer* 2005;93:399.
47. Saidi HS, Karuri D, Nyaim EO. Correlation of clinical data, anatomical site and disease stage in colorectal cancer. *East Afr Med J* 2008;85:259.
48. Irvine EJ, O'Conner J, Frost RA, et al. Prospective comparison of double contrast barium enema plus flexible sigmoidoscopy v colonoscopy in rectal bleeding: barium enema v colonoscopy in rectal bleeding. *Gut* 1988;29:1188.
49. Liu Z, Zhang Y, Niu Y, et al. A systematic review and meta-analysis of diagnostic and prognostic serum biomarkers of colorectal cancer. *PLoS One* 2014;9:3103910
50. Horton KM. Spiral CT of colon cancer: imaging features and role in management. *Radiographics* 2000;20(2):419-30.
51. Flamen P, Hoekstra OS, Homans F, et al. Unexplained rising carcinoembryonic antigen (CEA) in the postoperative surveillance of colorectal cancer: the utility of positron emission tomography (PET). *Eur J Cancer*. 2001;37(7):862.
52. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:583.
53. McGory ML, Shekelle PG, Ko CY. Development of quality indicators for patients undergoing colorectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1623.
54. Wolmark N, Fisher B, Rockette H, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy or BCG for colon cancer: results from NSABP protocol C-01. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80:30.
55. Zaniboni A, Labianca R, Marsoni S, et al. GIVIO-SITAC 01: A randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and folinic acid administered to patients with colon carcinoma--long term results and evaluation of the indicators of health-related quality of life. Gruppo Italiano Valutazione Interventi in Oncologia. *Studio Italiano Terapia Adiuvante Colon. Cancer* 1998; 82:2135.

56. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet* 1995; 345:939.
57. Francini G, Petrioli R, Lorenzini L, et al. Folinic acid and 5-fluorouracil as adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Gastroenterology* 1994; 106:899.
58. O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15:246.
59. Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol* 1989; 7:1447.
60. Five-year results of a randomized controlled trial of adjuvant chemotherapy for curatively resected colorectal carcinoma. The Colorectal Cancer Chemotherapy Study Group of Japan. *Jpn J Clin Oncol* 1995; 25:91.
61. Taal BG, Van Tinteren H, Zoetmulder FA, NACCP group. Adjuvant 5FU plus levamisole in colonic or rectal cancer: improved survival in stage II and III. *Br J Cancer* 2001; 85:1437.
62. Gray R, Barnwell J, McConkey C, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet* 2007;370(9605):2020.
63. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International multicentre pooled analysis of B2 colon cancer trials (IMPACT B2) investigators. *J Clin Oncol* 17(5):1356-63.
64. Figueredo A, Charette ML, Maroun J, et al. Adjuvant therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. *J Clin Oncol* 2004;22(16):3385.
65. Sargent D, Sobrero A, Grothey A, et al. Evidence for cure by adjuvant therapy in colon cancer: observations based on individual patient data from 20,898 patients on 18 randomized trials. *J Clin Oncol* 2009;27(6):872.
66. Yothers G, O'Connell MJ, Allegra CJ, et al. Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol* 2011; 29:3768.
67. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124(7):979.
68. O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15:246.
69. O'Connor ES, Greenblatt DY, LoConte NK, et al. Adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer with poor prognostic features. *J Clin Oncol* 2011;29:3381
70. Kumar A, Kennecke HF, Renouf DJ, et al. Adjuvant chemotherapy use and outcomes of patients with high-risk versus low-risk stage II colon cancer. *Cancer* 2015;121:527.
71. Bertagnolli MM, Redston M, Compton CC, et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity at chromosomal location 18q: prospective evaluation of biomarkers for stages II and III colon cancer—a study of CALGB 9581 and 89803. *J Clin Oncol* 2011;29:3153.

72. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58-90.
73. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23:609.
74. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3219.
75. Etienne-Grimaldi MC, Mahamat A, Chazal M, et al. Molecular patterns in deficient mismatch repair colorectal tumours: results from a French prospective multicentric biological and genetic study. *Br J Cancer* 2014;110:2728.
76. Huchins G, Southward k, Handley K, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1261.
77. Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, et al. DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:863.
78. Samowitz WS, Seeney C, Herrick J, et al. Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Res* 2005;65:6063.
79. Gavin PG, Colangelo LH, Fumagalli D, et al. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin Cancer Res* 2012;18:6531.
80. Popovici VC, Budinska E, Roth A, et al. BRAF and KRAS mutations as additional risk factors in the context of clinical parameters of patients with colorectal cancer (abstract). *J Clin Oncol*, 2013 (suppl; abstr 3522)
81. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004;431(7011):931-945.
82. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7:85-97.
83. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-954.
84. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, et al. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418:934.
85. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:489-501.
86. Parsons DW, Wang TL, Samuels Y, et al. Colorectal cancer: mutations in a signalling pathway. *Nature* 2005;436:792.
87. Meyerson M, Gabriel S, Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 2010;11:685-696.
88. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* 2010;11:31-46.

89. Bell DW. Our changing view of of the genomic landscape of cancer. *J Pathol* 2010;220:231-243.
90. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:14979-1500.
91. Ciardello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008;358:1160-1174.
92. Janku F, Stewart DJ, Kurzrock R. Targeted therapy in non-small-cell lung cancer- is it becoming a reality? *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7:401-414.
93. Pao W, Chmielecki J. rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. *Nat Rev Cancer* 2010;10:760-774.
94. Gerber DF, Minna JD. ALK inhibition for non-small cell lung cancer: from discovery to therapy in record time. *Cancer Cell* 2010;18:548-551.
95. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 2008;4:68-75.
96. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology* 2010;138:2059-2072
97. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res* 2008;18:85-98.
98. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558-561.
99. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet* 2006;38:787.
100. van Engeland M, Derks S, Smiths KM, et al. Colorectal cancer epigenetics: complex simplicity. *J Clin Oncol* 2011;29:1382.
101. Pretlow TP, Brasitus TA, Fulton NC, et al. K-ras mutations in putative paraneoplastic lesions in human colon. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(24):2004.
102. Frattini M, Balestra D, Suardi S, et al. Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 2004;10:4015.
103. Harada K, Hiraoka S, Kato J, et al. Genetic and epigenetic alterations of Ras signalling pathway in colorectal neoplasia: analysis based on tumour clinicopathological features. *Br J Cancer* 2007;97:1425.
104. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. *J Clin Oncol* 2000;18(9):1967.
105. Laken SJ, Petersen GM, Gruber SB, et al. Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nat Genet* 1997;17(1):79.
106. Russo A, Bazan V, Iacopetta B, et al. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2005;23(30):7518.

107. Kirsch DG, Kastan MB. Tumor-suppressor p53: implications for tumor development and prognosis. *J Clin Oncol* 1998;16(9):3158.
108. Yurgelun MB, Masciari S, Joshi VA, et al. Germline TP53 Mutations in Patients With Early-Onset Colorectal Cancer in the Colon Cancer Family Registry. *JAMA Oncol* 2015;1(2):214-21.
109. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319(9):525.
110. Hedrick L, Cho KR, Fearon ER, et al. The DCC gene product in cellular differentiation and colorectal tumorigenesis. *Genes Dev* 1994;8(10):1174.
111. Popat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2005;41(14):2060
112. Reiss M, Santoro V, de Jonge RR, et al. Transfer of chromosome 18 into human head and neck squamous carcinoma cells: evidence for tumor suppression by Smad4/DPC4. *Cell Growth Differ* 1997;8(4):407.
113. Xie W, Rimm DL, Lin Y, et al. Loss of Smad signaling in human colorectal cancer is associated with advanced disease and poor prognosis. *Cancer J* 2003;9(4):302.
114. Whitman M, Kaplan DR, Schaffhausen B, et al. Association of phosphatidylinositol kinase activity with polyoma middle-T competent for transformation. *Nature* 1985;315:239-42.
115. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet* 2006;7:606–19.
116. Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008;27:5497–510.
117. Samuels Y, Velculescu VE. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers. *Cell Cycle* 2004;3:1221–4.
118. Velho S, Moutinho C, Cirnes L, et al. BRAF, KRAS and PIK3CA mutations in colorectal serrated polyp and cancer: primary or secondary genetic events in colorectal carcinogenesis. *BMC Cancer* 2008;8:255.
119. Roy HK, Olusola BF, Clemes DL, et al. AKT proto-oncogene over-expression is an early event during sporadic colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2002;23:201-5.
120. Waniczek D, Snietura M, Miynarczyk-Liszka J, et al. PTEN expression profiles in colorectal adenocarcinoma and its precancerous lesions. *Pol J Pathol* 2013;64:15-20.
121. Cantley, 2002
Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002;296:1655–7.
122. Wee S, Wiederschain D, Maira SM, et al. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:13057–62.
123. Kato S, Iida S, Higuchi T, et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007;121:1771–8.
124. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, et al. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:1477–84.

125. Kaur J, Sanyal SN. PI3-kinase/Wnt association mediates COX- 2/PGE(2) pathway to inhibit apoptosis in early stages of colon carcinogenesis: chemoprevention by diclofenac. *Tumour Biol* 2010;31:623–31.
126. Flossmann E, Rothwell PM. British Doctors Aspirin Trial and the UK- TIA Aspirin Trial. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet* 2007;369:1603–13.
127. Liao X, Lochhead P, Nishihara R, et al. Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med* 2012;367:1596–606.
128. Domingo E, Church DN, Sieber O, et al. Evaluation of PIK3CA mutation as a predictor of benefit from nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:4297–305.
129. Ogino S, Liao X, Imamura Y, et al. Predictive and prognostic analysis of PIK3CA mutation in stage III colon cancer intergroup trial. *J Natl Cancer Inst* 2013;(November) [Epub ahead of print].
130. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR- targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009;69:1851–7.
131. Mao C, Yang ZY, Hu XF, et al. PIK3CA exon 20 mutations as a potential biomarker for resistance to anti-EGFR monoclonal antibodies in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta- analysis. *Ann Oncol* 2012;23:1518–25.
132. Cully M, You H, Levine AJ, et al. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6:184–92.
133. Yu-Fen Zhu, Bao-Hua Yu, Da-Li Li, et al. PI3K expression and PIK3CA mutations are related to colorectal cancer metastases. *World J Gastroenterol* 2012;18:3745–51.