



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DETERMINACION DE LA EXPRESION GENICA DEL RECEPTOR DE PRODUCTOS  
AVANZADOS DE LA GLICOSILACION TIPO 2 EN DISTINTOS ESTADIOS DEL  
ADENOCARCINOMA DE COLON**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS**

**PRESENTA**

**DR. JORGE ALBERTO GUADARRAMA OROZCO**

**TUTOR**

**DR. MAURICIO SALCEDO VARGAS**

**LABORATORIO DE ONCOGENOMICA  
HOSPITAL DE ONCOLOGIA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**Enero 2018**



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.



MÉXICO



Dirección de Prestaciones Médicas  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



### Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3602 con número de registro 13 CI 09 015 164 ante COMOPIS  
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 16/12/2016

**DR. MAURICIO SALCEDO VARGAS**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**DETERMINACION DE LA EXPRESION GENICA DEL RECEPTOR DE PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACION TIPO 2 EN DISTINTOS ESTADIOS DEL ADENOCARCINOMA DE COLON**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2016-3602-43

ATENTAMENTE

  
**DR. (A) PEDRO ESCUDERO DE LOS RÍOS**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3602

**IMSS**

SEGURIDAD SOCIAL MEXICANA

## **Agradecimientos**

A mi familia por apoyarme en mi búsqueda de vida como investigador y continuar apoyándome.

Al Dr. Mauricio Salcedo por el apoyo al proyecto, la orientación acertada y la confianza que siempre me brindo y espero continúe durante muchos años de cooperación.

Al Dr. Samuel Rivera por su amistad y su confianza en los proyectos que emprendo.

A la Dra. Alejandra Mantilla por las enseñanzas y las platicas durante la realización de este proyecto.

A la Dra. Ruiz por permitirme realizar el proyecto de maestría con su apoyo.

A Daniel y Keiko por su amistad y el apoyo dentro del Laboratorio en las discusiones de los proyectos y el entendimiento de los resultados.

A mis colegas del Laboratorio de Medicina Traslacional del INCAN que sin ellos no se hubiera podido realizar este proyecto.

A los integrantes del Laboratorio de Oncogenómica del Hospital de Oncología por formar parte de un grupo muy armónico y enseñarme eso de un laboratorio.

Agradecimientos .....	2
Índice .....	3
Resumen .....	4
Marco de Referencia y Antecedentes .....	5
Cáncer de Colon .....	5
Epidemiología. ....	5
Factores de Riesgo. ....	6
Trasformación .....	7
Inflamación en CCR .....	8
Alimentación y CCR .....	11
Productos avanzados de la glicosilacion .....	13
RAGE y su papel en cáncer.....	14
Receptores intracelulares de AGEs.....	15
AGER 2 .....	16
Planteamiento del problema .....	20
Pregunta de Investigación .....	20
Justificación .....	21
Objetivo General .....	21
Objetivos Secundarios .....	21
Hipótesis .....	21
Metodología .....	22
Tipo de estudio .....	22
Población .....	22
Criterios de inclusión .....	22
Criterios de exclusión .....	22
Definición de las variables y forma de medición .....	23
Mediciones .....	24
Material y Metodología .....	27
Análisis e interpretación de los datos .....	28
Aspectos Éticos .....	29
Resultados .....	30
Análisis Descriptivo .....	30
Características Clínicas.....	36
Reacción en cadena de la polimerasa.....	37
Expresión Relativa de AGER 2 .....	38
Discusión .....	43
Conclusiones .....	47
Referencias. ....	48
Anexos .....	53

# DETERMINACION DE LA EXPRESION GENICA DEL RECEPTOR DE PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACION TIPO 2 EN DISTINTOS ESTADIOS DEL ADENOCARCINOMA DE COLON.

## RESUMEN

**Antecedentes:** El cáncer de colon es la tercera causa de incidencia en México, con cifras que se incrementa cada día. Existen diferentes factores de riesgo involucrados en la carcinogénesis del Cáncer de Colon, entre estos la alimentación comienza a tener un peso significativo en los estudios internacionales. Los azúcares dentro de los alimentos se han involucrado en la iniciación de la transformación celular mediada por receptores de inflamación. En los últimos 50 años en los alimentos cotidianos encontramos ciertos azúcares llamados productos avanzados de la glicosilación (AGEs), estos y sus receptores parecen tener un papel importante en el metabolismo de las células tumorales en etapas avanzadas, sin embargo, su papel ha sido poco estudiado durante la progresión y mantenimiento de las células tumorales en los diferentes estadios. **Justificación:** México tiene un alto porcentaje de pacientes con cáncer de colon detectado en estadios avanzados. Se ha puesto poca atención en los metabolitos en los alimentos cotidianos y sus receptores posiblemente vinculados con la transformación a células malignas. Se requieren estudios que nos permitan identificar receptores de azúcares abundantes en los alimentos y su posible papel en la carcinogénesis. Existen estudios que ligan otros receptores de AGEs con la progresión y agresividad del cáncer. Se ha vinculado el uso de inhibidores de alfa-glucosidasas con la reducción del riesgo de cáncer de colon, sin embargo, no se ha caracterizado la presencia del receptor tipo 2 de los productos avanzados de glicosilación (AGER 2), una subunidad de la alfa-glucosidasa, en las células de cáncer de colon, ni se ha propuesto un vínculo en la expresión de las moléculas que conforman el complejo de RAGEs muestras de cáncer de colon. **Objetivo:** Determinar la expresión de los receptores de AGEs tipo 2 en adenocarcinomas de colon y determinar su tasa de cambio en los diferentes estadios clínicos y subtipos histológicos. **Metodología:** Se realizó un estudio retrospectivo, transversal y observacional, en muestras conservadas en parafina de pacientes de 18 a 90 años con diagnóstico de cáncer de colon, estadios clínicos I a IV, en los cuales se determinará por medio de PCR-RT la expresión del gen PKCSH que codifica el AGER2, previo al tratamiento de quimioterapia, midiendo las variaciones en la expresión de AGER 2 en los diferentes estadios tumorales. El análisis se realizaría mediante SPSS V23. Se calculará estadística descriptiva para los valores basales de las muestras; con análisis de ANCOVA para los resultados de PCR (delta Ct) y las variables clínicas de los pacientes. **Resultados:** Se encontró expresión del gen en todos los estadios clínicos. Interesantemente en los estadios iniciales se encontró mayor expresión que en los estadios metastásicos. **Conclusiones:** AGER2 aparenta ser un gen iniciador de malignidad y tiene importancia durante los estadios iniciales de la carcinogénesis, sin embargo es necesario realizar análisis funcionales y de proteómica para corroborar estos supuestos.

## I. MARCO DE REFERENCIA Y ANTECEDENTES

### CANCER DE COLON

#### Epidemiología.

El Cáncer de Colorrectal (CCR) ocupa el 3er lugar en incidencia y el 4to en mortalidad a nivel mundial (Ferlay et al., 2012). Según el SEER (E.U.) la tasa de incidencia es de 46/100,000, una media de edad de aparición de 69 años, sobrevive a 5 años de 64% y un riesgo acumulado de 5% (es decir, 1 de cada 20 estadounidenses lo padecerá a lo largo de su vida) (Group. U.S. Cancer Statistics Working, 2015). El 39% de los pacientes tiene enfermedad localizada al diagnóstico. En México GLOBOCAN 2012 reporta una incidencia de 8,651 casos (5.8%) y una mortalidad 4,694 casos (6.0%) (Ferlay et al., 2012). De acuerdo con datos provenientes del INEGI, la mortalidad por cáncer colorrectal en México ha aumentado en los últimos 10 años: 4,056 muertes en el año 2010, en comparación con 1998, cuando se reportaron 2,386 decesos. Ello representa la sexta causa de muerte por cáncer en ambos sexos.

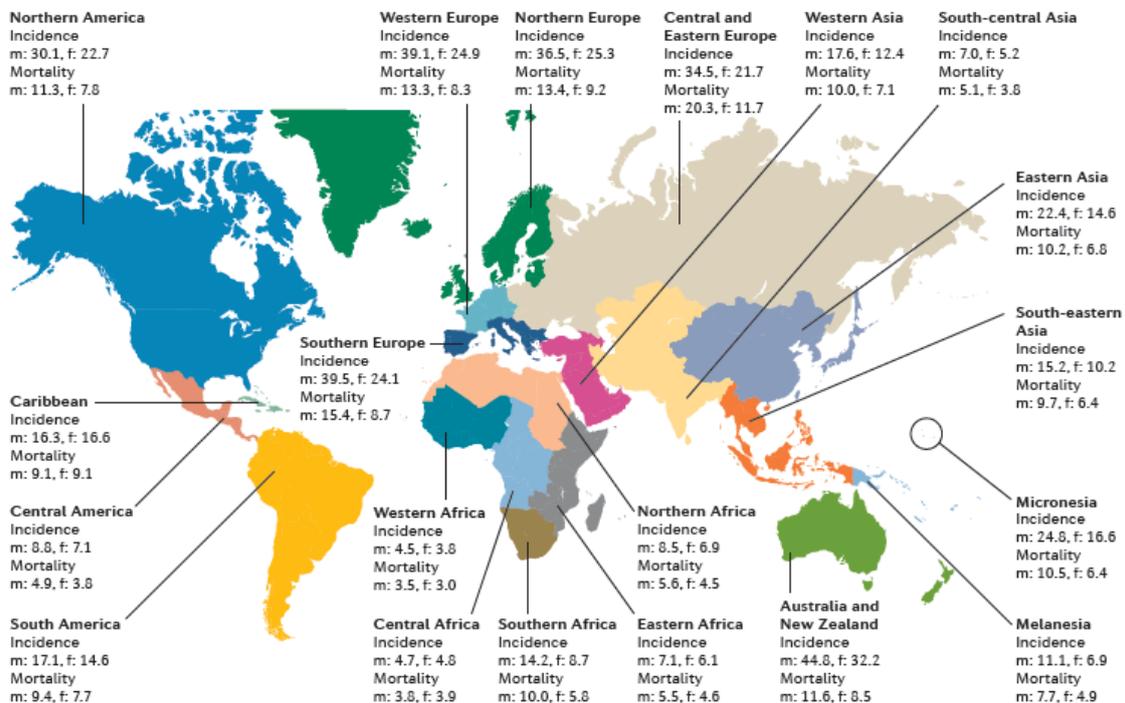


Figura 1 | Las tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad en hombres y mujeres (por 100.000) por zona geográfica. Las tasas son consistentemente más altas en los hombres (m) que en las mujeres (f), y varían considerablemente entre diferentes regiones. Las tasas más altas ocurren en Australia y Nueva Zelanda, Europa y América del Norte (Kuipers et al., 2015).

Aunque la mayoría de pacientes con CCR esporádicos son > 50 años de edad, siendo el 75% de los pacientes con cáncer de recto y el 80% de los pacientes con cáncer de colon de  $\geq 60$  años de edad en el momento del diagnóstico; existe un claro incremento en la incidencia y por lo tanto en mortalidad, sobre todo observado en pacientes cada vez más jóvenes (Ochoa-carrillo, Astudillo-de, & Alvarado-, 2016).

## **Factores de Riesgo**

Tanto los factores genéticos como los ambientales juegan parte en la etiología del cáncer colorrectal. La mayoría de los cánceres colorrectales son esporádicos; aproximadamente tres cuartas partes de los pacientes tienen una familia negativa historia. En la mayoría de las poblaciones occidentales, el riesgo para el cáncer colorrectal está en el rango de 3-5%. Sin embargo, este riesgo casi duplica en individuos con familiar de primer grado con cáncer colorrectal que fue diagnosticado a los 50-70 años de edad; el riesgo se triplica si el pariente de primer grado tenía menos de 50 años de edad al momento del diagnóstico. El riesgo aumenta aún más en individuos que dos o más miembros afectados de la familia. Para el cáncer colorrectal esporádico, este aumento del riesgo en presencia de afecta al menos en parte a la baja penetración Factores genéticos. Por consiguiente, la historia familiar positiva tiene un papel en aproximadamente 15-20% de los pacientes con cáncer colorrectal. De hecho, un subgrupo específico de la población de estos pacientes está formado por los afectados por un síndrome hereditario de cáncer colorrectal, que representa el 5-10% de pacientes. El síndrome más común en esta categoría es el síndrome de Lynch (Lynch, Snyder, Shaw, Heinen, & Hitchins, 2015). Este síndrome es causado por una mutación en uno de los genes de reparación del emparejamiento alterado de DNA: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 o EPCAM. La incompatibilidad en la reparación durante la replicación da lugar a la acumulación mutaciones del ADN, que ocurren, en particular, en fragmentos de ADN de microsatélite con secuencias de nucleótidos repetitivos. Esta inestabilidad de microsatélites (MSI) puede ser identificada mediante pruebas de PCR, que compara el DNA normal contra el tumoral del mismo paciente. Los pacientes con síndrome de Lynch solían ser identificados por criterios clínico-patológico como el de Ámsterdam y Bethesda. Sin embargo, la práctica clínica está cambiando hacia pruebas de material tumoral de todos los pacientes diagnosticados antes de los 70 años de

edad mediante PCR en búsqueda de IMS e inmunohistoquímica buscando falta de expresión de proteínas específica de la reparación del emparejamiento.

El segundo síndrome colorrectal hereditario más común es la poliposis adenomatosa familiar. Este síndrome es causado por mutaciones en el gen de poliposis coli (APC), que controla la actividad de la vía de señalización WNT4. La mayoría de los pacientes con poliposis adenomatosa familiar desarrollan adenomas colorrectales muy grandes y subsecuentemente cáncer a una edad temprana. Otras enfermedades síndromes de cáncer colorrectal hereditario incluyen la poliposis por mutaciones en el gen de la glicosilasa de DNA mutY (MUTYH), el síndrome de Peutz-Jeghers, poliposis dentada y poliposis juvenil (Da Silva, Wernhoff, Dominguez-Barrera, & Dominguez-Valentin, 2016).

La colitis crónica por enfermedad inflamatoria intestinal (EII) también se asocia con un mayor riesgo de cáncer colorrectal. Este riesgo aumenta con la duración más larga de la EII. La EII explica sólo el 1% de los cánceres colorrectales en poblaciones occidentales, y una serie de estudios sugieren que la incidencia de cáncer colorrectal en aquellos con EII está disminuyendo debido a los tratamientos antiinflamatorios eficaces y la mejora de la vigilancia.

Los factores relacionados al estilo de vida influyen en el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal. El riesgo se incrementa al fumar, la ingesta de alcohol y el aumento de peso corporal. Con cada aumento del índice de masa corporal, el riesgo de cáncer colorrectal el cáncer aumenta en 2-3% (Renehan, Tyson, Egger, Heller, & Zwahlen, 2008) (Ma et al., 2013). En estrecha conjunción, pacientes con diabetes mellitus tipo 2 también tienen mayor riesgo de cáncer colorrectal (Guraya, 2015). El consumo moderado de alcohol (2-3 unidades por día) se ha estimado aumentar el riesgo en un 20%, mientras que un consumo elevado está asociado con un aumento de hasta un 50% riesgo (Fedirko et al., 2011). El tabaquismo intensivo prolongado tiene un efecto similar magnitud (Liang, Chen, & Giovannucci, 2009). La ingestión de carne roja y carne procesada aumenta el riesgo de cáncer colorrectal 1,16 veces por cada 100 g de aumento de la ingesta diaria (Hammerling, Bergman Laurila, Grafström, & Ilbäck, 2016). Por el contrario, el consumo de leche, cereales integrales, frutas y verduras, así como una ingesta de calcio, fibra, multivitaminas y vitamina D, disminuyen el riesgo de cáncer colorrectal. La disminución del riesgo se estima para ser aproximadamente 10% por la ingesta diaria de cada 10 g de fibra, 300 mg de calcio o 200 ml de leche (M. Song, Garrett, & Chan, 2015). La actividad física diaria durante 30 minutos tiene una magnitud en la reducción de riesgo similar. La dosis baja de aspirina también se ha asociado con menor riesgo de cáncer

colorrectal(Wolin, Yan, Colditz, & Lee, 2009). La prevalencia de estos factores de estilo de vida modificables puede explicar, en gran medida, la diversa situación geográfica y las diferencias socioeconómicas en la incidencia del cáncer colorrectal. Varios estudios han estimado que el 16-71% de los cánceres colorrectales en Europa y los Estados Unidos atribuible a factores de estilo de vida(Aleksandrova et al., 2014)(Kuipers et al., 2015).

Los diversos factores ambientales que influyen la carcinogénesis colorrectal se reflejan probablemente en heterogeneidad del cáncer colorrectal y ha estimulado la investigación en el campo de la “epidemiología patológico-molecular”, que se centra en la correlación entre ambientales y genéticos, y entre los factores moleculares características tumorales y progresión de la enfermedad.

## **Transformación**

Son diferentes factores ambientales y genéticos que causan cáncer colorrectal mediante la promoción de los sellos distintivos de cáncer en el epitelio de colon. Una forma en que estos rasgos distintivos del cáncer se adquieren a través de la acumulación progresiva de mutaciones genéticas y alteraciones epigenéticas que activan oncogenes e inactivan genes tumor supresores. La pérdida de la estabilidad genómica y / o epigenómica ha sido observada en la mayoría de los casos de las lesiones en el colon (focos aberrantes en criptas, adenomas y pólipos dentados) y es probablemente un evento molecular y fisiopatológico central en la iniciación y la formación de cáncer colorrectal.

En el colon, la evolución de las células epiteliales normales al adenocarcinoma en gran medida sigue una progresión histológica predecible y cambios genéticos y epigenéticos concurrentes. Existen dos modelos de carcinogénesis en el CCR: la vía supresora (clásica) y la vía mutadora (alternativa). La vía Supresora también se le conoce como vía de la inestabilidad cromosómica, así como a la vía mutadora la vía de la inestabilidad microsatelital. La vía clásica es el modelo de progresión Adenoma – Carcinoma descrito por Fearon y Volgestein en 1990, el cual ocurre en el 80% del CCR esporádico(Fearon & Volgestein., 1990). En la vía mutadora, hay mutaciones en los genes de reparación del DNA que condicionan como fin último inestabilidad microsatelital, se presenta en 20% del CCR esporádico y 80% CCR hereditario. La gran mayoría de neoplasias malignas que se originan de intestino grueso son adenocarcinomas epiteliales que derivan de células epiteliales columnares en la capa mucosa del colon. Estos adenocarcinomas usualmente se originan de pólipos que resultan de proliferación y displasia.

La gran mayoría de los pólipos ocurren de forma esporádica y en individuos de edad avanzada; algunas veces de manera poco común síndromes familiares son asociados con cáncer de colon en individuos jóvenes. En particular, aunque la histología de los adenomas tubulares convencionales son bastante homogéneos, la biología molecular de estos pólipos son heterogéneos, lo que podría explicar por qué algunos adenomas progresan a cáncer colorrectal (aproximadamente el 10% de los pólipos) y algunos no.

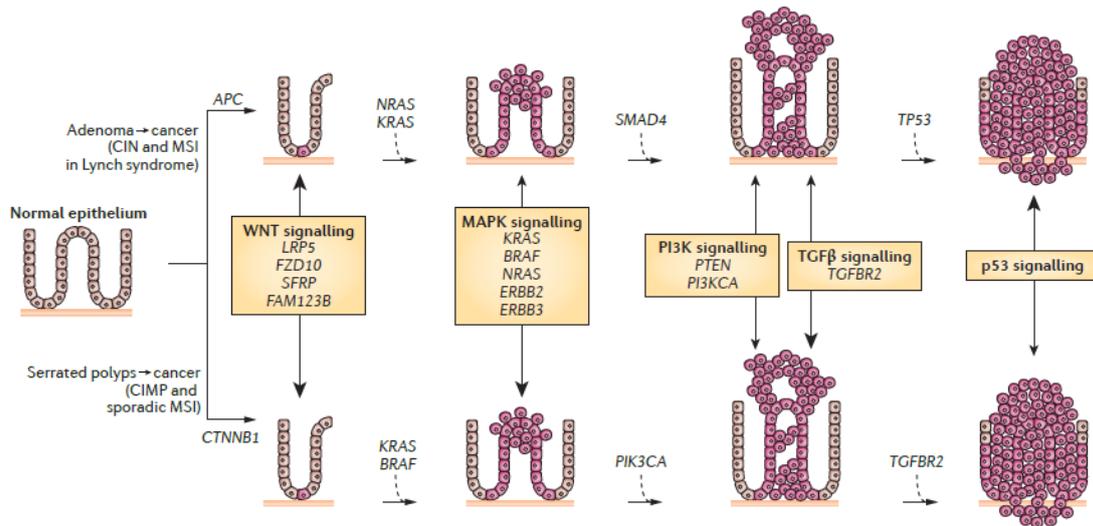


Figura 2 | La secuencia de mutaciones conocidas en la progresión de pólipos a cáncer colorrectal, en el síndrome de Lynch o los pólipos serrados(Kuipers et al., 2015).

## Inflamación en CCR

El desarrollo del cáncer pasa por varias etapas y pasos de carcinogénesis, uno involucrado y descrito en fechas recientes es el proceso de inflamación(Colotta, Allavena, Sica, Garlanda, & Mantovani, 2009)(Coussens & Werb, 2002).

Se sabe que la inflamación crónica es una parte fisiopatológica de muchas enfermedades, entre ellas el cáncer. Cabe destacar que los pacientes con las enfermedades intestinales - colitis de Crohn de la enfermedad de Crohn - están en mayor riesgo de desarrollar malignidad colorrectal, en relación con los que no presentan estos trastornos. Esto también se observa en animales experimentales con inducida por la inflamación intestinal.

La inflamación es impulsada por la acumulación de diversos agentes inmunes e inflamatorios células y mediadores inflamatorios solubles, tales como citoquinas, quimiocinas, factores de crecimiento, moléculas de lípidos, oxígeno reactivo y especies de nitrógeno(Lasry, Zinger, &

Ben-Neriah, 2016). La interacción entre estas células inmunitarias e inflamatorias y citocinas conduce a generación de señales autocrinas y parácrinas que fomentan la progresión de las células tumorales, crecimiento y metástasis(Elinav et al., 2013). Se produce un vínculo claro entre la inflamación y la CRC. Incluso CRC que está vinculado a mutaciones genéticas muestra una contribución de la inflamación al desarrollo de tumores, como lo demuestra la disminución de la mortalidad por CRC con uso regular de los AINE. Estos datos apoyan fuertemente un papel pro-tumorigénico de la inflamación en el cáncer de colon. Varios factores pueden influir en el inicio de la inflamación y establecimiento de CRC(Janakiram & Rao, 2014). La inflamación también está asociada con la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies de nitrógeno reactivo (RNS). Se sabe que los radicales libres están asociados a carcinogénesis, y que las células fagocíticas inflamatorias forman ROS. Por lo general, estos reactantes llevan a mutaciones en el ADN que pueden ser mutagénicas e implicadas en la etiología del cáncer. La expresión aumentada de ROS ha sido documentada en los tumores de colon de pacientes(Tazawa et al., 2013).

Los pólipos/adenomas vellosos muestran una mayor inflamación aguda y crónica en comparación con la mucosa colónica normal y adyacente no displásica. El tamaño del adenoma se correlaciona con el grado de inflamación aguda y crónica. Los TVP muestran una mayor inflamación aguda y crónica en comparación con los pólipos hiperplásicos/serrados HSP del mismo tamaño(Bilinski, Burleson, & Forouhar, 2012)

Varias condiciones inflamatorias, benignos (pólipos hiperplásicos), premalignos (adenomas) y malignos del colon se asocian con alteraciones en la expresión, organización, glicosilación de mucina que a su vez impactan la función. Las mucinas son proteínas altamente glicosiladas denominadas mucinas (MUCs) que son los componentes básicos del sistema gastrointestinal (GI) del sistema de moco, almacenada y secretadas por la mucosa intestinal y las células caliciales en el intestino, las cuales se forman de la glicosilación y se sabe están alteradas en diferentes cánceres. Las mucinas proporcionan una barrera molecular selectiva para la protección luminal del tracto gastrointestinal contra factores tales como alimentos, ácido, enzimas y bacterias. Las aberraciones de mucina afectan una variedad de actividades celulares, incluyendo crecimiento, diferenciación, transformación, adhesión, invasión, y la vigilancia inmunológica(Krishn et al., 2016).

En consecuencia, la investigación orientada a la nutrición se está enfocando en la cuestión de vincular patrones dietéticos a la inflamación(Carvalho et al., 2012). Dentro de este mecanismo

existen varios compuestos relacionados que vinculan la inflamación con la carcinogénesis y la progresión tumoral.

### La alimentación y el CCR

En fechas recientes la alimentación ha tomado un papel importante en los estándares de carcinogenesis, mostrando en estudios de metaanálisis un incremento en el riesgo de 24% para adenomas para los pacientes adherentes a patrones dietéticos poco sanos (RR=1.24, IC del 25%. 1.13 – 1.35)(Godos et al., 2016). Las dietas proinflamatorias relacionadas a un índice de inflamatorio de la dieta (IID) alto han mostrado un incremento de 43% en el riesgo de padecer cáncer colorrectal(Fan, Jin, Man, Gao, & Wang, 2017), por lo que se han realizado esfuerzos en enfocar que componentes de estas dietas están más relacionados al aumento de riesgo a nivel celular.

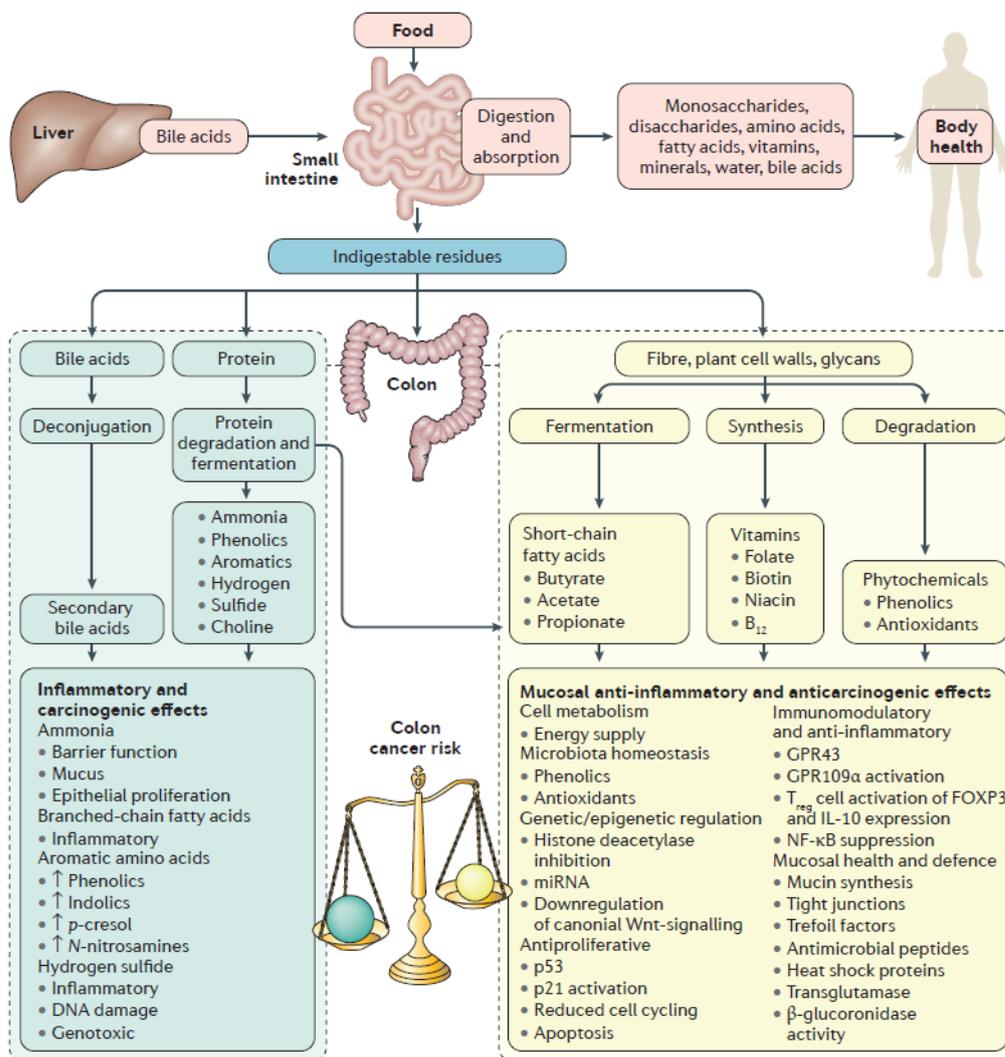


Figura 3 | La contribución de la alimentación en el cáncer de colon. (O’Keefe, 2016a)

En un organismo sano > 90% de una dieta normal se absorbe en el intestino delgado y los nutrientes se distribuyen para mantener la salud general del cuerpo. Los residuos que entran en el colon son principalmente carbohidratos complejos (fibra), pero también contienen residuos de proteínas y los ácidos biliares primarios por el hígado en respuesta a la ingestión de grasa. Estos residuos tienen un papel crítico en el mantenimiento de la salud ya que determinan la composición y actividad metabólica de la microbiota colónica que, a través de la fermentación, mantienen la salud de la mucosa y el colon. Con una dieta equilibrada, la fermentación sacarolítica de los carbohidratos es dominante, produciendo ácidos grasos de cadena corta, particularmente butirato, que es la fuente de energía preferida para los colonocitos y tiene acciones antiinflamatorias y antineoplásicas. Con un desequilibrado alto en grasa, alta carne, dieta baja en fibra, propiedades proinflamatorias y proneoplásicas de la fermentación proteica y ácido biliar desconjugado predominan los residuos, lo que conduce a un mayor riesgo de cáncer de colon(M. Song, Garrett, & Chan, 2016)(O'Keefe, 2016b).

Una sugerencia que ha tomado fuerza en los últimos años es que la carne roja está ligada directamente a la incidencia de cáncer colorrectal o indirectamente porque las dietas altas en carnes pueden estar deficientes en otros compuestos como fibra y polifenoles de las frutas y los vegetales(Bouvard et al., 2016), como se mencionó en el apartado de estilo de vida. Varios mecanismos moleculares se han propuesto detrás de la asociación estadística observada entre la ingesta de carne roja / transformada y el incremento en el riesgo de desarrollar CCR. Existen tres categorías de sustancias químicas que se perciben generalmente como atribuidas a este riesgo: (i) aminas heterocíclicas (HCA), que se forman al calentar mezclas de aminoácidos y azúcares a altas temperaturas, solas o conjuntamente con policíclicos hidrocarburos aromáticos (HAP), producidos típicamente de fumar o el asar los productos básicos de origen animal; ii) Compuestos N-nitroso (NOC), que pueden surgir como consecuencia de cocinar o mediante formación endógena (intestinal) a través de N-nitrosación de aminas o amidas derivadas a partir de proteínas digeridas con ácido y enzimas así como (iii) nitritos / nitratos, comúnmente presentes en dichos alimentos debido a la conservación o curado de los mismos. Cocinar la carne a altas temperaturas puede llevar a la formación de aminas heterocíclicas mutagenas y carcinogenas por la interacción de la creatinina muscular con los aminoácidos, así también a la formación de compuestos N-nitrosos (Simon et al., 1996)(Bonnett, Holleyhead, Johnson, & Randall, 1975). Freír, cocinar a la parrilla o cocinar con carbón potencialmente puede inducir estos cambios. El compuesto hemo en la carne puede actuar como un agente nitrosante promoviendo la formación de compuestos nitrosos. Las carnes más quemadas son más abundantes en grupos hemo que las carnes blancas, y por lo tanto, el

consume de carnes rojas (res, puerco o cordero) podrían incrementar el riesgo de cáncer colorrectal (Kim, Coelho, & Blachier, 2013). Otra teoría relacionada es la que involucra un ácido salicílico (ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc)) el cual está enriquecido en la carne roja y está vinculado con procesos inflamatorios que pueden llevar a procesos crónicos y por lo tanto a carcinogénesis (Samraj et al., 2015).

Aunque se conocen compuestos relacionados a ciertos alimentos, otros menos estudiados aún no han tomado papel importante en los compuestos vinculados a la carcinogénesis

### **Productos avanzados de la glicosilación.**

En estudios recientes se han determinado diversos compuestos heterogéneos derivados de glicosilación no enzimática entre azúcares reducidos y grupos amino libres de proteínas, lípidos o ácidos nucleicos. (Singh, Barden, Mori, & Beilin, 2001)(Uribarri et al., 2005). Durante los pasos iniciales en la llamada reacción de Maillard, se forma una base Schiff, los rearrreglos posteriores llevan a la formación de productos finales estables que son llamados (los productos avanzados de la glicosilación" (AGEs por sus siglas del inglés). Estas moléculas pueden ser formadas endogenamente, se sabe que aumentan durante el envejecimiento y tienen un importante rol en el desarrollo de nefropatía diabética. Exogenamente, pueden adquirirse por la dieta, pues se forman durante el procesamiento de los alimentos industrializados. Esta ingesta está ligada a un incremento en la inflamación y el estrés oxidativo en el cuerpo. El cáncer generalmente está asociado a tasas elevadas de glicolisis llevando al desarrollo de estrés carbonil intracelular elevado y la formación de AGEs (Brownlee, 2001).

Su efecto a nivel celular lo ejercen por medio de su receptor, causando cascadas de señalización involucradas en la inflamación (Ramasamy, Vannucci, Yan, Herold, & Schmidt, 2005), encontrado en distintos tipos de carcinomas (Kostova, Zlateva, Ugrinova, & Pasheva, 2010) y a fechas recientes se han involucrado con la génesis del cáncer (Gebhardt et al., 2008). El receptor para los productos avanzados de la glicosilación (45 kD) (RAGE, por sus siglas en inglés) es un receptor multiligando, perteneciente a la superfamilia de inmunoglobulinas, expresado en la superficie de monocitos, macrófagos, neuronas y células tubulares proximales renales, mesangiales, endoteliales y fibroblastos (Sourris & Forbes, 2009). RAGE está implicado en la homeostasis y desarrollo de neuronas embrionarias, inflamación y daño a tejidos tanto en Alzheimer como en Diabetes Mellitus y otras enfermedades degenerativas (Ramasamy et al., 2005). Entre sus ligandos más estudiados se encuentran las moléculas: high-mobility group box 1 (HMGB1), los productos avanzados de la glicosilación (AGEs), S100 y péptido beta-amiloide (Son, Jung, Shin, Byun, & Mook-Jung, 2012)(Cai, He, Zhu, Lu, & Vlassara, 2006). Esta

interacción dispara la activación de vías de señalización como MAP cinasa, NF kappa B y la generación de especies reactivas de oxígeno, resultando a su vez en la producción de citocinas proinflamatorias (Gebhardt et al., 2008).

## **RAGE y su papel en cáncer**

La interacción entre el RAGE y sus diferentes ligandos, promueve la señalización de vías proinflamatorias. Las citosinas juegan un rol importante en la patogénesis del cáncer; por ejemplo la citosina pleiotropica IL6, como mediador de inflamación y activador de STAT3, sirve en el microambiente tumoral para bloquear la apoptosis. En modelos celulares, más específicamente líneas celulares de tumor pancreático, el bloquear el RAGE no solo disminuye la secreción autocrina/paracrina, sino también inhibe la proliferación inducida por IL6(Rage, 2012)

Además los eventos proinflamatorios mediados por RAGE se han relacionado que la interacción de RAGE con sus ligandos y la señalización resultante juegan un rol en la modulación de las características de las funciones de células cancerígenas. Es uno de los factores de progresión tumoral y metástasis debido a sus efectos biológicos asociados con crecimiento celular, motilidad, invasión y producción de factores angiogénicos(Rui Kang, Tang, & Schapiro, 2009)(Kuniyasu et al., 2002) (Heijmans et al., 2013). En un estudio por Sasahira et al, la expresión de RAGE determinada por inmunohistoquímica, fue fuertemente asociado con la atipia y el tamaño de los adenomas colorectales(Sasahira, Akama, Fujii, & Kuniyasu, 2005). En estudios recientes se ha implicado al RAGE en la carcinogénesis, la invasión y metástasis de varios canceres(Kuniyasu et al., 2002)(R Kang et al., 2013)(Abe et al., 2004)(Heijmans et al., 2013). En el carcinoma de células renales y gástrico, se asocia con crecimiento celular (Kuniyasu et al., 2002). También se ha observado incremento en la expresión de RAGE durante la progresión de las neoplasias intraepiteliales(PanIN, que se consideran lesiones premalignas) en modelos murinos de cáncer de páncreas(Rui Kang et al., 2012). Donde los ratones *Ager* truncados detenían la progresión mediada por la mutación en *Kras* en lesiones PanIN. En modelos de cáncer de colon, *Rage* se asoció al desarrollo de adenoma y al desarrollo de tumores esporádicos a nivel intestinal(Heijmans et al., 2013). Se ha determinado en modelos murinos que truncar el gen de *Ager*, no solo prolonga la sobrevivida, también disminuye la incidencia de tumores no-pancreaticos. En el carcinoma de células renales y gástrico, RAGE se asocia con crecimiento celular (Kuniyasu et al., 2002)(Heijmans et al., 2013). Se sabe que bloquear la interacción de RAGE con sus ligandos ha mostrado disminución en el crecimiento y

en las metástasis, tanto de tumores implantados como espontaneas en ratones (Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J, 2009).

En cáncer de colon se conoce la expresión de este receptor y un estudio proporcionó evidencia de la interacción entre los componentes del eje AGE-RAGE, GLO1 y los receptores de adiponectina en CRC, donde estas dos últimas proteínas emergieron como nuevos biomarcadores pronósticos independientes de significancia adversa para pacientes con estadio temprano de la enfermedad. Sin embargo, no existió correlación entre la tinción de AGE y RAGE con la localización y el estadio tumoral (Sakellariou et al., 2016)

### **Receptores intracelulares de AGEs.**

Los receptores de AGE son heterogéneos y pueden ser divididos de tipo inflamatorio o de aclaramiento. Hasta el momento se han identificado, además del RAGE (considerado de tipo inflamatorio), tres proteínas acopladoras de AGEs involucradas en el aclaramiento. La más caracterizada es AGER-1 (o p60) una proteína de 50 kD homóloga a un componente del complejo de oligosacariltransferasa OST-48, y pertenece a la proteínas tipo A integrales de membrana (Breuer & Bause, 1995), donde se cree funciona estabilizando el complejo OST, y se encontró posteriormente siendo activo en la unión de ligando específico de AGE (Li et al., 1996), fue primeramente aislada con otros miembros del complejo oligosacariltransferasa y fue luego hallado como un acoplador de ligando específico para AGE y su degradación. AGER-1 asociado a la superficie celular de la membrana bloquea la respuesta celular inducida por AGEs en respuesta a la formación de especies reactivas de oxígeno, la activación de MAPK/Ras y la inflamación (Cai et al., 2006)(Cai et al., 2008). Su expresión aumenta el aclaramiento de los AGEs de la circulación (Vlassara H, Brownlee M, 1985). Además, un incremento en la cantidad de AGER 1 suprime la lesión inflamatoria en las células mesangiales mediada por AGEs, a través de una regulación negativa de la señalización del RAGE(Lu C, He JC, Cai W, Liu H, Zhu L, 2004). Otro papel que se le ha asignado a los AGEs durante la generación de especies reactivas de oxígeno, es la estimulación de múltiples receptores, incluyendo el receptor de factor de crecimiento endotelial (EGFR) muy relacionado a cáncer colorectal. Se ha demostrado que AGER-1 regula negativamente el estrés oxidativo dependiente de AGEs dependiente de la vía de EGFR y la vía Shc/Grb2/Ras, ambas muy vinculadas en la carcinogénesis del cáncer de colon(Cai et al., 2006).

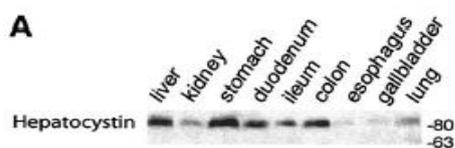
AGER-3 (también conocida como galectina-3); y Galectina-3 (Gla-3), que es una proteína que pertenece a la familia de las lectinas, que unen glucoconjugados  $\beta$ -galactosidasa(Ott et al., 2014). Gal-3 muestra una localización ubicua dentro de la célula, mayormente en el

citoplasma(Haudek et al., 2010). La expresión y localización de la galectina-3 también varía dependiendo de la capacidad replicativa de la célula, disminuyendo con el envejecimiento, asociándose con la pérdida de la regulación de la galectina-3(Openo, Kadrofske, Patterson, & Wang, 2000). Galectina-3 está presente en la mayoría de los tejidos normales y tipos celulares, su sobreexpresión se ha asociado a progresión, metástasis y sobrevida de pacientes con cáncer (C. G. Chiu et al., 2010)(Nangia-makker, Tait, Miller, & Raz, 2004)(S. Song et al., 2012).

## Receptor de productos avanzados de la glicosilación tipo 2

Dentro de los receptores de AGEs existe una proteína acopladora relacionada con la activación celular: AGE-R2 (p90), esta es una proteína de 80 kD homologa al sustrato 80K-H de PKC (Li et al., 1996) siendo una proteína tirosin fosforilada localizada en la membrana plasmática; y parece interactuar indirectamente por medio de la estabilización del complejo receptor de AGEs. También conocida como Hepatocistina esta molécula reside en el lumen del retículo endoplásmico (RE), donde funciona como la subunidad beta no catalítica de la glucosidasa II (una alfa glucosidasa,)(Pelletier et al., 2000), el complejo de glucosidasa II es responsable de la encargado de la remoción de dos residuos de glucosa durante la N-glicación y del control de calidad del doblamiento de glicoproteínas en el RE(Stigliano, Caramelo, Labriola, Parodi, & Alessio, 2009). También la pérdida de glucosidasa II, se asocia con enfermedad poliquística del hígado, donde la hepatocistina falla en ensamblarse a una proteína llamada GANAB durante el procesamiento de glicoproteínas, llevando a proliferación celular y diferenciación(Yang et al., 2011). En un estudio se asoció a GANAB con el desarrollo de cáncer, a través de una regulación negativa de migración celular y habilidades invasoras(C.-C. Chiu et al., 2011). La delección de PRKSCH en el complejo Glu II lleva a inhibición de mTOR constituyendo el paso definitivo en la inducción de autofagia, un paso indispensable en la carcinogenesis, ya que la autofagia confiere una ventaja en sobrevida (Yang et al., 2011).

En un estudio que estudiaba la molécula vinculada con la enfermedad poliquística hepática autosómica dominante, se realizó un ensayo de inmunoblot en un panel de tejidos humanos(Drenth, te Morsche, Smink, Bonifacino, & Jansen, 2003), incluyendo varios tipos de orígenes gastrointestinales (ej. Hígado, estomago, duodeno, íleo, colon, esófago y vesícula), mostrando que esta proteína está ampliamente expresada en el sistema digestivo(Drenth, Martina, Te Morsche, Jansen, & Bonifacino, 2004).



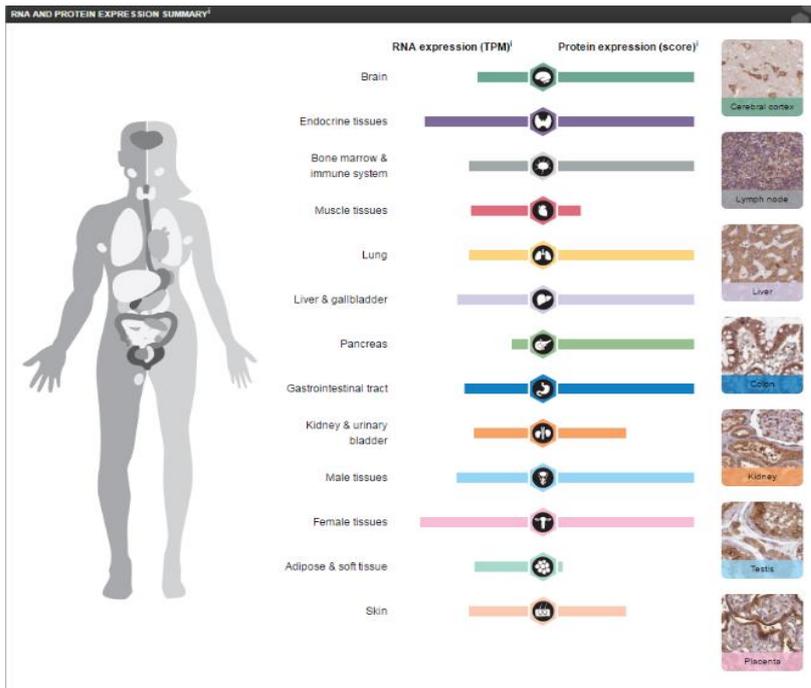


Figura 4 | a) Gel de inmunoblot que demuestra la presencia de la proteína Hepatocistina en diferentes tejidos intestinales (Drenth, et al. 2004). b) Esquema de proteína-Atlas donde se ilustra los sitios de expresión de RNA y proteína de la Hepatocistina. (Disponible en [www.proteinatlas.org](http://www.proteinatlas.org))

El AGER 2 también tiene un papel como subunidad beta no catalítica en el complejo de la glucosidasa II, este complejo tiene un papel importante y que es parte del procesamiento de proteínas residentes de membranas y secretadas, incluyendo factores de crecimiento y sus receptores; es la N-glicosilación.

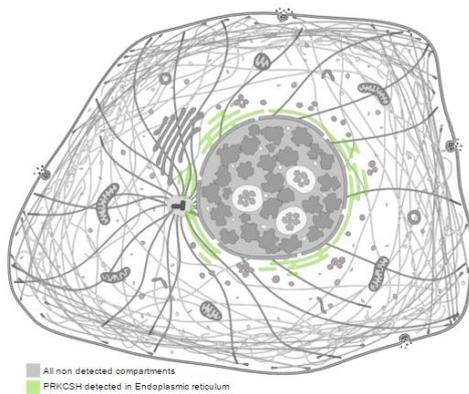


Figura 5 | Localización de AGER2 en el retículo endoplásmico por inmunofluorescencia en esquema.

La glicosilación proteica es una modificación postraslacional que juega un papel fundamental en múltiples procesos celulares incluyendo la adhesión, migración, reconocimiento celular y determinación inmunológica (Fuster & Esko, 2005). Existen en las células dos vías para la N-glicosilación: la vía dependiente de glicosidasas y la vía independiente. La vía dependiente ocurre en el Retículo endoplásmico y es mediada por acoplamiento hidrolítico de los residuos de glucosa terminal por las glucosidasas I y II. La glicosilación proteica aberrante es una huella de muchos cánceres incluidos el cáncer colorrectal (CCR) (Venkitachalam et al., 2016) y se sabe que ocurre durante la progresión. Sin embargo, las bases y mecanismos por los que contribuye a la progresión tumoral permanecen desconocidos. Diversos cambios en líneas celulares de cáncer de colon (Holst, Deuss, Pelt, et al., 2016) y tisulares asociados al CCR en la N-glicosilación han sido reportados recientemente, siendo caracterizado el incremento de glicanos sulfatados, glicanos tipo manosa truncados y glicanos que contienen epitopes tipo Lewis sialilados, mientras muestran decremento de la bisección comprando con los glicanos de los tejidos colorectales no tumorales de los mismos individuos (Balog et al., 2012b). Además de su papel en la glicosilación, existen estudios que vinculan a la hepatocistina durante la embriogénesis, teniendo un papel importante en la gastrulación, esto debido a su relación con TRPM7 un canal iónico que interactúa con la hepatocistina (Overton, Komiya, Mezzacappa, Nama, & Cai, 2015).

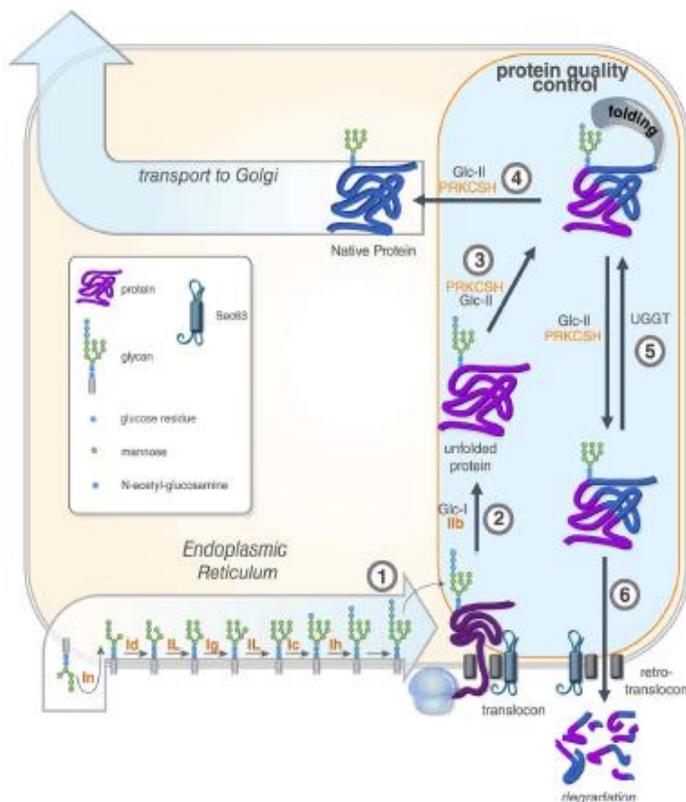


Figura 6 | Papel de AGER2 durante la Glicosilación.

Además, se ha detectado que la elevación de 80K-H, como también se le conoce al AGER2, interactúa con receptor de crecimiento de fibroblastos tipo 1 (Goh et al., 1996), y que la fosforilación de esta proteína en los residuos de tirosina, está implicada en la señalización del receptor de FGF (Kanai, Göke, Tsunekawa, & Podolsky, 1997). Demostrándose más tarde la importancia de ambos en las células epiteliales en cáncer de mama, en una vía nuclear relacionada con la progresión en estos tumores (Forough et al., 2003). En cáncer de colon el conocimiento de esta proteína es poco. Un estudio cohorte en pacientes diabéticos, demostró que el uso de inhibidores de la alfa-glucosidasa, está relacionado con una reducción del 27% en el riesgo de cáncer colorectal comparado con los sujetos que no lo toman (Tseng, Tsan, Chan, Sheu, & Chen, 2015). Sin embargo no existen estudios que determinan la expresión del gen en diferentes estadios clínicos.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- México tiene un alto porcentaje de pacientes con cáncer de colon, siendo la tercera causa de incidencia en nuestro país y presentando un incremento en pacientes jóvenes (menos de 40 años). Se sabe que son diferentes las vías moleculares que están involucradas en la carcinogénesis y la progresión del adenocarcinoma de colon. Se han involucrado diferentes alimentos y sus metabolitos con algunas vías de progresión. Dentro de estos metabolitos los productos avanzados de la glicosilación han comenzado a tomar un papel importante. Existen estudios que mencionan en líneas celulares la expresión de los receptores de los productos avanzados de la glicosilación como factores que contribuyen a la progresión en diferentes etapas de adenocarcinoma de colon. Pero consideramos que dentro de estos receptores el AGER 2 pudiera tener un lugar primordial en los sucesos durante los diferentes estadios clínicos. Por lo que se requieren estudios que nos permitan conocer si existe la presencia de este receptor y su posible papel en la progresión del cáncer de colon.

## III. PREGUNTA DE INVESTIGACION:

- **¿Cuál es la variación en la expresión de las moléculas del Receptores de Productos avanzados de la glicosilación tipo 2 (AGER2) en los diferentes estadios clínicos de adenocarcinoma de colon?**

#### **IV. JUSTIFICACION**

Existen estudios que ligan otros receptores de AGEs (RAGE y AGER3) con la progresión y agresividad del cáncer. Se ha vinculado el uso de inhibidores de alfa-glucosidasas con la reducción del riesgo de cáncer de colon, sin embargo, no se ha caracterizado la presencia de AGER 2, una subunidad de la alfa-glucosidasa, en las células de adenocarcinoma de colon.

#### **V. OBJETIVOS**

a) Objetivo Principal:

- Identificar si existe variación expresión de RNA mensajero por PCR en tiempo real de los receptores de AGEs tipo 2 en las células de adenocarcinoma de colon.

b) Objetivos particulares.

- Determinar si existe diferencia en la expresión de RNA mensajero por PCR en tiempo real de AGER 2 entre en los diferentes estadios clínicos, los diferentes subtipos histológicos de adenocarcinoma y el grado de diferenciación patológica.

Al ser un estudio piloto de tipo translacional/exploratorio se realizará una descripción de los niveles de mRNA de AGER 2 a nivel celular en tumores tipo adenocarcinoma de tejido colonico. Por lo que se prescinde de Hipótesis.

## VI. METODO

### 1. CARACTERISTICAS DONDE SE REALIZÓ EL ESTUDIO

Se realizó en el Laboratorio de Oncología Molecular, siendo responsable e investigador principal el Dr. Mauricio Salcedo Vargas, siendo un centro de referencia de Oncología a Nivel Nacional. El tejido se obtuvo de las Unidades de Patología Oncológica del Hospital de Oncología del CMN SXXI a cargo de la Dra. Alvarado, en colaboración con la Dra. Alejandra Mantilla y del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología, a cargo del Dr. Héctor Maldonado Martínez.

### 2. DISEÑO

#### 2.1 TIPO DE ESTUDIO

- A3. Transversal
- B1. Exploratorio
- C1. Comparativo

#### 2.2 GRUPOS DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE PACIENTES

Las muestras fueron tomadas de pacientes vistos en el Centro Médico Nacional Siglo XXI y el Instituto Nacional de Cancerología, con diagnóstico de adenocarcinoma de colon en el periodo 2010 a 2015.

CASOS: Pacientes de 18 a 90 años con diagnóstico de cáncer de colon, estadios clínicos I a IV.

#### A) CRITERIOS DE INCLUSION:

- a. Pacientes cuenten con bloque de parafina del adenocarcinoma de colon (biopsia o producto de resección quirúrgica) en el que se pueda extraer RNA.
- b. Pacientes que cuenten con estadificación correcta por medio de estudios de extensión (tomografía o resonancia magnética o PET y colonoscopia) y reporte histopatológico de la resección quirúrgica.
- c. Pacientes que cuenten con laminillas del espécimen quirúrgico o de la biopsia del adenocarcinoma de colon.

#### B) CRITERIOS DE EXCLUSION:

- a. Pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante previo a la obtención de la muestra para diagnóstico.
- b. Que se realizaron cirugía fuera de las Unidades referidas y que no se logre encontrar el material de patología.
- c. Pacientes con cáncer de colon diferente a adenocarcinoma.

2.3 TAMAÑO DE MUESTRA. Al ser un estudio exploratorio no se considera un número de tamaño de muestra. Se intentará alcanzar un mínimo de 20 pacientes por estadio.

## 2.4 DESCRIPCION DE VARIABLES

	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición:
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo	Medición de tiempo desde la fecha de nacimiento hasta la fecha de primera vez en años.	Cuantitativa	Continua	años
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Determinación de caracteres sexuales que determinan al hombre o a la mujer.	Cualitativa	Nominal	1 = femenino 2= masculino
Receptor de los productos avanzados de la glicosilación tipo 2	Receptor de los productos avanzados de la glicosilación tipo 2 intracelular	Expresión génica por Reacción de la polimerasa.	Cuantitativa.	Continua	Delta CT
Subtipo Histológico de cáncer de colon	Resultado del estudio anatomopatológico de las células tumorales, que explica la célula que dio origen al grupo celular neoplásico.	Resultado del reporte histopatológico del espécimen quirúrgico (biopsia o pieza quirúrgica) del tumor maligno de colon con sus variantes morfológicas, revisado e interpretado por anatomopatólogo.	Cualitativa	Nominal.	1=mucinoso 2=intestinal 3=cribiforme 4=solido 5=micropapilar 6=mixto 7=mucoproducc tor 8=intestinal/ medular 9=Nodice 10=Celulas en anillo de sello

Grado Histológico	Descripción de un tumor según cuán anormales se vean las células y los tejidos cancerosos al microscopio y con qué rapidez es posible que las células cancerosas se multipliquen y diseminen.	Se asigna un grado de 1 a 3, dependiendo de su mayor o menor semejanza con las células normales.	Cualitativa	Nominal	1=moderadamente diferenciado. 2=poco diferenciado 3=bien diferenciado
Etapa Clínica	La etapa o estadio describe la extensión del cáncer que aqueja a una persona en base a los hallazgos clínicos.	De acuerdo a la estadificación clínica TNM del AJCC 7ª edición: T1 tumor que invade submucosa; T2 tumor que invade muscularis propia; T3 tumor que invade la muscularis propia hacia los tejidos pericorectales; T4a Tumor que penetra la superficie del peritoneo visceral; T4b Tumor que invade directamente o se adhiere a otros órganos. N0 sin metástasis ganglionar linfática; N1 metástasis a 1-3 ganglios regionales linfáticos; N1a Metástasis a un ganglio regional linfático, N1b Metástasis en 2-3 ganglios regionales linfáticos, N1c Depósitos de tumor en la subserosa, mesenterio o tejidos pericolicosno peritoneal esotejidos perirectales sin metástasis ganglionar regional; N2 Metástasis en 4 o más ganglios linfáticos regionales, N2a Metástasis en 4-6 ganglios linfáticos regionales, N2b Metástasis en 7 o más gánglios linfáticos regionales. M0 Sin metástasis a distancia. M1: metástasis a distancia, M1a Metástasis confinada a	Cualitativa	Ordinal.	I, IIA, IIB, IIC, IIIA, IIIB, IIIC, IVA, IVB.

un órgano o sitio (por ejemplo, hígado, pulmón, ovario, ganglio no regional); M1b Metástasis en uno o más órganos o sitios del peritoneo.

I: T1 N0 M0, T2 N0 M0

IIA: T3 N0 M0

IIB: T4a N0 M0

IIC: T4b N0 M0

IIIA: T1-2 N1/N1c M0, T1 N2a M0

IIIB: T3-T4a N1/N1c M0, T2-3 N2a M0, T1-T2 N2b M0

IIIC: T4a N2a M0, T3-T4a N2b M0, T4b N1-2 M0

IVA: Cualquier T, cualquier N M1a

IVB: Cualquier T, cualquier N M1b

## VII. MEDICIONES

Se propone un estudio exploratorio, en tejido embebido en bloques de parafina de pacientes previamente evaluados y que cumplan con criterios mencionados, para determinar la expresión del gen *PRKCSH*, que codifica *AGER2*, previo a cualquier tratamiento de quimioterapia, midiendo las variaciones en la expresión de *AGER2* en los diferentes estadios tumorales, y en caso de existir expresión buscar correlación con las características clínicas y patológicas tumorales.

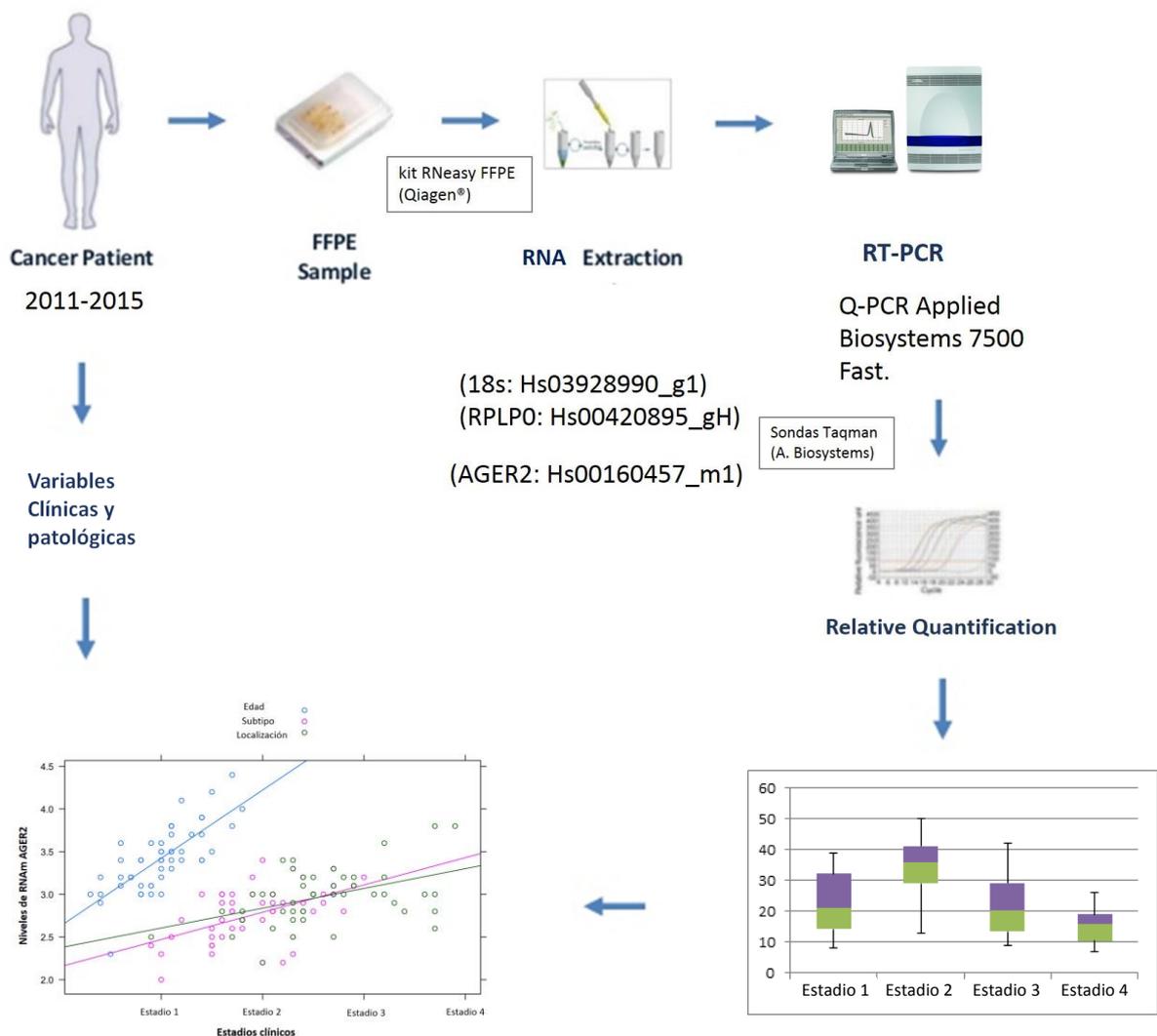
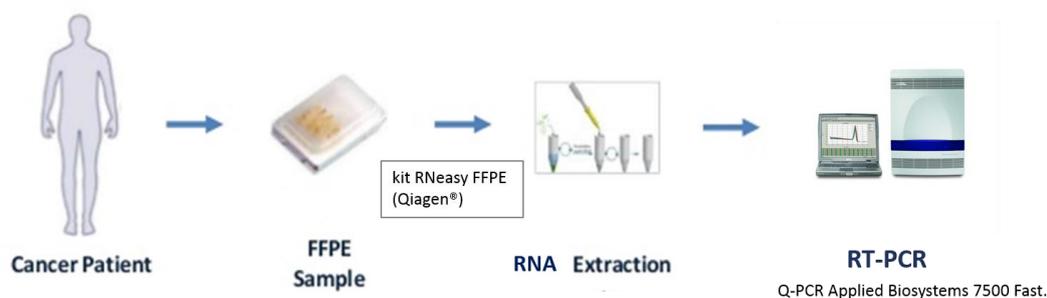


Figura 7 | Flujo de trabajo y análisis de resultados

## VIII. MATERIAL Y METODOLOGIA

Con apoyo de jefatura de servicio de Oncología Médica y Cirugía de Colon, se revisó el listado de pacientes con cáncer de colon en el Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI y de la Unidad Funcional Gastrointestinal del Instituto Nacional de Cancerología en el periodo enero 2011 a diciembre 2014. A partir de los expedientes de pacientes, se revisaron los criterios de inclusión, exclusión y eliminación para seleccionar pacientes candidatos a revisión en protocolo, y se llenaron las hojas de recolección de datos (ANEXO 1) a partir de los datos referidos en las notas médicas y reporte de histopatología. Con los datos recolectados, se realizó una base de datos para el análisis de información con medidas de tendencia central. Posteriormente se obtuvo el número de biopsia con el cual se guarda en archivo de patología con apoyo de la Dirección de Patología, siendo los casos seleccionados, se realizó una revisión del caso en conjunto con la Dra. Mantilla, subinvestigadora del proyecto.

Se realizó extracción de ARN de muestras de tejido embebido en parafina se realizó siguiendo las instrucciones del kit RNeasy FFPE (Qiagen®) usando Sondas Taqman para PCR en tiempo real (A. Biosystems) para el gen en estudio (AGER2: Hs00160457\_m1) y usando dos genes constitutivos para comparar (18s: Hs03928990\_g1, RPLP0: Hs00420895\_gH). La cuantificación del ARN se realizó mediante el empleo del espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). Se corrió la reacción de qRT-PCR en el sistema de Q-PCR Applied Biosystems 7500 Fast.



La expresión de AGER-2 se puede determinar mediante 2 métodos, cuantificación absoluta y cuantificación relativa. En nuestro estudio se realizó cuantificación relativa. La cuantificación relativa es una de las maneras más utilizadas en ensayos de expresión génica, ya que permite el ahorro de reactivos e insumos. La cuantificación relativa está basada en la comparación de una secuencia blanco normalizada con una referencia interna (Gen constitutivo, 18S por ejemplo) y comparada contra un calibrador (En este estudio se utilizó muestras de tejido de colon normal). Como se menciona su medición se realizó en células de cáncer de colon, durante diferentes estadios clínicos, incluyendo desde Estadio I hasta Estadio IV (carcinoma metastásico).

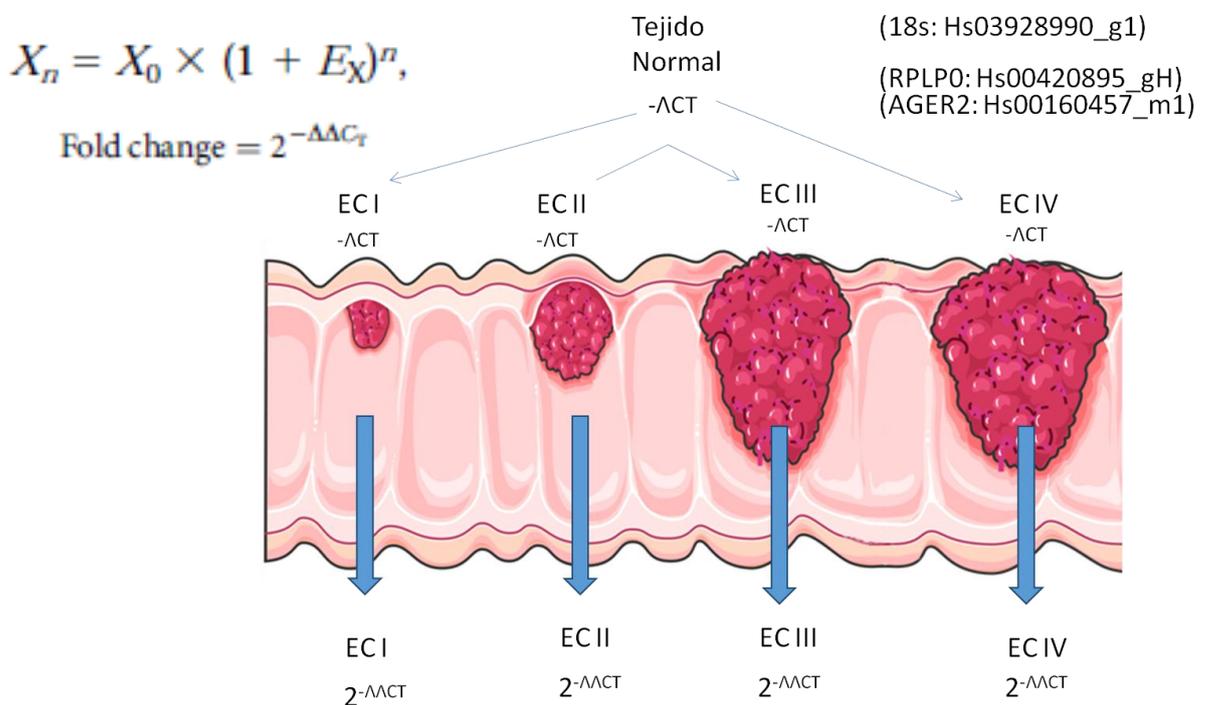


Figura 8 | Determinación de las tasas de cambio de la expresión génica en los diferentes estadios clínicos de adenocarcinoma de colon.

## IX. ANALISIS E INTERPRETACION DE DATOS

El análisis se realizó mediante SPSS V23.

Se calculó estadística descriptiva para los valores basales de las muestras; las variables categóricas serán calculados mediante test de Chi cuadrada para determinar porcentajes y medias; y desviación estándar para las variables continuas por medio de test de t de Student para muestras relacionadas. Con análisis de covarianza (ANCOVA) para las muestras categóricas (ej. Estadio Clínico) relacionadas con las variables continuas (2 DD Ct).

## **X. CONSIDERACIONES ETICAS**

De acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, título segundo, capítulo I, artículo 17, fracción I: El presente trabajo no representó riesgos a la población de estudio, ya que en ningún momento se realizaron intervenciones ni se vio amenazada su integridad física, por lo que no se requirió de autorización escrita con consentimiento informado.

Así mismo, sigue los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki en su versión revisada. Será solicitada su evaluación por el Comité local de Investigación en Salud. (CLISHO)

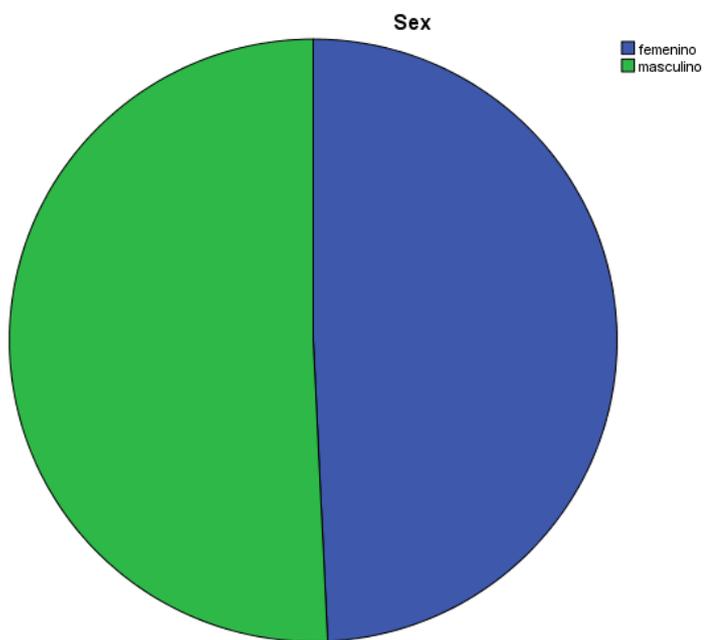
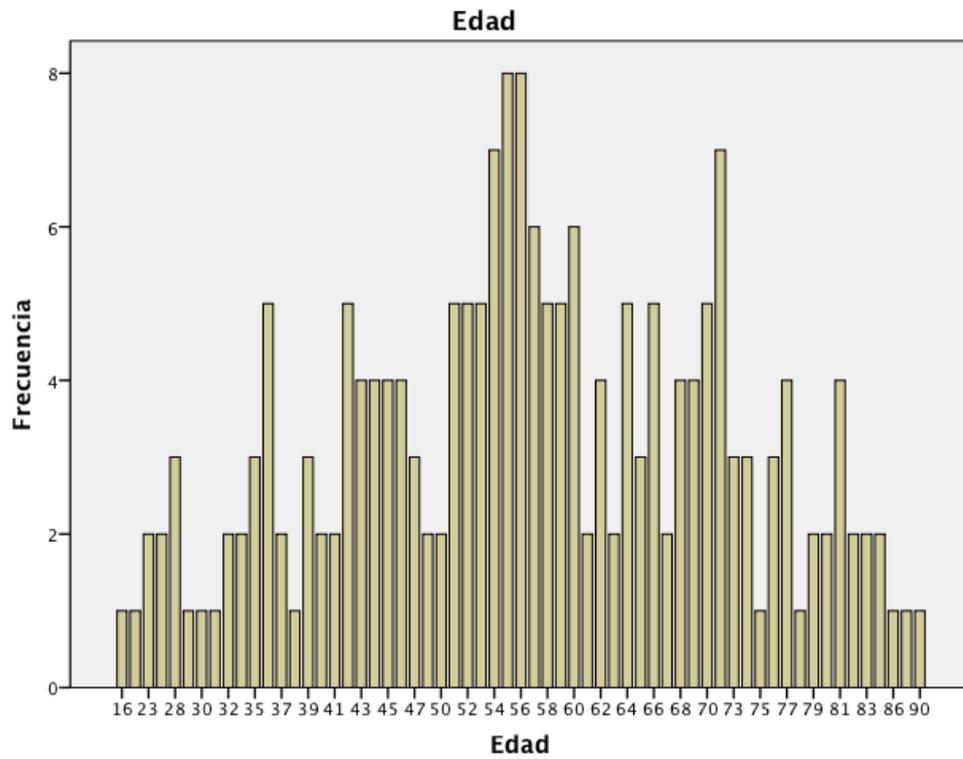
## XI. RESULTADOS

Se revisó el registro de pacientes de la Unidad Funcional de Gastro-Oncología, obteniendo los casos de los cuales se realizó una selección aleatoria, siendo posible construir una base de datos con 197 pacientes considerando los cuatro estadios clínicos.

Se presenta un análisis de frecuencias de la base de datos total:

La edad promedio de la muestra fue de  $56.4 \pm 15.55$  años. Teniendo una paciente de 16 años y el otro extremo una paciente de 90 años. Existiendo una distribución de frecuencias semejante para los sexos.

Tabla 1 – Características principales			
Pacientes	No. =197	(%)	
	Femenino	97	49.2
	Masculino	100	50.8
Edad Media	-- años	$56.4 \pm 15.55$	
	Rango	(16-90)	
Localización primario	Ascendente	96	48.7
	Trasverso	16	8.1
	Descendente	85	43.1
Estadio Clínico	I	48	24,4
	II	43	21,8
	IIIA	15	7,6
	IIIB	28	14,2
	IIIC	23	11,7
	IVA	27	13,7
	IVB	13	6,6



## Antecedentes Personales

En los antecedentes personales que se consideraron como variables se considero el Tabaquismo como antecedente de importancia, encontrando que un 31% de los pacientes de la muestra lo presentaban positivo.

Tabaquismo		
	Frecuencia	Porcentaje
Válido si	61	31.0
no	136	69.0
Total	197	100.0

Se consideraron los antecedentes familiares dentro de las variables para determinar si es factible establecer alguna hipótesis del grado de penetrancia de la expresión del gen y los datos familiares o antecedentes de enfermedad, por estar la hipertensión y la diabetes relacionados con la producción de productos avanzados de la glicosilación. Encontrándose Una tendencia similar al de la población general, de 15.2% para diabetes y 18.8% para hipertensión. Siendo un poco más alta para los antecedentes de algún familiar directo con diabetes mellitus.

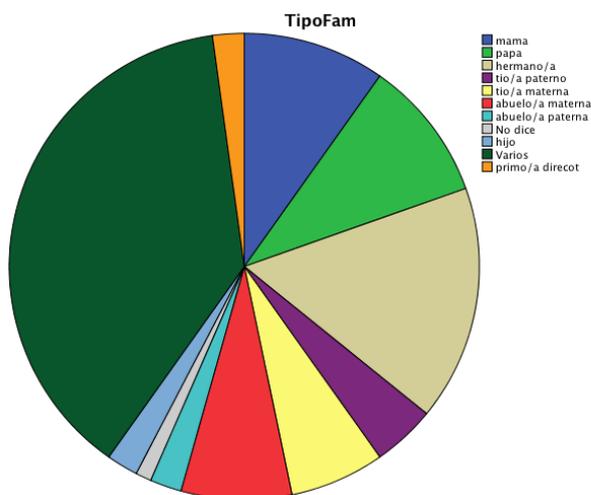
		Frecuencia	Porcentaje
Familiar con DM	Si	45	22.8
	no	152	77.2
Diabetes Mellitus	Si	30	15.2
	No	167	84.8
Hipertensión arterial	Si	37	18.8
	No	160	81.2

Tabla 2 | Antecedentes patológicos y familiares

Otra variable importante a considerar es la herencia y si esta puede influenciar la expresión por lo que se considero en la descripción general. Encontrando que casi la mitad (46.7%) de los pacientes mencionó algún familiar con antecedente de cáncer. De estos 92 pacientes que reportaron algún familiar con cáncer, fue varios el mayor porcentaje (17.85) de representación refiriéndose al menos a dos familiares directos seguido de 15 pacientes (7.6%) que mencionaron a su hermano/a como portador de cáncer. El 4.5% de los pacientes cuyo reporte daba para un síndrome de cáncer hereditario, siendo consistente con la literatura.

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
mama	9	4,6	9,8
papa	9	4,6	9,8
hermano/a	15	7,6	16,3
tio/a paterno	4	2,0	4,3
tio/a materna	6	3,0	6,5
abuelo/a materna	7	3,6	7,6
abuelo/a paterna	2	1,0	2,2
No dice	1	,5	1,1
hijo	2	1,0	2,2
Varios	35	17,8	38,0
primo/a directo	2	1,0	2,2
Total	92	46,7	100,0
Sistema	105	53,3	
	197	100,0	

Tabla 3 | Familiar en primer o segundo grado, relacionado al antecedentes de cáncer.

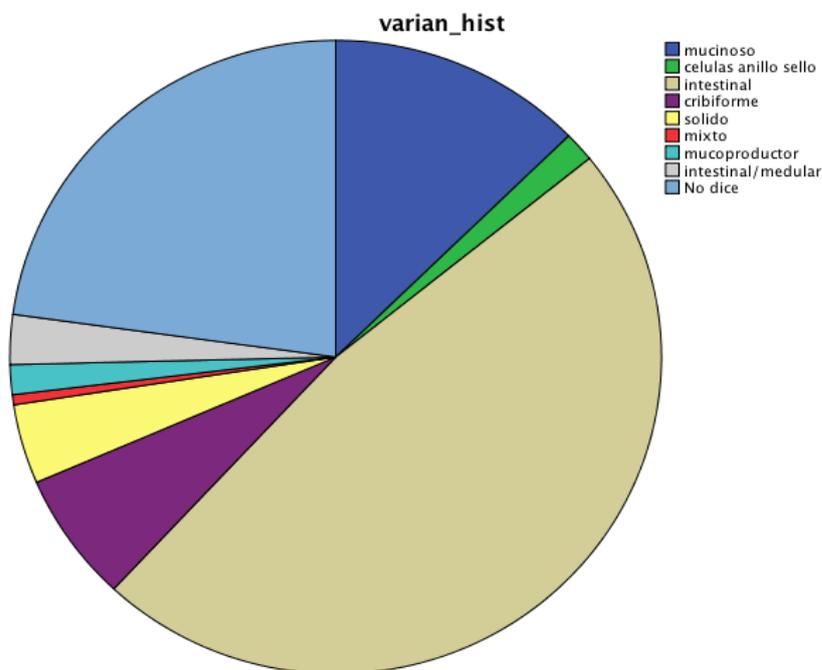


### VARIABLES DE LA BIOLOGÍA TUMORAL.

En cuanto a los datos arrojados por las características tumorales como se menciona en los criterios de inclusión debían ser histopatología de adenocarcinoma. De estos se determinaron los subtipos de los cuales el intestinal fue el más presente en las muestras con una frecuencia de 47.7%, seguido por la no mención de la variante y en tercer lugar el mucinoso (12.7%).

Subtipo histológico	Frecuencia	Porcentaje
<b>mucinoso</b>	25	12,7
<b>células anillo sello</b>	3	1,5
<b>intestinal</b>	94	47,7
<b>cribiforme</b>	13	6,6
<b>solido</b>	8	4,1
<b>mixto</b>	1	,5
<b>mucoproducor</b>	3	1,5
<b>intestinal/medular</b>	5	2,5
<b>No dice</b>	45	22,8
<b>Total</b>	197	100,0

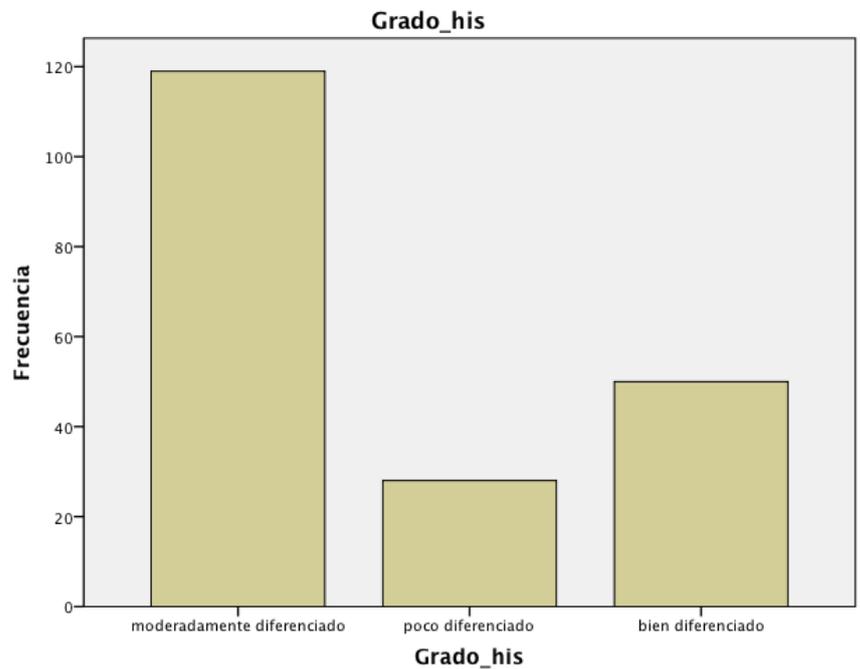
Tabla 4 | Subtipo histológico de adenocarcinoma.



El grado histológico fue predominante para el tipo moderadamente diferenciado con 119 casos (60.4%), seguido del bien diferenciado 50 casos (25.4%) y el poco diferenciado con 28 casos (14.2%).

Para Invasión linfocelular fue mayor el caso de pacientes que no presentaban (127/64.5%) que los que tenían datos de presencia de esta característica

(55/27.9%), habiendo unos casos cuyo reporte no definía la presencia o ausencia (15/7.6%).



## Características clínicas

### Sitio de tumor

En cuanto al sitio del colon donde se presentaba enfermedad fueron balanceados hacia en colon ascendente (48.7%) y el colon descendente (43.1%).

Sitio	Frecuencia	Porcentaje
Ascendente	96	48.7
Trasverso	16	8.1
Descendente	85	43.1
Total	197	100.0

Tabla 5 | Sitio anatómico de localización del tumor en colon.

### Estadio Clínico.

Se logro recopilar la información necesaria de al menos 40 casos para cada estadio clínico, sin embargo, la viabilidad de las muestras biológicas como se verá más adelante, no en todas las muestras se logró extraer material biológico. De lo examinado en los pacientes se obtuvieron datos clínicos de un 24.4% de estadio I, 21.8% de estadio II, Los estadios III y IV estaban divididos pero el total del estadio III fue de 33.5% y del EC IV de 20.3%.

Estadio Clínico	Frecuencia	Porcentaje
I	48	24,4
II	43	21,8
IIIA	15	7,6
IIIB	28	14,2
IIIC	23	11,7
IVA	27	13,7
IVB	13	6,6
Total	197	100,0

Tabla 6 | Estadio clínico.

## Resultados de Reacción en cadena de polimerasa.

Se tomaron en consideración todos los pacientes que se encontraban en la base de datos con datos clínicos completos por expediente electrónico. De estos 161 pacientes de la muestra fueron potenciales por presentar bloque de patología disponible. De estos 113 fueron seleccionados por conveniencia y por presentar una relación de 260/280 por arriba de 1.8 (pureza) y buena relación 260/230 (restos orgánicos). Durante los procedimientos de PCR se consideraron 8 muestras no adecuadas para la retro transcripción. 105 muestras fueron llevadas a la Reacción en cadena de la polimerasa, realizando duplicado de cada reacción para obtener un Ct promedio, cuatro muestras fueron descartadas por no presentar valores de Ct en rangos o reportar indeterminado. Siendo posible el análisis final 101 muestras como se muestra en la figura 9.

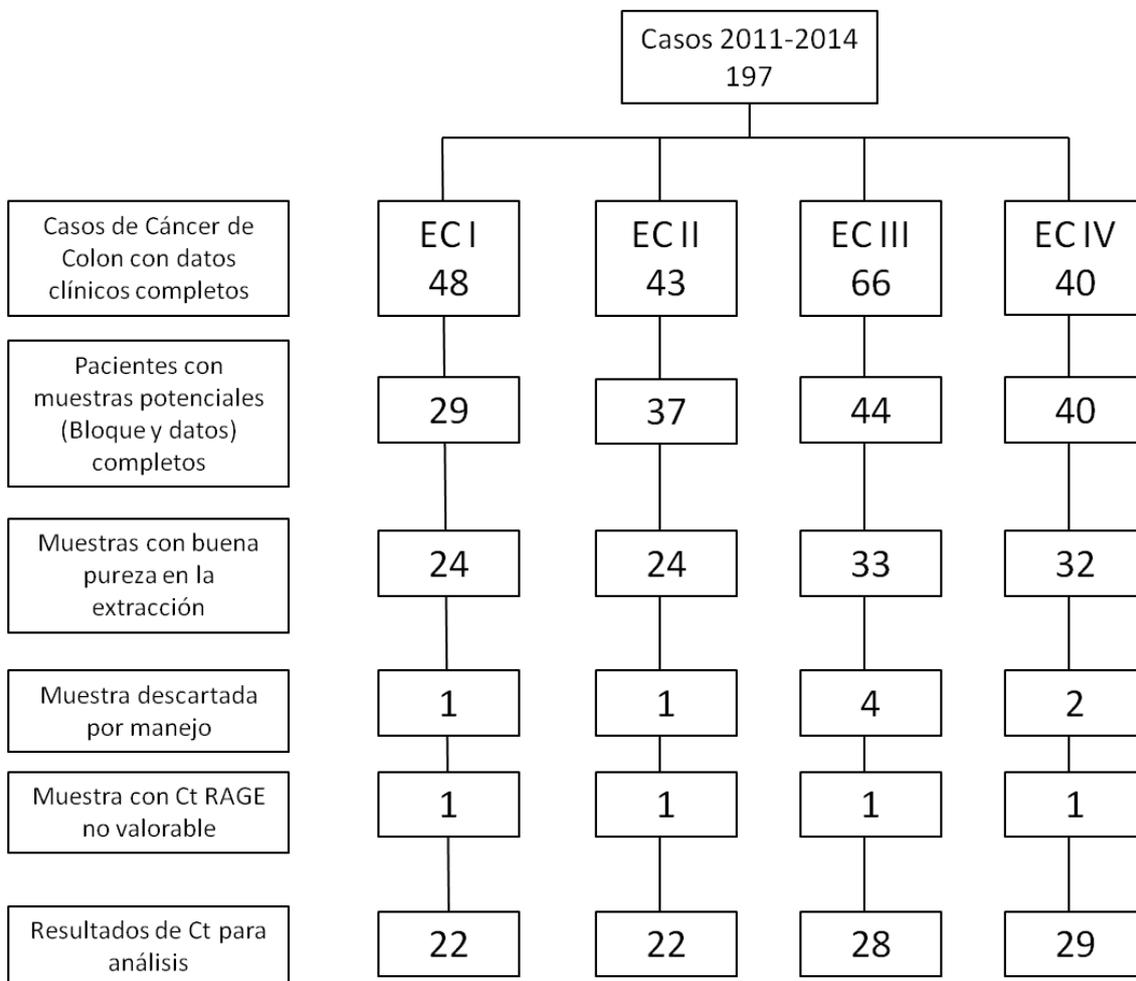


Figura 9 | Selección de casos y muestras para determinación de la expresión de AGER 2.

## Expresión de genes constitutivos para la cuantificación relativa

Se realizó PCR para cada muestra por duplicado o triplicado para cada gen constitutivo (18s y PRLP0) mostrando que presentan una distribución y una media homogénea lo cual los hace buenos genes para comparar la expresión. Siendo Seleccionado el 18s para el análisis preliminar, por la poca variabilidad entre los diferentes estadios clínicos y los CT más ajustados al AGER2.

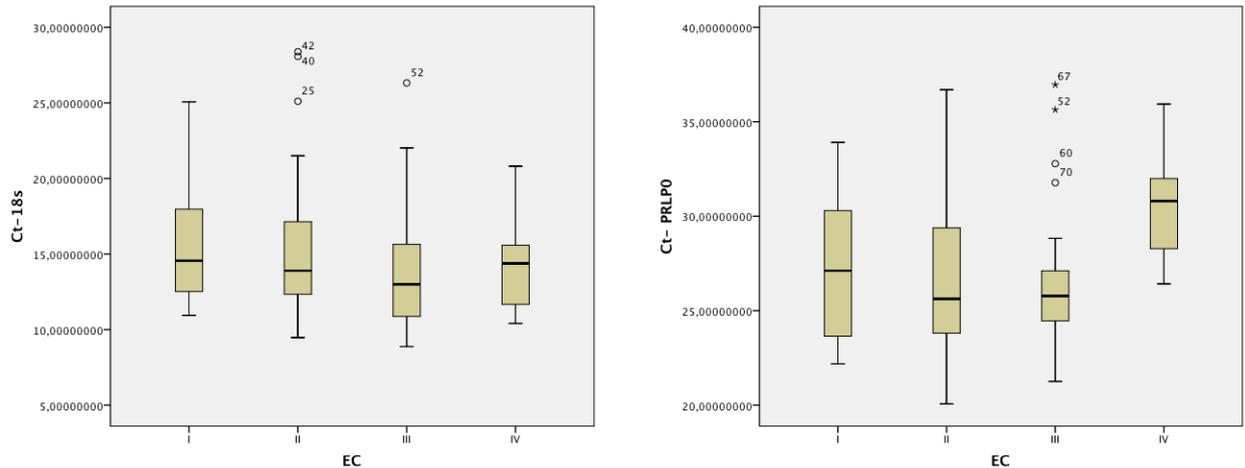


Figura 10 | Selección de genes constitutivos para el análisis de expresión por cuantificación relativa.

## Expresión Relativa de AGER tipo 2

Se realizó la cuantificación relativa del gen AGER2, por medio de la determinación del  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  entre 18s y AGER2. Se consideró los CT de 7 muestras de tejido de colon normal (sin tumor) como control para comparar entre cada uno de los estadios. Se considero el valor de 1 para el control, encontrando en los promedios de los Fold change para cada grupo. Se eliminaron muestras que presentaron valores muy altos en los estadios II y III (EC II: dos casos; EC III: 1 caso), pues los valores excedían la desviación estándar, y se consideraron errores de procesamiento, más que características biológicas. Con las muestras restantes, se encontraron los siguientes valores:

EC	Media	Desviación estándar	N
I	7,2235571084	4,71434006295	22
II	4,4416219818	3,06261400859	20
III	1,6286882097	1,19386865840	27
IV	,3470862013	,17805941235	29
Total	3,0794977298	3,75972874277	98

Se categorizo por estadio clínico para determinar los valores aproximados de las medias y sus desviaciones estándar.

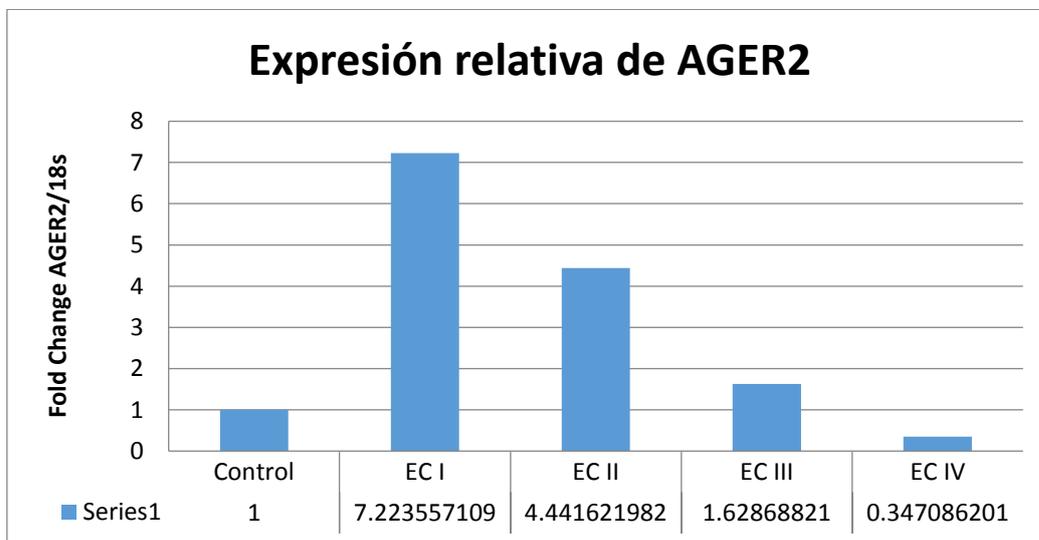
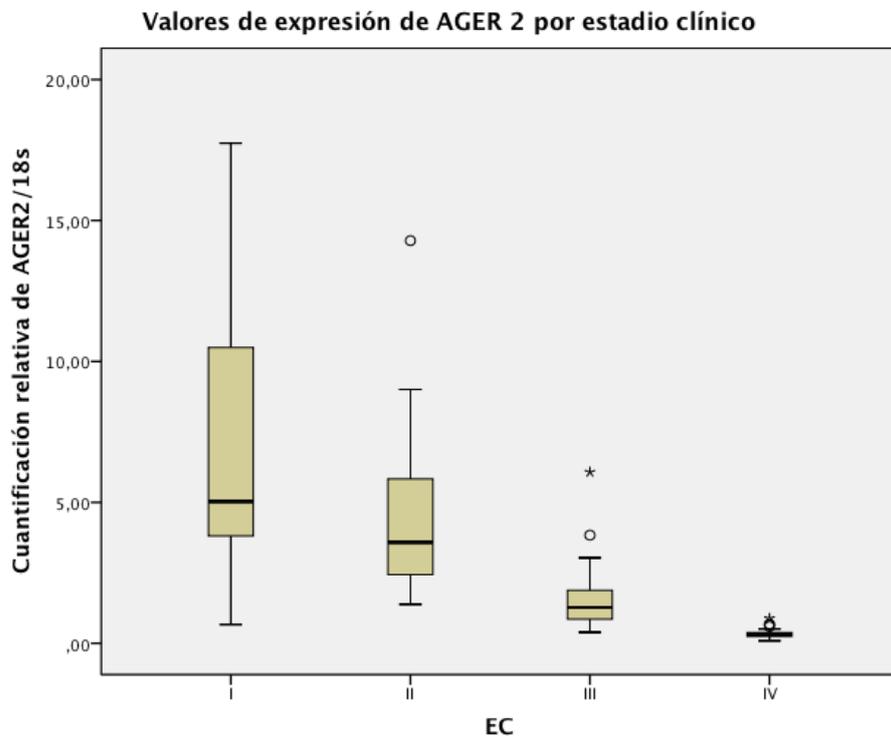
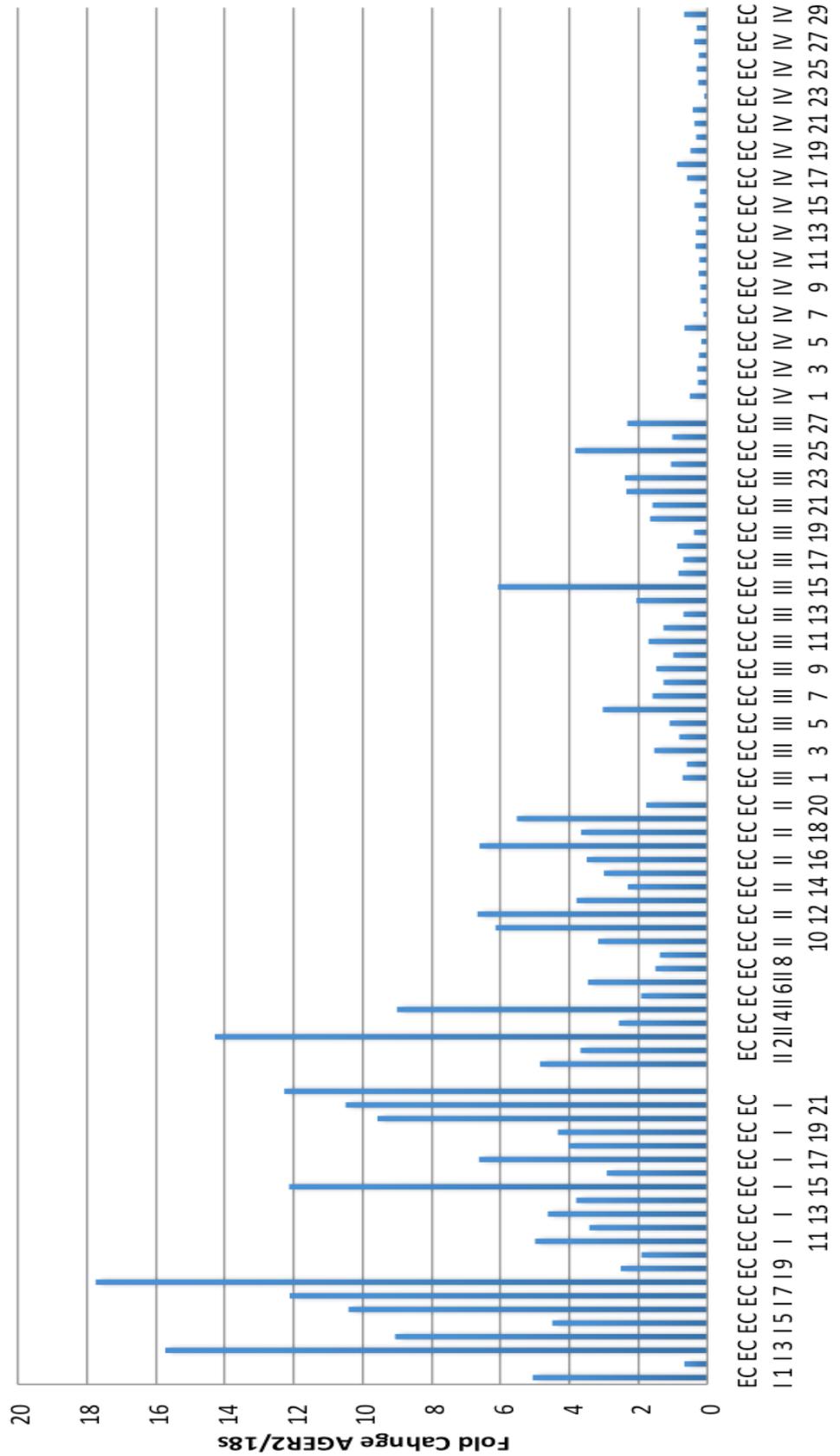


Figura 11 | a) Diagrama de cajas para los valores de la tasa de cambio por estadio clínico. b) Diagrama de barras para las tasas de cambio por Estadio clínico; en ambos tomando tejido normal como normalizador y comparando con 18s.

Se analizaron los resultados categorizando por estadio clínico y cada paciente, mostrando la misma tendencia de mayor expresión en estadios tempranos disminuyendo conforme avanza a estadios avanzados (Figura 12).

## Expresión relativa de AGER2



Se realizó primeramente un análisis de modelo lineal Univariante por ANOVA para las determinaciones de tasas de cambio y estadio clínico, mostrando significancia estadística ( $p < 0.0001$ ) (tabla 7).

**Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error<sup>a</sup>**

F	df1	df2	Sig.
17,258	3	94	,000

Se realizó el análisis de ANCOVA para introducir las posibles covariables que podrían estar relacionadas con esta variación, siendo solo el sexo una variable clínica que puede influir en la expresión, el resto de variables clínicas y patológicas, no muestran influencia en los resultados (Tabla 8). Existen casos aislados que presentaron mayor expresión del gen en cada uno de los estadios sin lograr encontrar una correlación significativa con alguna característica clínica que esté asociada a la variación.

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: R\_2DDCt

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	759,155 <sup>a</sup>	8	94,894	13,800	,000
Interceptación	135,015	1	135,015	19,635	,000
varian_hist	3,617	1	3,617	,526	,470
Grado_his	,952	1	,952	,138	,711
Sex	41,572	1	41,572	6,046	,016
Edad	18,833	1	18,833	2,739	,101
Ca	,366	1	,366	,053	,818
EC	694,851	3	231,617	33,683	,000
Error	611,994	89	6,876		
Total	2300,513	98			
Total corregido	1371,149	97			

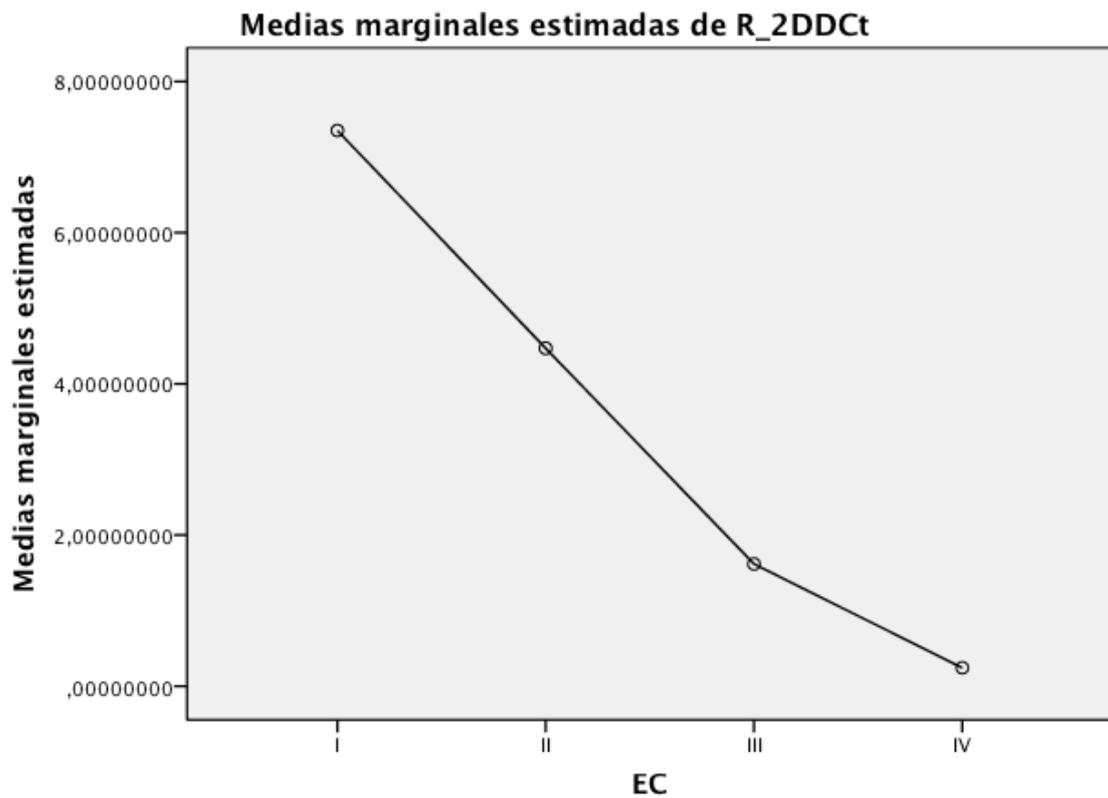
a. R al cuadrado = ,554 (R al cuadrado ajustada = ,514)

### Estimaciones de parámetro

Variable dependiente: R\_2DDCt

Parámetro	B	Error estándar	t	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Interceptación	4,071	1,643	2,478	,015	,807	7,336
varian_hist	,061	,084	,725	,470	-,107	,229
Grado_his	-,118	,316	-,372	,711	-,746	,510
<b>Sex</b>	<b>-1,375</b>	<b>,559</b>	<b>-2,459</b>	<b>,016</b>	<b>-2,486</b>	<b>-,264</b>
Edad	-,029	,017	-1,655	,101	-,063	,006
Ca	-,066	,288	-,231	,818	-,638	,505
[EC=1]	7,108	,769	9,245	,000	5,580	8,636
[EC=2]	4,227	,787	5,371	,000	2,664	5,791
[EC=3]	1,374	,727	1,891	,062	-,069	2,818
[EC=4]	0 <sup>a</sup>	.	.	.	.	.

a. Este parámetro está establecido en cero porque es redundante.



Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: varian\_hist = 4,34, Grado\_his = 1,60, Sex = 1,58, Edad = 56,07, Ca = 1,95

## Discusión

El lugar que está tomando el cáncer de colon en la incidencia a nivel nacional es alarmante, con números a la alza en pacientes jóvenes (menores de 40 años). Es importante tomar en consideración los posibles factores ambientales y de la vida diaria que pudieran estar contribuyendo a esta causa. Entre los factores se encuentran los propios del paciente y los propios del tumor, siendo que son pocos los biomarcadores que intentan tener una relación con ambos y permitir de manera indirecta medir los cambios externos con los internos. Por lo anterior es importante encaminar la búsqueda a biomarcadores que nos permitan definir la evolución en el tiempo de la biología tumoral.

Como se comento en el apartado de antecedentes, la alimentación ha tomado un papel importante en los estándares de carcinogénesis, sugiriéndose que la carne roja puede estar ligada directamente a la incidencia de cáncer colorectal o indirectamente porque las dietas altas en carnes pueden estar deficientes en otros compuestos como fibra y polifenoles de las frutas y los vegetales(Bouvard et al., 2016). Cocinar la carne a altas temperaturas puede llevar a la formación de aminas heterociclicas mutagénicas y carcinogenicas por la interacción de la creatinina muscular con los aminoácidos , así también a la formación de compuestos N-nitrosos(Simon et al., 1996)(Bonnett et al., 1975). El compuesto hemo en la carne puede actuar como un agente nitrosatante promoviendo la formación de compuestos nitrosos. Las carnes más quemadas son más abundantes en grupos hemo que las carnes blancas, y por lo tanto, el consume de carnes rojas (res, puerco o cordero) podrían incrementar el riesgo de cáncer colorectal (Kim et al., 2013). Freir, cocinar a la parrilla o cocinar con carbón potencialmente puede inducir estos cambios y formar derivados o aductos de la glicosilación no enzimática que pueden alterar el metabolismo y la inflamación inicial o peritumoral.

Considerando esto buscamos un receptor que pudiera reflejar la consideraciones de factores de riesgo de alimentación y los datos moleculares en las células de cáncer de colon.

Dentro de las características clínicas analizadas en la muestra durante el período de estudio que incluyó a 197 pacientes: Predominó en el género masculino (50.8 vs. 49.2%) sin diferencia estadística significativa. La edad media fue de 56.4 años que corresponde a la media que se ha determinado se presenta esta enfermedad en la población. La localización por segmentos más frecuente, el más común fue el colon ascendente, en la literatura internacional se cita con mayor frecuencia en colon sigmoides y en recto, sin embargo existen antecedentes a nivel nacional de este suceso. El estadio III fue el de mayor presencia en esta muestra (37.5%).

Se consideraron los antecedentes familiares dentro de las variables para determinar si es factible establecer alguna hipótesis del grado de penetrancia de la expresión del gen y los datos familiares o antecedentes de enfermedad, por estar la hipertensión y la diabetes relacionados con la producción de productos avanzados de la glicosilación. Encontrándose Una tendencia similar al de la población general, de 15.2% para diabetes y 18.8% para hipertensión. Siendo un poco más alta para los antecedentes de algún familiar directo con diabetes mellitus. Sin embargo el tipo de estudio no permite definir asociaciones pues el análisis tiene pocos individuos que puedan tener características de riesgo para AGE elevados (HTA de larga evolución y DM descontrolada).

En los resultados se demuestra como el gen del receptor de productos avanzados de la glicosilación tipo 2 esta expresado en todas las muestras. Realizando un promedio de las tasas de cambio del gen y siendo agrupados por estadio clínico, presenta decremento en la expresión del gen del estadio I al IV. La cuantificación relativa del gen AGER2, mostró lo que el gen se encuentra mayormente expresado en estadios tempranos, siendo considerado tejido normal (sin tumor) como basal (CT promedio de 30.79) asignando un valor de 1 para la expresión de AGER2 con 18s .

Esto nos permite definir conforme los estadios clínicos van progresando de más tempranos a estadios avanzados, la expresión del gen se va disminuyendo, esto puede ser considerado desde varios puntos de vista los cuales pueden ser valorados como un gen inductor de cambio a potencial maligno y estar considerado por la posible respuesta a los estresores iniciales de transformación, como se comentó inicialmente AGER 2 tiene un posible papel durante la embriogénesis, siendo que estos genes al desdiferenciarse la célula en los estadios primarios de cambio, podría tener un papel fundamental, pero esta hipótesis requiere un planteamiento experimental diferente: cultivos celulares que representen cada estadio clínico o medir la expresión del RNA y la proteína por medio de inmunohistoquímica en diferentes estadios clínicos incluyendo además adenomas o lesiones premalignas. En estudios funcionales en células de Hepatocarcinoma, se logró demostrar que la supresión de la hepatocistina, también considerado como un regulador del plegamiento de las proteínas (como se explicó previamente), tiene propiedades citotóxicas, siendo que su sobreexpresión inicial comprobada en este estudio podría estar relacionada con la supresión del estrés del retículo endoplásmico relacionado al mal plegamiento de las proteínas. Como se comentó en la introducción existen diferentes tipos de receptores de productos avanzados de la glicosilación, cuyo papel en muchos aun está por definirse, otros tienen un papel durante la carcinogénesis o la progresión.

Es de llamar la atención el papel de la Hepatocistina en la N-glicosilación, considerando que existen 245 N-glicanos (Balog et al., 2012a) que se encuentran en las células de cáncer de colon, y que el papel de la N-glicosilación está muy ligado a la diferenciación (Holst, Deuss, van Pelt, et al., 2016), es entendible que en estadios iniciales se sobreexpresa para la estabilización del complejo de la alfa-glucosidasa que tiene un lugar importante en este proceso, también se propone que podría estar involucrado en otros complejos que pudieran tener un papel en la carcinogénesis.

El análisis entre subtipos histológicos, no se determinó que entre estos grupos existan diferencias, lo cual se consideraría que no es un factor dependiente del subtipo, aunque debe considerarse en estudios prospectivos una mejor caracterización de estos pues la muestra contó con un número no despreciable de casos no definidos.

El análisis de las características clínicas de la muestra, no mostró diferencias en los valores de expresión del gen, lo que podría traducirse en que no es dependiente de estas sino como se menciona previamente de la evolución tumoral y está más ligado a características tumorales propias. Debe considerarse para el análisis las características de cada paciente y de ser posible realizar asociaciones en ciertas variables que pudieran ser confusoras, sin embargo el objetivo de este trabajo era determinar las diferencias en la expresión génica del AGER 2 para establecer un antecedente de estudios prospectivos para buscar un papel del AGER 2 como un posible biomarcador en diferentes estadios clínicos de adenocarcinoma de colon.

## **Conclusiones**

AGER 2 mostró expresión aumentada en los estadios iniciales y disminuyendo en los estadios avanzados, lo cual pudiera relacionarse con los cambios metabólicos que sufre la célula en los estadios iniciales relacionados a estrés. Esto debe corroborarse por medio de estudios funcionales y de modelos celulares para determinar si la expresión del gen puede servir como un biomarcador para diferenciar los diferentes estadios clínicos o pudiera utilizarse para estudios prospectivos de diarios de alimentación y cáncer.

## REFERENCIAS

- Abe, R., Shimizu, T., Sugawara, H., Watanabe, H., Nakamura, H., Choei, H., ... Shimizu, H. (2004). Regulation of human melanoma growth and metastasis by AGE-AGE receptor interactions. *The Journal of Investigative Dermatology*, *122*(2), 461–7. <http://doi.org/10.1046/j.0022-202X.2004.22218.x>
- Aleksandrova, K., Pischon, T., Jenab, M., Bueno-de-Mesquita, H. B., Fedirko, V., Norat, T., ... Boeing, H. (2014). Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Medicine*, *12*, 168. <http://doi.org/10.1186/s12916-014-0168-4>
- Balog, C. I. a., Stavenhagen, K., Fung, W. L. J., Koeleman, C. a., McDonnell, L. a., Verhoeven, A., ... Wuhrer, M. (2012a). N-glycosylation of Colorectal Cancer Tissues: A LIQUID CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY-BASED INVESTIGATION. *Molecular & Cellular Proteomics*, *11*(9), 571–585. <http://doi.org/10.1074/mcp.M111.011601>
- Balog, C. I. a., Stavenhagen, K., Fung, W. L. J., Koeleman, C. a., McDonnell, L. a., Verhoeven, a., ... Wuhrer, M. (2012b). N-glycosylation of Colorectal Cancer Tissues: A LIQUID CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY-BASED INVESTIGATION. *Molecular & Cellular Proteomics*, *11*(9), 571–585. <http://doi.org/10.1074/mcp.M111.011601>
- Bilinski, C., Bureson, J., & Forouhar, F. (2012). Inflammation associated with neoplastic colonic polyps. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, *42*(3), 266–270.
- Bonnett, R., Holleyhead, R., Johnson, B. L., & Randall, E. W. (1975). Reaction of acidified nitrite solutions with peptide derivatives: evidence for nitrosamine and thionitrite formation from  $^{15}\text{N}$  N.m.r. Studies. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (22), 2261–2264. <http://doi.org/10.1039/P19750002261>
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., Ghisssassi, F. El, Benbrahim-Tallaa, L., ... Straif, K. (2016). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, *16*(16), 1599–1600. [http://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00444-1](http://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1)
- Breuer, W., & Bause, E. (1995). Oligosaccharyl transferase is a constitutive component of an oligomeric protein complex from pig liver endoplasmic reticulum. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, *228*(3), 689–96. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7737165>
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, *414*(6865), 813–820. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/414813a>
- Cai, W., He, J. C., Zhu, L., Chen, X., Striker, G. E., & Vlassara, H. (2008). AGE-receptor-1 counteracts cellular oxidant stress induced by AGEs via negative regulation of p66shc-dependent FKHRL1 phosphorylation. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *294*(1), C145-52. <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00350.2007>
- Cai, W., He, J. C., Zhu, L., Lu, C., & Vlassara, H. (2006). Advanced glycation end product (AGE) receptor 1 suppresses cell oxidant stress and activation signaling via EGF receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(37), 13801–6. <http://doi.org/10.1073/pnas.0600362103>
- Carvalho, B., Sillars-Hardebol, A. H., Postma, C., Mongera, S., Droste, J. T. S., Obulkasim, A., ... Meijer, G. A. (2012). Colorectal adenoma to carcinoma progression is accompanied by changes in gene expression associated with ageing, chromosomal instability, and fatty acid metabolism. *Cellular Oncology*, *35*(1), 53–63. <http://doi.org/10.1007/s13402-011-0065-1>
- Chiu, C.-C., Lin, C.-Y., Lee, L.-Y., Chen, Y.-J., Lu, Y.-C., Wang, H.-M., ... Cheng, A.-J. (2011).

- Molecular chaperones as a common set of proteins that regulate the invasion phenotype of head and neck cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(14), 4629–41. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2107>
- Chiu, C. G., Strugnelli, S. S., Griffith, O. L., Jones, S. J. M., Gown, A. M., Walker, B., ... Wiseman, S. M. (2010). Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *The American Journal of Pathology*, 176(5), 2067–81. <http://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090353>
- Colotta, F., Allavena, P., Sica, A., Garlanda, C., & Mantovani, A. (2009). Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*, 30(7), 1073–81. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgp127>
- Coussens, L., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420, 860–867.
- Da Silva, F. C., Wernhoff, P., Dominguez-Barrera, C., & Dominguez-Valentin, M. (2016). Update on hereditary colorectal cancer. *Anticancer Research*, 36(9), 4399–4406. <http://doi.org/10.21873/anticancer.10983>
- Drenth, J. P. H., Martina, J. A., Te Morsche, R. H. M., Jansen, J. B. M. J., & Bonifacino, J. S. (2004). Molecular characterization of hepatocystin, the protein that is defective in autosomal dominant polycystic liver disease. *Gastroenterology*, 126(7), 1819–1827. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.02.023>
- Drenth, J. P. H., te Morsche, R. H. M., Smink, R., Bonifacino, J. S., & Jansen, J. B. M. J. (2003). Germline mutations in PRKCSH are associated with autosomal dominant polycystic liver disease. *Nature Genetics*, 33(3), 345–7. <http://doi.org/10.1038/ng1104>
- Elinav, E., Nowarski, R., Thaiss, C. A., Hu, B., Jin, C., & Flavell, R. A. (2013). Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nature Reviews Cancer*, 13(11), 759–771. <http://doi.org/10.1038/nrc3611>
- Fan, Y., Jin, X., Man, C., Gao, Z., & Wang, X. (2017). Meta-analysis of the association between the inflammatory potential of diet and colorectal cancer risk. *Oncotarget*, 8(35), 59592–59600. <http://doi.org/https://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.19233>
- Fearon, E. R., & Vogelstein, B. (1990). A genetic model of colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5), 759–67.
- Fedirko, V., Tramacere, I., Bagnardi, V., Rota, M., Scotti, L., Islami, F., ... Jenab, M. (2011). Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose–response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology*, 22(9), 1958–1972. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdq653>
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., ... Bray, F. (2012). GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide, IARC CancerBase No. 11. Retrieved January 7, 2015, from <http://globocan.iarc.fr>
- Forough, R., Lindner, L., Partridge, C., Jones, B., Guy, G., & Clark, G. (2003). Elevated 80K-H protein in breast cancer: A role for FGF-1 stimulation of 80K-H. *International Journal of Biological Markers*, 18(2), 89–98.
- Fuster, M. M., & Esko, J. D. (2005). The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nature Reviews. Cancer*, 5(7), 526–42. <http://doi.org/10.1038/nrc1649>
- Gebhardt, C., Riehl, A., Durchdewald, M., Németh, J., Fürstenberger, G., Müller-Decker, K., ... Angel, P. (2008). RAGE signaling sustains inflammation and promotes tumor development. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(2), 275–85. <http://doi.org/10.1084/jem.20070679>
- Godos, J., Bella, F., Torrisi, A., Sciacca, S., Galvano, F., & Grosso, G. (2016). Dietary patterns and

- risk of colorectal adenoma: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 29(6), 757–767.  
<http://doi.org/10.1111/jhn.12395>
- Goh, K. C., Lim, Y. P., Ong, S. H., Siak, C. Bin, Cao, X., Tan, Y. H., & Guy, G. R. (1996). Identification of p90 , a Prominent Tyrosine-phosphorylated Protein in Fibroblast Growth Factor-stimulated Cells , as 80K-H \* , 271(10), 5832–5838.
- Group. U.S. Cancer Statistics Working. (2015). United States Cancer Statistics: 1999–2012 Incidence and Mortality Web-based Report. Retrieved from [www.cdc.gov/uscs](http://www.cdc.gov/uscs)
- Guraya, S. Y. (2015). Association of type 2 diabetes mellitus and the risk of colorectal cancer: A meta-analysis and systematic review. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 21(19), 6026–6031. <http://doi.org/10.3748/wjg.v21.i19.6026>
- Hammerling, U., Bergman Laurila, J., Grafström, R., & Ilbäck, N. G. (2016). Consumption of Red/Processed Meat and Colorectal Carcinoma: Possible Mechanisms Underlying the Significant Association. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(4), 614–634. <http://doi.org/10.1080/10408398.2014.972498>
- Haudek, K. C., Spronk, K. J., Voss, P. G., Patterson, R. J., Wang, J. L., & Arnoys, E. J. (2010). Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1800(2), 181–9. <http://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.07.005>
- Heijmans, J., Büller, N. V. J. a, Hoff, E., Dihal, a a, van der Poll, T., van Zoelen, M. a D., ... van den Brink, G. R. (2013). Rage signalling promotes intestinal tumourigenesis. *Oncogene*, 32(9), 1202–6. <http://doi.org/10.1038/onc.2012.119>
- Holst, S., Deuss, A. J. M., Pelt, G. W. Van, Vliet, S. J. Van, Garcia-vallejo, J. J., Koeleman, C. A. M., ... Wuhrer, M. (2016). N-glycosylation Profiling of Colorectal Cancer Cell Lines Reveals Association of Fucosylation with Differentiation and Caudal Type Homeobox, 124–140. <http://doi.org/10.1074/mcp.M115.051235>
- Holst, S., Deuss, A. J. M., van Pelt, G. W., van Vliet, S. J., Garcia-Vallejo, J. J., Koeleman, C. a M., ... Wuhrer, M. (2016). N-glycosylation Profiling of Colorectal Cancer Cell Lines Reveals Association of Fucosylation with Differentiation and Caudal Type Homeobox 1 (CDX1)/Villin mRNA Expression. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 15(1), 124–40. <http://doi.org/10.1074/mcp.M115.051235>
- Janakiram, N. B., & Rao, C. V. (2014). The Role of Inflammation in Colon Cancer. In *Inflammation and Cancer, Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 816, pp. 25–52). Springer Basel. <http://doi.org/10.1007/978-3-0348-0837-8>
- Kanai, M., Göke, M., Tsunekawa, S., & Podolsky, D. K. (1997). Signal transduction pathway of human fibroblast growth factor receptor 3. Identification of a novel 66-kDa phosphoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(10), 6621–8. <http://doi.org/10.1074/JBC.272.10.6621>
- Kang, R., Loux, T., Tang, D., Schapiro, N. E., Vernon, P., Livesey, K. M., ... Zeh, H. J. (2012). The expression of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is permissive for early pancreatic neoplasia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(18), 7031–6. <http://doi.org/10.1073/pnas.1113865109>
- Kang, R., Tang, D., & Schapiro, N. (2009). The Receptor for Advanced Glycation End-products (RAGE) Sustains Autophagy and Limits Apoptosis, Promoting Pancreatic Tumor Cell Survival. *Cell Death & ...*, 17(4), 666–676. <http://doi.org/10.1038/cdd.2009.149>
- Kang, R., Tang, D., Schapiro, N. E., Loux, T., Livesey, K. M., Billiar, T. R., ... Zeh, H. J. (2013). The HMGB1/RAGE inflammatory pathway promotes pancreatic tumor growth by regulating mitochondrial bioenergetics. *Oncogene*, (November 2012), 1–11.

<http://doi.org/10.1038/onc.2012.631>

- Kim, E., Coelho, D., & Blachier, F. (2013). Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. *Nutrition Research*, 33(12), 983–994. <http://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.07.018>
- Kostova, N., Zlateva, S., Ugrinova, I., & Pasheva, E. (2010). The expression of HMGB1 protein and its receptor RAGE in human malignant tumors. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 337(1–2), 251–8. <http://doi.org/10.1007/s11010-009-0305-0>
- Krishn, S. R., Kaur, S., Smith, L. M., Johansson, S. L., Jain, M., Patel, A., ... Batra, S. K. (2016). Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: Prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Letters*, 374(2), 304–314. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.02.016>
- Kuipers, E. J., Grady, W. M., Lieberman, D., Seufferlein, T., Sung, J. J., Boelens, P. G., ... Watanabe, T. (2015). Colorectal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, (November), 15065. <http://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65>
- Kuniyasu, H., Oue, N., Wakikawa, A., Shigeishi, H., Matsutani, N., Kuraoka, K., ... Yasui, W. (2002). Expression of receptors for advanced glycation end-products (RAGE) is closely associated with the invasive and metastatic activity of gastric cancer. *The Journal of Pathology*, 196(2), 163–70. <http://doi.org/10.1002/path.1031>
- Lasry, A., Zinger, A., & Ben-Neriah, Y. (2016). Inflammatory networks underlying colorectal cancer. *Nature Immunology*, 17(3), 230–240. <http://doi.org/10.1038/ni.3384>
- Li, Y. M., Mitsushashi, T., Wojciechowicz, D., Shimizu, N., Li, J., Stitt, A., ... Vlassara, H. (1996). Molecular identity and cellular distribution of advanced glycation endproduct receptors: relationship of p60 to OST-48 and p90 to 80K-H membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(20), 11047–52. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=38281&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Liang, P. S., Chen, T., & Giovannucci, E. (2009). Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: Systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer*, 124(10), 2406–2415. <http://doi.org/10.1002/ijc.24191>
- Lu C, He JC, Cai W, Liu H, Zhu L, V. H. (2004). Advanced glycation endproduct (AGE) receptor 1 is a negative regulator of the inflammatory response to AGE in mesangial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 11767–11772.
- Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, C. D., & Hitchins, M. P. (2015). Milestones of Lynch syndrome: 1895–2015. *Nature Reviews Cancer*, 15(March), 181–194. <http://doi.org/10.1038/nrc3878>
- Ma, Y., Yang, Y., Wang, F., Zhang, P., Shi, C., Zou, Y., & Qin, H. (2013). Obesity and Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review of Prospective Studies. *PLoS ONE*, 8(1), e53916. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0053916>
- Nangia-makker, P., Tait, L., Miller, F., & Raz, A. (2004). Alterations in Galectin-3 Expression and Distribution Correlate with Breast Cancer Progression Functional Analysis of Galectin-3 in Breast, 165(6), 1931–1941.
- O’Keefe, S. J. D. (2016a). Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(12), 691–706. <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.165>
- O’Keefe, S. J. D. (2016b). Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nature*

- Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(3), 759–771.  
<http://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.165>
- Ochoa-carrillo, F. J., Astudillo-de, H., & Alvarado-, I. (2016). Cáncer colorrectal metastásico , hacia un tratamiento personalizado. *Gac Mex Oncol*, 13(1), 39–46.
- Openo, K. P., Kadrofske, M. M., Patterson, R. J., & Wang, J. L. (2000). Galectin-3 expression and subcellular localization in senescent human fibroblasts. *Experimental Cell Research*, 255(2), 278–90. <http://doi.org/10.1006/excr.1999.4782>
- Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Navarrete Santos, A., Grune, T., & Simm, A. (2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biology*, 2(1), 411–429. <http://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.016>
- Overton, J. D., Komiya, Y., Mezzacappa, C., Nama, K., & Cai, N. (2015). Hepatocystin is Essential for TRPM7 Function During Early Embryogenesis. *Scientific Reports*, 5(November), 1–10. <http://doi.org/10.1038/srep18395>
- Pelletier, M. F., Marcil, a, Seigny, G., Jakob, C. a, Tessier, D. C., Chevet, E., ... Thomas, D. Y. (2000). The heterodimeric structure of glucosidase II is required for its activity, solubility, and localization in vivo. *Glycobiology*, 10(8), 815–827.
- Rage, K. (2012). © 2012 Landes Bioscience . © 2012 Landes Bioscience ., (June), 989–991.
- Ramasamy, R., Vannucci, S. J., Yan, S. F. S. Du, Herold, K., & Schmidt, A. M. (2005). Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology*, 15(7), 16R–28R. <http://doi.org/10.1093/glycob/cwi053>
- Rehnan, A. G., Tyson, M., Egger, M., Heller, R. F., & Zwahlen, M. (2008). Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*, 371(November), 569–78. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60269-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60269-X)
- Sakellariou, S., Fragkou, P., Levidou, G., Gargalionis, A. N., Piperi, C., Dalagiorgou, G., ... Korkolopoulou, P. (2016). Clinical significance of AGE-RAGE axis in colorectal cancer: associations with glyoxalase-I, adiponectin receptor expression and prognosis. *BMC Cancer*, 16(1), 174. <http://doi.org/10.1186/s12885-016-2213-5>
- Samraj, A. N., Pearce, O. M. T., Läubli, H., Crittenden, A. N., Bergfeld, A. K., Banda, K., ... Varki, A. (2015). A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2), 542–547. <http://doi.org/10.1073/pnas.1417508112>
- Sasahira, T., Akama, Y., Fujii, K., & Kuniyasu, H. (2005). Expression of receptor for advanced glycation end products and HMGB1/amphoterin in colorectal adenomas. *Virchows Archiv : An International Journal of Pathology*, 446(4), 411–5. <http://doi.org/10.1007/s00428-005-1210-x>
- Simon, D. I., Mullins, M. E., Jia, L., Gaston, B., Singel, D. J., & Stamler, J. S. (1996). Polynitrosylated proteins: characterization, bioactivity, and functional consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(10), 4736–4741. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39348/>
- Singh, R., Barden, a, Mori, T., & Beilin, L. (2001). Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*, 44(2), 129–46. <http://doi.org/10.1007/s001250051591>
- Son, S. M., Jung, E. S., Shin, H. J., Byun, J., & Mook-Jung, I. (2012). Aβ-induced formation of autophagosomes is mediated by RAGE-CaMKKβ-AMPK signaling. *Neurobiology of Aging*, 33(5), 1006.e11-23. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.09.039>
- Song, M., Garrett, W. S., & Chan, A. T. (2015). Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer

- Prevention. *Gastroenterology*, 148(6), 1244–1260.e16.  
<http://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.12.035>
- Song, M., Garrett, W. S., & Chan, A. T. (2016). Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer Prevention. *Gastroenterology*, 148(6), 1244–1260.  
<http://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.12.035.Nutrients>
- Song, S., Ji, B., Ramachandran, V., Wang, H., Hafley, M., Logsdon, C., & Bresalier, R. S. (2012). Overexpressed galectin-3 in pancreatic cancer induces cell proliferation and invasion by binding Ras and activating Ras signaling. *PLoS One*, 7(8), e42699.  
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0042699>
- Sourris, K. C., & Forbes, J. M. (2009). Interactions Between Advanced Glycation End-Products ( AGE ) and their Receptors in the Development and Progression of Diabetic Nephropathy – are these Receptors Valid Therapeutic Targets. *Current Drug Targets*, 10(1), 42–50.
- Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J, et al. (2009). RAGE (receptor for advanced glycation endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J Transl Med*, 7, 17.
- Stigliano, I. D., Caramelo, J. J., Labriola, C. A., Parodi, A. J., & Alessio, C. D. (2009). Glucosidase II Subunit Modulates N -Glycan Trimming in Fission Yeasts and Mammals, 20, 3974–3984.  
<http://doi.org/10.1091/mbc.E09>
- Tazawa, H., Kawaguchi, T., Kobayashi, T., Kuramitsu, Y., Wada, S., Satomi, Y., ... Okada, F. (2013). Chronic inflammation-derived nitric oxide causes conversion of human colonic adenoma cells into adenocarcinoma cells. *Experimental Cell Research*.  
<http://doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.08.006>
- Tseng, Y.-H., Tsan, Y.-T., Chan, W.-C., Sheu, W. H.-H., & Chen, P.-C. (2015). Use of an  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor and the Risk of Colorectal Cancer in Patients With Diabetes: A Nationwide, Population-Based Cohort Study. *Diabetes Care* .  
<http://doi.org/10.2337/dc15-0563>
- Uribarri, J., Cai, W., Sandu, O., Peppas, M., Goldberg, T., & Vlassara, H. (2005). Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool and induce inflammation in healthy subjects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043, 461–6. <http://doi.org/10.1196/annals.1333.052>
- Venkitachalam, S., Revoredo, L., Varadan, V., Fecteau, R. E., Ravi, L., Lutterbaugh, J., ... Guda, K. (2016). Biochemical and functional characterization of glycosylation-associated mutational landscapes in colon cancer. *Scientific Reports*, 6, 23642.  
<http://doi.org/10.1038/srep23642>
- Vlassara H, Brownlee M, C. A. (1985). High-affinity-receptor mediated uptake and degradation of glucose-modified proteins: a potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82, 5588–5592.
- Wolin, K. Y., Yan, Y., Colditz, G. A., & Lee, I.-M. (2009). Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *British Journal of Cancer*, 100(4), 611–616.  
<http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604917>
- Yang, J., Zhao, Y., Ma, K., Jiang, F.-J., Liao, W., Zhang, P., ... Zhu, W.-G. (2011). Deficiency of hepatocystin induces autophagy through an mTOR-dependent pathway. *Autophagy*, 7(7), 748–59. <http://doi.org/10.4161/auto.7.7.15822>

**ANEXO 1 Hoja de recolección de datos.**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS**



HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

**“DETERMINACION DE LA EXPRESION GENICA DEL RECEPTOR DE PRODUCTOS AVANZADOS DE LA GLICOSILACION TIPO 2 EN DISTINTOS ESTADIOS DEL ADENOCARCINOMA DE COLON”.**

Sexo M  1 F  2 Primer cita \_\_\_\_\_ Última cita \_\_\_\_\_  
 NSS: \_\_\_\_\_ Bloque: \_\_\_\_\_ Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
 Consumo de tabaco: Si  1 No  0 Sin dato  2 Ingesta de alcohol: Si  1 No  0 Sin dato  2  
 Antecedentes Familiares: Si  1 No  0 Sin dato  2 Especifique: \_\_\_\_\_

**Características clínicas** Diabético Si  1 No  2 Hipertenso Si  1 No  2  
 Peso : \_\_\_\_\_ Kg Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ Norma  1 Sobrepeso  2 Obesidad  3 Sin dato  4  
 Biopsia: Colonoscopia  1 En Cirugía  2  
 Bloque: Presente  1 Útil  2 No encontrado  3 No útil  4  
 Región de colon: Ascendente  1 Transverso  2 Descendente  3 No especificado  4  
 T: \_\_\_\_\_ N: \_\_\_\_\_ M: \_\_\_\_\_  
 Tamaño Clínico: \_\_\_\_\_ mm  
 Ganglios: Si  1 No  2 Sin dato  3 Tamaño de ganglio: \_\_\_\_\_ mm Número de ganglios: \_\_\_\_\_  
 Sintomatología: Si  1 No  0 Sin dato  2 Especifique: \_\_\_\_\_  
 Presencia de sangrado: Si  1 No  0 Sin dato  2 Especifique: \_\_\_\_\_  
 Estadio: \_\_\_\_\_ Especifique: \_\_\_\_\_  
 Tratamiento: Cx  1 RTx  2 QTx  3 Paliativo  4 Especifique: \_\_\_\_\_  
 Recurrencia: Si  1 No  0 Sin dato  2 Especifique sitio: \_\_\_\_\_  
 Metástasis: Si  1 No  0 Sin dato  2 Especifique: \_\_\_\_\_  
 Sobrevida: 1-6 meses  1 7-12 meses  2 13-24 meses  3 >24 meses  4 Sin dato  5 Esp: \_\_\_\_\_  
 Status del paciente: Vivo y en control  1 Fallecido  2 Sin dato  3  
 Tipo de Quimioterapia: Neoady  1 Ady  2 Metastasis  3 Especifique esquema: \_\_\_\_\_  
 Fecha de Inicio de QT: \_\_\_\_\_ Fecha de Recurrencia/Progresión: \_\_\_\_\_  
 Tipo de Cirugía: Resección  1 Hemicolectomía  2 Colectomía Total  3 Toma de Biopsia  4  
 Fecha de Cirugía: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Características Histopatológicas:**

Tipo: Adenoma <sub>1</sub> Adenocarcinoma <sub>2</sub>

Adenocarcinoma: Mucinoso <sub>1</sub> Papilar <sub>2</sub>

Adenoma: Serrato <sub>1</sub> Tubular <sub>2</sub> Tubulo-velloso <sub>3</sub> Velloso <sub>4</sub> Mixto <sub>5</sub>

Otros <sub>6</sub> Especifique: \_\_\_\_\_

Centímetros en serosa: \_\_\_\_\_ cm

Permeación Linfovascular: Si <sub>1</sub> No <sub>2</sub>

Presencia de necrosis: Si <sub>1</sub> No <sub>2</sub>

**Expresión de AGER 2:**

Expresión: Si <sub>1</sub> No <sub>2</sub>

$\Delta$ Ct: \_\_\_\_\_

$\Delta\Delta$ Ct: \_\_\_\_\_