

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
UNIDAD ACADÉMICA DE SEGUNDA ESPECIALIZACIÓN Y
EDUCACION MÉDICA CONTINUA
FACULTAD DE MEDICINA



COMPARACION DEL TIEMPO DE SOBREVIDA GLOBAL EN PACIENTES CON CANCER DE COLON METASTASICO, EVALUANDO EL GEN K-RAS (MUTADO Y WILD TYPE) Y SU CORRELACION COMO FACTOR PRONOSTICO AL SISTEMA TNM

Proyecto de Trabajo de Investigación Presentada por el Médico Cirujano:

GAMARRA MANRIQUE RENZO REYNALDO.

Para Optar el Grado Académico de Especialista en Medicina Oncológica

Asesora: Dra. ALEMÁN POLANCO DIANA

AREQUIPA PERU

2016

**COMPARACION DEL TIEMPO DE SOBREVIVENCIA GLOBAL EN PACIENTES
CON CANCER DE COLON METASTASICO, EVALUANDO EL GEN K-RAS
(MUTADO Y WILD TYPE) Y SU CORRELACION COMO FACTOR
PRONOSTICO AL SISTEMA TNM**

INDICE

I.-INTRODUCCION.....	1
1.1.-Justificación.....	2
1.2.-Formulación del Problema.....	2
1.3.-Hipótesis.....	2
1.4.-Objetivos Específicos.....	2
II.- MARCO TEORICO.....	4
2.1.-Incidencia.....	4
2.2.-Factores de Riesgo.....	4
2.3.-Factores Pronósticos y Valor Diagnóstico.....	4
2.4.-Características Moleculares del Cáncer de Colon.....	5
2.5.-Tipos Histológicos.....	6
2.6.-Diagnóstico.....	6
2.7.- Bioinformática.....	7
2.8.- Clasificación TNM.....	7

III.-MATERIAL DE ESTUDIO.....	9
3.1.- Ámbito de Estudio.....	9
3.2.-Unidad de Estudio.....	9
3.3.- Universo y muestra.....	10
IV.-METODOLOGIA.....	11
4.1.-Tipo de estudio.....	11
4.2.- Instrumentos.....	11
4.3.-Procedimiento.....	11
4.4.-Definición Operacional de Variables.....	13
V.-ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACION.....	14
5.1.-Recursos.....	14
5.2.-Cronograma.....	15
BIBLIOGRAFIA.....	16
ANEXOS.....	17

I.-INTRODUCCION.-

El cáncer es un problema de salud a escala mundial, demostrado por sus altas tasas de incidencia y mortalidad. En Latinoamérica el cáncer ocupa el tercer lugar de las causas de muerte. En el Perú, el Registro de Cáncer de Lima Metropolitana, ha publicado tasas de incidencia y mortalidad por cáncer globales de 150.7 y 78.3 por cien mil habitantes¹. En Lima Metropolitana se detectan anualmente 3,500 nuevos casos, de los cuales alrededor el 40% son diagnosticados en etapas avanzadas.

La historia natural del cáncer de colon varía dramáticamente, desde una enfermedad curable por cirugía como único tratamiento, hasta una enfermedad con una progresión metastásica rápida e inexorable. Actualmente, es necesaria una caracterización biológica individual del tumor, lo cual permitirá determinar la conducta terapéutica.

En muchos estudios se observó la relación de una serie de variables clínicas, histopatológicas y receptores celulares que fueron marcando interés debido a su relación en el control de la enfermedad y la sobrevida, siendo objeto de utilización para definir grupos que, con mayor probabilidad, se beneficiarían de un tratamiento sistémico. En las últimas décadas se han intensificado los estudios pronósticos sobre la presencia del gen K-Ras mutado y No Mutado (Wild Type) y su valor para predecir sobrevida y respuesta con el uso de algún tipo de tratamiento sistémico.

Con este trabajo se propone caracterizar el receptor de factor de crecimiento epidérmico, en su forma molecular no mutada, en pacientes de ambos sexos, con diagnóstico de cáncer de colon. Así se brindará una guía en la práctica clínica en pacientes de nuestra población. Esta característica ayudará en la programación terapéutica y el pronóstico del paciente.

1.1.-Justificación.-

Con este trabajo, quisimos caracterizar y hallar la presencia no nativa del receptor de factor de crecimiento epidérmico en pacientes de ambos sexos. De esta forma nos brindará una guía en la práctica clínica en pacientes de nuestra población. En este estudio se caracterizará la presencia del gen K-Ras mutado y No Mutado (Wild Type), en pacientes con cáncer de colon.

Asimismo la detección del estado mutacional del gen K-ras repercutirá en la incidencia futura. Es conocido ampliamente que las alteraciones citológicas progresivas se relacionan al grado de malignidad del cáncer. La relación entre esta característica y la caracterización molecular del K-Ras podrán ayudar a predecir la sobrevida del paciente. Esta característica ayudará en la programación de la terapéutica y el pronóstico respectivo.

1.2.-Formulación del Problema.-

¿Existe correlación de la predicción del tiempo de sobrevida entre la presencia del gen K-Ras mutado y No Mutado (Wild Type) en pacientes con cáncer primario de colon?

1.3.-Hipótesis.-

La caracterización molecular del gen K-Ras, obtenido por métodos de biología molecular, en células tumorales de cáncer de colon humano, podría expresar el tiempo de sobrevida.

1.4.-Objetivos Específicos.-

-Determinar la presencia del gen K-Ras, expresados en células tumorales de cáncer de colon.

-Analizar la correlación entre la presencia en células tumorales del gen K-Ras (mutado y Wild Type) con los factores pronósticos conocidos, utilizados habitualmente en cáncer de colon.

-Investigar la importancia pronóstica en términos de tiempo de Supervivencia Global (SG) y Tiempo libre de enfermedad (TLE) de pacientes con cáncer de colon.

II.- MARCO TEORICO.-

2.1.-Incidencia.-

En comparación con otros países de América Latina, el Perú el cáncer de colon ocupa el octavo lugar en incidencia. En Estado Unidos el cálculo del número de casos nuevos representa 95.270. Asimismo el registro por defunciones es 49.190 casos².

En Perú el cáncer de colon tiene una incidencia anual de 3671 casos, representando 3,3% porcentualmente¹. Constituye 1616 casos de defunción por cáncer al año.

2.2-Factores de Riesgo.-

El riesgo de padecer un cáncer de colon aumenta con la edad. Los grupos que tienen incidencia alta de cáncer de colon incluyen aquellos con afecciones hereditarias (Poliposis familiar, cáncer de colon sin poliposis hereditario y colitis ulcerosa). Estos grupos representan 10 a 15% de los cánceres colorrectales³. Otras afecciones comunes que aumentan el riesgo incluyen:

- Antecedentes personales de cáncer colorrectal o adenomas.
- Antecedentes de cáncer colorrectal o adenomas en parientes de primer grado.
- Antecedentes personales de cáncer de mama, endometrio u ovario.

Estos grupos de riesgo alto representan 23% de todos los cánceres colorrectales.

2.3.-Factores Pronósticos y Valor Diagnóstico.-

Los factores pronóstico se relaciona con lo siguiente:

- El grado de penetración del tumor a través de la pared intestinal.
- Presencia o ausencia de compromiso ganglionar.

- La presencia o ausencia de metástasis a distancia.
- La obstrucción intestinal y la perforación intestinal.
- Las concentraciones séricas elevadas del antígeno carcinoembrionario (ACE)

Las tres primeras características constituyen el fundamento de todos los sistemas de estadificación establecidos para esta enfermedad⁴.

Asímismo se mencionan muchos marcadores pronóstico, aunque la mayoría no se hallan validados. Estos factores incluyen la pérdida alélica del cromosoma 18q, la expresión de timidilata sintasa, la inestabilidad microsatelital, la expresión mutada y no mutada del FCE (Factor de Crecimiento Epidérmico) y presencia del gen K-Ras mutado y No Mutado (Wild Type).

2.4.-Características Moleculares del Cáncer de Colon.-

La importancia de conocer las vías moleculares de señalización, vital en grupos de pacientes, integra el beneficio de usar medicamentos oncológicos diana y el aumento de la sobrevivida global. Los pacientes con enfermedad metastásica pueden ser tratados con terapias basadas en anticuerpos monoclonales, como panitumumab o cetuximab, que han demostrado mejorar la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global, mediante el bloqueo de la señalización del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR). Esta vía tiene un rol importante en la patogénesis del cáncer metastásico, en la cual participan las vías de las MAPK (proteína quinasa activada por mitógeno) y PI3K (proteína fosfoinositol 3-quinasa)/Akt. Esta activación promueve procesos claves como la transcripción, migración, angiogénesis, crecimiento celular y apoptosis⁵.

La falta de respuesta a este tratamiento diana se explica por la presencia de mutaciones activantes en ciertos genes pertenecientes a esta vía, que confieren resistencia a la terapia. Entre estos, se mencionan los genes K-RAS, BRAF y PIK3CA. Se ha reportado que en pacientes sin mutación del gen K-RAS, la tasa de respuesta a la terapia monoclonal puede ser de 9 a 28%; lo cual se explica por la presencia de mutaciones activantes en otros genes como BRAF (codón 600) o PIK3CA (subunidad p110 α).

La frecuencia de mutaciones de K-RAS en América Latina es de 36%, lo cual es similar a Europa (40%) y mayor que en Asia (22%)⁶. Otro estudio realizado en población peruana determinó que la frecuencia de mutaciones de K-RAS y BRAF es de 16,7% y 9,9% respectivamente⁷. La interacción del receptor del FCE con *erbB1* activa ambas vías (Ras/Raf y MAPK y P13K/Akt) y conduce a la cascada de señalización intracelular y activación de todos los procedimientos necesarios para el crecimiento tumoral

Otra característica importante es la inestabilidad de microsatélites (MSI), que constituye otro factor pronóstico y predictivo en los pacientes con enfermedad metastásica.

2.5.-Tipos Histológicos.-

El cáncer de colon presenta características al estudio microscópico⁸. El adenocarcinoma es el tipo histológico más frecuente (90-95%), seguido del adenocarcinoma coloidal o mucinoso (10%).

Otros tipos histológicos, como el carcinoma epidermoide, los tumores carcinoides, los sarcomas, los melanomas o los linfomas, son menos frecuentes.

2.6.-Diagnóstico.-

La redacción de una buena historia clínica y una exploración física, en la que valorará el estado general de la persona y en la que incluirá el tacto rectal, son importantes en esta patología, así como durante su seguimiento. Las pruebas utilizadas en la detección incluyen:

a) Análisis de sangre y orina: con ellas se busca conocer el estado general del paciente y detectar complicaciones asociadas al proceso tumoral. Asimismo ayudan para iniciar el tratamiento.

b) Tacto rectal: consiste en la exploración digital del ano y parte del recto. Útil para palpar las posibles alteraciones existentes en las paredes del colon y recto.

c) Colonoscopia: es una prueba con la que se puede observar la mucosa de todo el colon y el recto a través de un endoscopio. Para su realización es necesario que la persona siga una dieta especial al menos durante dos o tres días, con muy pocos residuos, y que el día antes de la prueba emplee laxantes.

d) Biopsia: si durante la realización de la colonoscopia, se evidencia una lesión sospechosa, procederá su extracción total o de una pequeña muestra. Este tejido deberá ser estudiada por un anatomopatólogo para poder emitir un diagnóstico confirmando o descartando la existencia de un cáncer.

2.7. Bioinformática.-

Todo progreso en genómica, proteómica y otros campos biomédicos requiere un sólido apoyo de la bioinformática, ya que es necesario procesar y manejar de un modo eficiente la abundante información que estas técnicas masivas generan.

En los últimos años se han realizado grandes avances en el desarrollo de las herramientas web para el análisis masivo de datos de expresión génica. El paquete integrado GEPAS, constituye a día de hoy el más completo disponible en la red. También se han creado otras herramientas para estudio de polimorfismos in silico (SNPGO), diseño de siRNA. Con el fin de facilitar a la comunidad científica el acceso a estas herramientas de bioinformática, se ha diseñado páginas web en las que se han integrado todas ellas⁹.

2.8.- Clasificación TNM.-

El AJCC designó los estadios mediante la estadificación TNM. Este sistema se modificó en 2010. Como resultado del fenómeno de migración de estadio, la supervivencia por estadio para series de casos clasificados con el nuevo sistema parecerá superior a aquella en la que se usa el sistema antiguo¹⁰.

a) Tumor.-

- Tx: tumor no evaluable.

- T0: sin evidencia de tumor primario.

- Tis: carcinoma in situ: intraepitelial o con invasión de lámina propia.
- T1: el tumor infiltra la submucosa.
- T2: el tumor infiltra la muscular propia.
- T3: el tumor se infiltra a través de la muscular propia hasta los tejidos pericólicas.
- T4a: el tumor penetra la superficie del peritoneo visceral.
- T4b: el tumor invade directamente o está adherido a otros órganos o estructuras.

b) Nódulos linfáticos.-

- NX: ganglios linfáticos regionales no evaluables.
- N0: sin metástasis ganglionares.
- N1: metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales:
 - N1a: metástasis en 1 ganglio linfático regional.
 - N1b: metástasis en 2 a 3 ganglios linfáticos regionales.
 - N1c: depósito de tumor (DT) en la subserosa, en el mesenterio, o en los tejidos pericólicos no peritonizados o perirrectales, sin metástasis ganglionares regionales.
- N2: metástasis en 4 o más ganglios linfáticos regionales:
 - N2a: metástasis en 4 a 6 ganglios linfáticos regionales
 - N2b: metástasis en 7 o más ganglios linfáticos regionales.

c). Metástasis:

- M0: sin metástasis a distancia.
- M1: metástasis a distancia:
 - M1a: metástasis confinada a un órgano o sitio.
 - M1b: metástasis en más de un órgano o sitio o en el peritoneo.

III.-MATERIAL DE ESTUDIO.-

3.1.- Ámbito del Estudio.-

- Espacial: El estudio se llevará a cabo en el Hospital Carlos Según Escobedo (ESSALUD).
- Temporal: Se evaluarán datos desde el periodo de noviembre del 2013 hasta mayo del 2017.

3.2.-Unidad de Estudio.-

El proceso donde se evalúa el Problema de Investigación, está representado por la Población con diagnóstico de cáncer de colon. Esta Unidad de Estudio comprende a los pacientes que acuden al servicio de Oncología Médica del Hospital Nacional Carlos Según Escobedo de Arequipa.

Los criterios de inclusión serán:

- Diagnóstico de Cáncer de Colon primario, confirmado por informe de anatomopatología.
- Contar con láminas histológicas de la biopsia o pieza quirúrgica de tumor de colon humano.
- Haber aceptado participar en el estudio por parte de los pacientes.

Dada la poca frecuencia de casos que cumplan los criterios de inclusión, se incluirá a toda la población, aproximadamente 30 pacientes, los cuales, de acuerdo al tiempo de sobrevida teórico, tienen capacidad de seguimiento en el tiempo fijado hasta el desenlace final (muerte del paciente).

Los criterios de exclusión serán:

- Falta de seguimiento temporal del paciente (pérdida en el tiempo).
- Fallecimiento de paciente por otra causa no relacionada al cáncer de colon.

3.3.- Universo y muestra.-

La población estará constituida por los pacientes que acuden al servicio de medicina oncológica del Hospital Carlos Seguí Escobedo, quienes contarán con biopsia del tejido tumoral y se caracterizará molecularmente la presencia del gen K-Ras mutado y No Mutado (Wild Type)

IV.-METODOLOGIA.-

4.1.-Tipo de estudio.-

Según Altman es un estudio de tipo longitudinal. De acuerdo a Canales es un estudio analítico. Según la época es un estudio prospectivo.

4.2.- Instrumentos.-

Los instrumentos requeridos para evaluar los indicadores, incluyen las fichas de Evaluación, extraídas de las Historias Clínicas, donde cada Unidad de Estudio (paciente con diagnóstico de cáncer de colon), cuenta con las variables requeridos para el seguimiento según los objetivos del estudio. Estas variables son: Sobrevida Global (en meses), estadificación TNM, informe histopatológico y reporte del gen K-Ras mutado o nativo.

4.3.-Procedimiento.-

La secuencia ordenada para la aplicación e interpretación de las técnicas e instrumentos aplicados a la Unidad de Estudio (paciente con diagnóstico de cáncer de colon), incluyen:

-Validación de la Técnica: El reporte del estado molecular del FCE, se halla validado por la Técnica de Cuantificación Real Time PCR (Laboratorio Oncogenomics).

-Recolección de datos. El inicio de la toma de datos se dará a partir de la autorización del Servicio de Medicina Oncológica del Hospital Carlos Alberto Segúin Escobedo, mediante solicitud dirigida al Jefe de Departamento. Posteriormente se procederá a lo siguiente:

a) Estandarización del proceso de toma de datos. Se considerará el nombre, dirección y teléfono fijo del paciente en la Ficha de Trabajo, únicamente para tener identificación que permita el seguimiento. Esta información no será compartida con otros pacientes.

b) Revisión de historias clínicas de los pacientes con diagnóstico de neoplasia maligna de colon, desde noviembre del 2013, donde deberá constar edad, fecha de diagnóstico

presuntivo y de confirmación, fecha de controles (mínimo dos) y fecha de defunción cuando corresponda.

c) Revisión del informe anatomopatológico confirmando el diagnóstico presuntivo. Se evaluará la característica histológica de diferenciación, dada por el médico patólogo.

d) Revisión de láminas de la biopsia o de pieza quirúrgica, según sea el caso, para caracterización del FCE nativo y no nativo (mutado).

e) Los controles al paciente se realizarán en tres ocasiones, a partir del momento de comprobar el diagnóstico, a los 12 y 24 meses. Los controles evalúan el tiempo de supervivencia en las fechas indicadas de pacientes desde comprobado el diagnóstico. En caso hayan fallecido al momento de realizar el segundo o tercer control, se considerará el tiempo transcurrido como el tiempo de supervivencia.

-Producción de resultados. En este ítem se considerará el seguimiento temporal de cada paciente, el cual se encuentra en las Historias Clínicas y las fichas de evaluación. Asimismo se usarán técnicas estadísticas apropiadas (Programa SPSS Versión 18).

-Discusión. Los resultados serán analizados de acuerdo a la bibliografía actual.

-Delimitación temporal. Dada la historia natural de la enfermedad, se ha establecido una temporalidad de 47 meses para la recolección de datos.

4.4.-Definición Operacional de Variables.-

Variable	Indice	Categoría	Escala	Tipo
Sobrevida Global	Tiempo entre diagnóstico y fallecimiento de paciente	-Días -Meses -Años	Razón	Cuantitativo
K-Ras	Método Cohen de Purificación molecular del gen K-Ras	-Mutado -No Mutado (wild type)	Nominal	Cualitativo
Histopatología	Evaluación Histo-citológica	-G1, bien diferenciado. -G2 moderadamente diferenciado. -G3, mal diferenciado. -G4, indiferenciado	Ordinal	Cualitativo
Estadificación Pronóstica	Sistema TNM	-Estadío I. -Estadío II. -Estadío III -Estadío IV.	Ordinal	Cualitativo

V.-ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACION.-

5.1.-Recursos.-

Los elementos considerados en este estudio incluyen

-Recurso Humano.- Equipo investigador conformado por el autor del trabajo, médico cirujano, y el asesor del trabajo.

-Recurso Material.-Se requerirá las láminas de la biopsia de tejido tumoral, además de las Historias clínicas e informe de anatomopatología. Para el análisis estadístico se usará el Método Limitado de productos.

-Recursos económicos.-El financiamiento es asumido íntegramente por el autor del estudio.

5.2.-Cronograma.-

Actividad programada	TIEMPO
Eleccion del tema	: 15 dias.
Recopilacion y revisión bibliográfica	: 15 dias.
Diseño del proyecto	: 1 mes.
Ejecución implementación, recolección y registro de datos	: 43 meses.
Procesamiento de datos	: 1 mes.
Elaboración del informe final	: 1 mes
TOTAL	47 meses
Fecha de Inicio	Noviembre 2013
Fecha prevista de término	Mayo 2017

BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2016. Atlanta, Ga: American Cancer Society. Last accessed January 14, 2016
- 2.- www.inen.sld.pe/.../01102014_Epidemiologia_Dr%20Poquioma.pdf
- 3.- Winawer SJ: Screening for colorectal cancer. *Cancer: Principles and Practice of Oncology Updates* 2(1): 1-16, 1987.
- 4.- Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, et al.: Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer* 57 (9): 1866-70, 1986.
- 5.- Petrelli F, et al, Cetuximab and panitumumab in KRAS wild-type colorectal cancer: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*; 26: 823-33. 2011.
- 6.- Ciardiello F, et al. Uptake of KRAS mutation testing in patients with metastatic colorectal cancer in Europe, Latin America and Asia. *Target Oncol*; 6: 133-45. 2011.
- 7.- Egoavil CM, et al. Clinically important molecular features of Peruvian colorectal tumours: high prevalence of DNA mismatch repair deficiency and low incidence of KRAS mutations. *Pathology*; 43: 228-33. 2011.
- 8.- Devita V. "Oncology". 10º edición. Lippincott-Raven publishers. 2015.
- 9.- <http://bioin-fo.cnio.es/>
- 10.- American Joint Committee On Cancer. *Cancer Staging Manual*. 7º edition. 2010.

ANEXOS.-

Ficha de Evaluación y Seguimiento

ITEM	
Nombre del paciente (confidencial, solo para uso durante el trabajo de investigación y el seguimiento)	
Edad	
Sexo	
Número de teléfono fijo o celular	
Dirección	
Número de historia clínica	
Informe histológico	
Estado del gen K-ras	
Fecha de diagnóstico	
Fecha de Controles 1°.- 2°.- 3°.-	
Fecha de ultimo control	
Fecha de defunción	
Estadio Clínico (TNM)	