



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION.

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY
MEDICAL CENTER I.A.P.**

**FRECUENCIA Y ASOCIACION CLINICOPATOLOGICO DE LAS
MUTACIONES DEL ONCOGEN KRAS EN PACIENTES DEL CENTRO
MÉDICO ABC, CON CANCER COLORECTAL**

TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

CIRUGIA GENERAL

P R E S E N T A:

DRA. FÁTIMA GONZÁLEZ JÁUREGUI DÍAZ

PROFESOR TITULAR
DR. CARLOS BELMONTE MONTES

PROFESORES ADJUNTOS
**DR. JOSÉ OCTAVIO RUÍZ SPEARE
DR. FELIPE CERVANTES MONTEIL
DR. EDUARDO MORENO PAQUENTIN**

ASESORES:
DR. MARTÍN VEGA DE JESÚS

México, D.F 2012





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.

DR. JOSE HALABE CHEREM
JEFE DE LA DIVISION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
CENTRO MEDICO ABC

DR. CARLOS BELMONTE MONTES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

DR. JOSÉ OCTAVIO RUÍZ SPEARE
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO

DR. FELIPE CERVANTES MONTEIL
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO

DR. EDUARDO MORENO PAQUENTIN
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO

DR. MARTÍN VEGA DE JESÚS
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

A Dios, a quien le debo todo.

A Pablo, mi esposo, por su amor, su paciencia, ser mi apoyo incondicional durante todos los días de mi formación como médico y como especialista

A mis padres, por haberme apoyado siempre en mis decisiones y haber confiado en mi, y en especial por enseñarme a no rendirme y conseguir mis metas.

A Santi y María José, mis hermanos por estar siempre a mi lado en los momentos difíciles así como el los de grande alegría.

A la familia Molina Saldaña por el cariño y apoyo que siempre me han brindado.

A Pilar Benitez, Luis Figueroa y Enrique Jean, por su amistad y consejo como residentes mayores y como amigos cercanos.

Al Dr. Francisco Revilla, Dr. Tenoch Herrada y Dr. Cesar Decanini, Dr. Guillermo Rojas, por su apoyo, confianza y guía, siempre serán un ejemplo a seguir.

A mi asesor Dr. Martín Vega de Jesús por las enseñanzas, paciencia, esfuerzo y dedicación que siempre mostro para realizar éste trabajo.

De manera especial agradezco a los doctores con quien conviví de manera frecuente, y cada uno me dejo alguna enseñanza diferente:

- Dr. Lorenzo Soler Montesinos
- Dr. Carlos Belmonte Montes
- Dr. Jorge Ortiz de la Peña
- Dr. José Refugio Medina León
- Dr. Jorge González Acosta
- Dr. Leopoldo Guzmán Navarro
- Dr. Rafael Padilla Longoria
- Dr. José Octavio Ruíz Speare
- Dr. Fernando Quijano Orvañanos
- Dr. Jorge Cervantes Castro
- Dr. Felipe Cervantes Monteil
- Dr. Eduardo Moreno Paquentin
- Dr. Gil Mussan Chelminsky
- Dr. Carlos Robles Vidal
- Dr. Carlos Cosme Reyes
- Dr. Horacio Montañéz Ramirez
- Dr. Angel Martínez Munive

1. INDICE

1. Introducción.	9
2. Marco teórico	9
3. Planteamiento del problema	31
4. Justificación	31
5. Hipótesis	31
6. Objetivos	31
a. Objetivo general	31
b. Objetivos particulares	32
7. Material y métodos	32
a. Tipo de estudio	32
b. Universo y muestra del estudio	32
c. Criterios de inclusión, exclusión.	33
d. Variables	33
8. Resultados	34
9. Discusión	39
10. Conclusiones	40
11. Bibliografía	41

RESUMEN

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de la mutación de K-ras en cáncer de colon y recto en la población del centro médico ABC, definir el tipo de mutación más frecuente y relacionarlo con el grado de diferenciación histológico.

MÉTODOS

Se revisaron los expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de cáncer de colon o cáncer de recto, que fueron intervenidos quirúrgicamente en el periodo de enero del 2011 a junio del 2012 en el centro médico ABC, y a los cuales se les realizó el estudio de la mutación K-ras en la pieza quirúrgica. Se les estudiaron las siguientes características: género, edad, localización del tumor, características histopatológicas.

RESULTADOS

Se revisaron 26 expedientes completos, de los cuales 25 pacientes (96%) fueron diagnosticados de adenocarcinoma, de estos el 92% fue moderadamente diferenciado. En total, 17 casos (65%) presentaron la mutación K-ras. La mutación más frecuente fue en el codón 12, 13 pacientes (76.5%). Al considerar la clasificación histológica, 96%(25) eran adenocarcinomas del total de la muestra y de estos 16 pacientes presentaron mutación del K-ras. De los pacientes con adenocarcinoma y con mutación del K-ras el 93.8%(15) tenían grado de diferenciación moderado y solo el 6.2% (1) era bien diferenciado.

CONCLUSIONES

El cáncer colorectal es una patología que ha incrementado su incidencia, el tratamiento es multidisciplinario y ha mejorado sobrevida y periodos libres de enfermedad con tratamientos adyuvantes aún en estadios avanzados, gracias al conocimiento de la biología molecular y genética de esta enfermedad. Una de las mutaciones más frecuentes en esta patología es la mutación K-ras y constituye un factor de decisión para mejorar la sobrevida y periodos libres de enfermedad en pacientes que requieren adyuvancia, por lo que es indispensable conocer su frecuencia en nuestra población.

INTRODUCCIÓN

Cada año fallecen cerca de 608 000 personas a causa de cáncer colorectal (CCR)¹.

El tratamiento varía según el estadio de la enfermedad. En etapas tempranas con la resección quirúrgica basta, mientras que en los estadios tardíos se requiere adicionalmente quimioterapia y radioterapia.^{2,3}

Avances fundamentales para entender la biología y genética de la enfermedad nos ayudan para mejorar el diagnóstico y tratamiento.

La mutación del K-ras está presente aproximadamente en 30-50% de los pacientes con CCR. Los pacientes con mutación K-ras tienen una mala respuesta a las nuevas terapias a diferencia de los que presentan K-ras nativo (no mutado). Estas nuevas terapias son agentes biológicos, terapia de anticuerpos monoclonales altamente específicos para EGFR (Receptor de Factor de Crecimiento Epidérmico).

MARCO TEÓRICO

Epidemiología

El CCR constituye en la actualidad un problema sanitario de gran magnitud dada su alta incidencia y mortalidad. Actualmente es uno de los cánceres más frecuentes en ambos géneros. A nivel mundial se estimaron, para el año 2008, alrededor de 7,6 millones (13%) de defunciones por cáncer, de los cuales 1,37 millones serían por cáncer pulmonar, 736 000 defunciones por cáncer gástrico, 695 000 por cáncer hepático, 608 000 por CCR.¹

En México la incidencia es de 19 por cada 100 000 habitantes en menores de 65 años y 337 por cada 100 000 en personas de mayor edad.⁴

El pico de edad para esta enfermedad es a los 65 años y solo el 3% se presenta en menores de 40 años. El 90% se presenta en mayores de 50 años. En los Estados Unidos la incidencia es un 25% más en hombre y 20% más en mujeres africanos que en blancos.⁵

Biología Molecular:

En el CCR, como en la mayoría de los tumores, la acumulación de alteraciones oncogénicas se produce de manera progresiva, desde lesiones iniciales hiperplásicas, con displasia, hasta la formación de adenomas, de carcinomas intraepiteliales, de carcinomas infiltrantes y finalmente de metástasis ganglionares y/o distancia. Estos cambios histopatológicos requieren la acumulación de numerosas alteraciones moleculares que pueden llevar más de 10 años.

El pólipo adenomatoso, o adenoma, es considerado generalmente como la lesión precursora del CCR. En 1990 se desarrolló un modelo de carcinogénesis colorectal, propuesta por Fearon y Vogelstein, en el cual se propuso que en una etapa temprana, durante el desarrollo de los pólipos, aparecen mutaciones en el gen APC, a continuación, durante la etapa adenomatosa se originan mutaciones en K-Ras y mutaciones en p53 y las deleciones en el cromosoma 18 coinciden con la transición al carcinoma.⁷

El concepto actual de carcinogénesis colorectal implica una cascada de fallos genéticos que afectan a genes reparadores del DNA, a oncogenes y a genes supresores de tumores.

Genes reparadores del DNA: son genes que codifican factores esenciales para mantener la fidelidad de la replicación. Se han identificado mutaciones asociadas al cáncer de colon hereditario no poliposis (CCHNP) en 5 de estos genes: hMSH2, hMLH1, hMSH6, hMSH3 y hPMS2. Los genes hMSH2 y hMLH1 son los que están implicados con más frecuencia. ⁸

Oncogenes: fueron los primeros genes que se encontraron alterados en el CCR, en 1987. Son homólogos de los genes celulares normales que codifican proteínas que participan en vías de crecimiento celular y la diferenciación celular. Un cambio mutacional en un oncogén conduce a la activación constitutiva del gen, el cual resulta en la proliferación celular incontrolada. ^{7,9,10}

Entre los mecanismos que activan los oncogenes están las mutaciones puntuales (K-ras, N-ras, H-ras), la amplificación génica (C-myc) o la translocación cromosómica (bcr/abl).

El oncogén K-ras es el que se ha visto implicado más frecuente en CCR. Este gen codifica en condiciones normales una serie de proteínas ras, las cuales transmiten la señalización producida mediante la activación de receptores de membrana. La proteína ras inactiva está unida a guanosin difosfato (GDP) y, al estimularse, un factor intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF) favorece la formación de guanosin trifosfato (GTP)-ras, que es la forma activa. De forma rápida, dicho GTP es hidrolizado a GDP por la actividad GTPasa intrínseca de las proteínas ras, inactivándose. Cuando hay mutaciones de K-ras, la actividad GTPasa queda bloqueada y la proteína ras permanece activada y unida a GTP. Dichas mutaciones

suelen ocurrir en los codones 12 y 13 del exón 1 en el 90% de los casos ¹¹y en mucho menor frecuencia en el codón 61 del exón 2. ¹²

Mutaciones ras se encuentran en un 50% de los cánceres colorectales esporádicos, del 10 al 15% en adenomas <1cm, mientras que en los adenomas > 1cm están presentes en el 30 al 60%. K-ras también ha sido implicado en el proceso de invasión y metástasis tumoral.¹²

La baja frecuencia de mutaciones en los adenomas pequeños sugiere que las mutaciones ras son adquiridas durante la progresión del adenoma.

Genes de supresión tumoral: estos genes suelen tener una influencia inhibidora sobre el ciclo celular. Mientras los oncogenes actúan de manera dominante, requiriendo un solo alelo alterado para producir la transformación celular, los genes supresores son de carácter recesivo. Mutaciones en los genes supresores de tumores fueron identificados en 5q (el gen APC), 18q, 17p (el gen p53).¹³

Gen APC : las mutaciones somáticas en ambos alelos están presentes en el 80% de los CCR esporádicos, y una sola mutación germinal en el gen es responsable de la poliposis adenomatosa familiar (PAF), un síndrome hereditario dominante caracterizado por el desarrollo de cientos a miles de pólipos colorectales en la segunda o tercera década de la vida . ^{13,14}

Gen p53, es el gen más frecuentemente mutado en cáncer humano, se encuentra en el cromosoma 17p . Esta presente en aproximadamente 50 a 70 % de los CCR, la inactivación de p53 se produce por una mutación de un alelo seguida por la pérdida

del gen. Normalmente, las células detienen su crecimiento en respuesta a los agentes que dañan el ADN y otros factores estresantes (por ejemplo, hipoxia) a través de la activación de p53. Una vez activado, p53 induce la detención del ciclo celular (con el fin de facilitar la reparación del ADN), la apoptosis, senescencia, y la diferenciación. ^{13,14}

El modo de presentación de CCR puede ser alguno de los siguientes: esporádico, hereditario y familiar.

- Esporádico: no historia familiar, se presenta aproximadamente en el 70%. La edad promedio es a los 50 años, se asocia a factores ambientales y en la dieta.
- Hereditario : 10% tienen una predisposición verdadera de CCR y se subdivide en si presentan enfermedad polipoide o no.

Las enfermedades con pólipos incluyen: poliposis adenomatosa familiar (PAF), ,síndromes poliposis hamartomatosis (síndrome Peutz-Jeghers, poliposis juvenil, etc.). Las enfermedades sin pólipos son referidas como CCR hereditarias no asociado a pólipos (síndrome Lynch, CCR familiar tipo X). Estas condiciones son asociadas a alto riesgo de desarrollar CCR.

- Familiar: representa el 20-25%. Afecta a pacientes con historia familiar de CCR , pero no es considerado como síndrome hereditario. Individuos de estas familias tienen un riesgo elevado de presentar CCR. Presentando un familiar de primer grado aumenta el riesgo de CCR en 1.7 en comparación a

la población en general. Aumenta el riesgo si hay dos o más familiares de primer grado o si el diagnóstico se hizo antes de los 55 años.

Histopatología

La mayoría son adenocarcinomas , los cuales se clasifican según el grado histológico. Otros tipos histológicos son más raros. (carcinoma indiferenciado, carcinoma epidermoide, carcinoma de células pequeñas, carcinoma adenoescamoso, etc...)

En general, el grado histológico de diferenciación predominantemente toma en cuenta el grado de formación de las glándulas. La formación de la glándula está presente en mayor o menor cantidad en los tumores bien diferenciados y moderadamente diferenciados (tumores de bajo grado). Por el contrario, los adenocarcinomas pobremente diferenciado o indiferenciado (tumores de alto grado) no se forman bien definidas las estructuras glandulares, y a menudo con marcada atipia celular, pleomorfismo y un índice mitótico alto.

Muchos tumores producen mucina, la cual puede permanecer dentro de la célula o secretarla. En caso de que se secrete a través de la pared del tumor ayuda a la extensión local. Si la producción de mucina extracelular es mayor al 50% de la masa se clasifica como carcinoma mucinoso.¹⁵⁻¹⁷ Este tipo representa aproximadamente el 11-17% por ciento de todos los CCR. Los carcinomas mucinosos tienen predilección por el recto y el colon sigmoides, tienden a presentar en una etapa más avanzada. ¹⁵⁻¹⁷

En algunos carcinomas, la mucina intracelular puede ser una característica dominante que desplaza los núcleos de las células tumorales a un lado. Cuando se presenta más del 50 % de estas células en el tumor, se clasifica como un carcinoma de células en anillo de sello. Representando sólo el 1-2% de todos los CCR, son variantes agresivas, con una propensión a la propagación extensa intramural y la carcinomatosis peritoneal.^{15, 18,19}

El 10% de los CCR particularmente los poco diferenciados contienen diferenciación neuroendocrina. Si la diferenciación neuroendocrina es extensa se clasifican como carcinomas de células pequeñas, con pobre pronóstico.

El subtipo carcinoma medular, células poligonales que están fuertemente infiltradas por linfocitos de pequeño tamaño (es decir, los linfocitos tumorales infiltrantes) .La importancia de reconocer este tipo de tumor y diferenciarlo de un carcinoma indiferenciado es su asociación con inestabilidad de microsatélites y de CCR hereditarias no polipósico (CCHNP).¹⁵

Otros tumores menos frecuentes son linfomas, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi.

Los linfomas no Hodgkin son más frecuente en el ciego y colon derecho, generalmente se presentan como una masa solitaria. Carcinoides de colon ocurren en personas más jóvenes en comparación de los adenocarcinomas.

Es importante definir los tumores sincrónico y metacrónicos. Los tumores sincrónicos se definen como dos o mas tumores primarios separados por mucosa colónica normal, puede estar presente en 3-5%. La incidencia es cerca del 2.5% en pacientes con cáncer colorectal hereditario no poliposo. Los tumores metacrónicos

son aquellos que aparecen en el colon posterior a 6 meses de diagnóstico del tumor primario.

Manifestaciones clínicas

Los tumores proximales o en el colon derecho son usualmente polipoides o masas exofíticas, por lo que sangre oculta en heces o deficiencia de hierro puede ser su presentación clínica, otros son masa palpable, dolor abdominal y perdida de peso.^{15,20}

En contraste los tumores distales o de colon izquierdo suelen ser circulares o con oclusión de la luz, produciendo obstrucción intestinal, diarrea , constipación o perforaciones, hematoquezia. La presencia de hematoquezia es más frecuente en cáncer rectal. ²¹

Diagnóstico y estadio clínico

El estudio de un paciente con síntomas clínicos sospechosos de CCR tiene varios objetivos: confirmar la localización del cáncer primario, obtener confirmación histológica, detectar tumores primarios sincrónicos o adenomas y establecer la extensión de la enfermedad o estadio.^{15,22-25}

Pruebas diagnósticas:

- Radiología: la radiografía abdominal simple es sólo útil en el caso de los pacientes que se presentan como obstrucción intestinal o perforación. El enema opaco

es una prueba inicial ampliamente utilizada en los pacientes en que se sospecha un CCR. La tomografía computarizada puede ser útil para detectar enfermedad metastásica, aunque también puede ser usada para valorar la extensión local.

- Colonoscopia: un método simple para visualizar directamente y biopsiar lesiones sospechosas de malignidad.
- Ultrasonografía endorectal: para establecer la extensión local del tumor, fundamentalmente en los casos de cáncer de recto. Utilizando esta técnica (se pueden identificar las diferentes capas de la pared del recto afectadas y/o la progresión del cáncer hacia los tejidos perirectales, y extensión ganglionar.
- Resonancia magnética : al igual q el USG endorectal se utiliza para la determinación de la progresión tumoral. El nivel de invasión a las capas de la pared intestinal en tumores rectales son USG transrectal o resonancia magnética (RM), teniendo una sensibilidad del 79.41% y especificidad del 93.14% en RM , mientras que el USG transrectal una sensibilidad del 70.59% y especificidad del 90.20%.²⁶
- Marcadores tumorales: el antígeno carcinoembrionario (CEA) no es lo suficientemente sensible ni específico para ser considerado un marcador diagnóstico primario. Generalmente se utiliza como seguimiento.
- Estudios genéticos:

Se pueden realizar estudios genéticos de las biopsias tomadas, se realizan

par mutaciones genéticas más frecuentes, K-ras, APC, MLH1 y MSH2

Para el estudio de la mutación K-ras, es necesario una muestra fijada en formol al 10%, en un tiempo de 6-12hrs si es biopsia endoscópica y 8-24hrs si es pieza quirúrgica. Los cortes de parafina tienen que ser de 5-10µm . Se purifica el ADN tumoral. El paso a seguir depende de la prueba utilizada, hay diferentes pruebas, la más utilizada es basado en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR), PCR cualitativa en tiempo real, utiliza sonda marcadas para amplificar el ADN. Los productos de la amplificación se miden para determinar si el tumor tiene el gen K-ras de tipo nativo o mutante. Hay otro estudio, secuenciación directa, sin embargo en este se necesita mayor cantidad de ADN, aunque la sensibilidad es mayor.²⁷

Para el estadio existe la clasificación del sistema TNM (Tumor, Node, Metástasis Stage Grouping) ^{2,3}:

CANCER DE COLON:

Tumor primario

TX	No se puede evaluar el tumor primario.
T0	No hay prueba de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ: intraepitelial o invasión de la lámina propia.
T1	El tumor invade la submucosa.
T2	El tumor invade la muscularis propria.

T3	El tumor invade a través de la muscularis propia hacia los tejidos pericorrecetales.
T4a	El tumor penetra la superficie del peritoneo visceral.
T4b	El tumor invade directamente o se adhiere a otros órganos o estructuras.

Ganglios linfáticos regionales (N)

NX	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
N0	No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
N1	Hay metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales.
N1a	Hay metástasis en un ganglio linfático regional.
N1b	Hay metástasis en 2 a 3 ganglios linfáticos regionales.
N1c	Hay depósito(s) tumoral(es) en la subserosa o en los tejidos mesentéricos o pericolónicos no peritonealizados, o en los tejidos perirrectales, sin metástasis ganglionar regional.
N2	Hay metástasis en ≥ 4 ganglios linfáticos regionales.
N2a	Hay metástasis en 4 a 6 ganglios linfáticos regionales.
N2b	Hay metástasis en ≥ 7 ganglios linfáticos regionales.

Metástasis a distancia (M)

M0	No hay metástasis a distancia.
M1	Hay metástasis a distancia.
M1a	La metástasis está confinada a un órgano o sitio (es decir, hígado, pulmón, ovario, ganglio no regional).
M1b	Hay metástasis en >1 órgano o sitio, o el peritoneo.

Estadio anatómico

Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b

CANCER DE RECTO

Tumor primario

TX	No se puede evaluar el tumor primario.
T0	No hay prueba de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ: intraepitelial o invasión de la lámina propia.
T1	El tumor invade la submucosa.
T2	El tumor invade la muscularis propia.
T3	El tumor invade los tejidos pericólicas a través de la muscularis propia.
T4a	El tumor penetra la superficie del peritoneo visceral.
T4b	El tumor invade directamente o se adhiere a otros órganos o estructuras.

Ganglios linfáticos regionales (N)

NX	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
N0	No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
N1	Hay metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales.
N1a	Metástasis en un ganglio linfático regional.
N1b	Metástasis en 2 a 3 ganglios linfáticos regionales.
N1c	Depósito(s) tumoral(es) en los tejidos de la subserosa, mesentéricos o pericólicos no peritonealizados, o tejidos perirrectales sin metástasis en los ganglios regionales.
N2	Metástasis en ≥ 4 ganglios linfáticos regionales.
N2a	Metástasis en 4 a 6 ganglios linfáticos regionales.

N2b	Metástasis en ≥ 7 ganglios linfáticos regionales.
-----	--

Metástasis a distancia (M)

M0	No hay metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia.
M1a	Metástasis está confinada a un órgano o sitio (es decir, hígado, pulmón, ovario, ganglio no regional).
M1b	Metástasis en >1 órgano o sitio, o el peritoneo.

Cuadro 8. Estadio anatómico

Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1–T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3–T4a	N1/N1c	M0
	T2–T3	N2a	M0
	T1–T2	N2b	M0

Estadio	T	N	M
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3–T4a	N2b	M0
	T4b	N1–N2	M0
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b

Tratamiento

COLON:

El tratamiento varía según el estadio₂:

Estadio 0..... Escisión local o polipsectomía (tumores <2cm)

..... Resección del colon para lesiones más grandes

Estadio I..... Resección quirúrgica amplia y anastomosis

Estadio II..... Resección quirúrgica amplia y anastomosis

..... Quimioterapia adyuvante ¿?

Estadio IIIResección quirúrgica amplia y anastomosis +
Quimioterapia adyuvante

Estadio IV Resección quirúrgica y anastomosis, o derivación de las lesiones primarias obstructoras o sangrantes, en casos metastásicos seleccionados + quimioterapia adyuvante

.....Resección de metástasis en el hígado para pacientes seleccionados con metástasis o ablación en pacientes seleccionados + quimioterapia adyuvante

.....Resección de las metástasis aisladas pulmonares u ováricas para pacientes seleccionados+ quimioterapia adyuvante

.....Quimioterapia paliativa.

El tratamiento estándar para los paciente con cáncer de colon localizado (Estadios I,II) es la resección quirúrgica, sea abierta o laparoscópica. 28,29 , 30

El uso de quimioterapia adyuvante es pacientes con estadio II es controversial ya que la mejora de sobrevida global va del 2 a 4% en pacientes en tratados con quimioterapia adyuvante a base de fluorouracilo (5-FU) en comparación de los pacientes únicamente observados. Sin embargo en pacientes de alto riesgo, con T4, grado histológico pobre , invasión linfática o vascular así como neural , márgenes positivos, o inadecuada resección de ganglios (<12), se puede considerar la adyuvancia⁸⁷.

En estadios III se dan ciclos de 5FU/ leucovorin LV/oxaliplatin (FOLFOX) de primera línea, sin embargo hay otros tratamientos : FU/LV/oxaliplatin (FLOX), irinotecan/LV/5FU (FOLFIRI).Se recomienda también el uso de bevacizumab, cetuximab, panitumumab o irinoteca. 2,31,32

Metástasis en el hígado , estadio IV, se diagnostican en el 50% aproximadamente de los pacientes. Del 20 al 34% de los pacientes con CCR presentan metástasis sincrónicas en el hígado. ³³

Para que la resección quirúrgica de las metástasis en hígado sea posible, el paciente tiene que tener:

Número limitado de lesiones, <3

Ausencia de compromiso vascular importante

Enfermedad extrahepática limitada o ausente

Reserva hepática funcional suficiente.

La ablación por radiofrecuencia y la embolización son opciones para pacientes con tumores no resecables.

La quimioterapia en estos casos puede ser neoadyuvante o adyuvante, generalmente es neoadyuvancia la cual se da por 2-3 meses, y en cualquiera de los dos casos los medicamentos más utilizados son FOLFOX, FOLFIRI (FU/leucovorin/irinotecan) o CapeOx con o sin bevacizumab.

Es importante en estadios III-IV tomar en cuenta el uso de los nuevos medicamentos con anticuerpos monoclonales, por lo cual el estudio de K-ras en estos pacientes ayudara en la decisión terapéutica.

RECTO₃

Estadio 0..... Escisión local o polipectomía (tumores <3cm)

..... Resección de recto para lesiones más grandes

Estadio I Resección quirúrgica amplia y anastomosis cuando se puede realizar una resección anterior baja (RAB).

.....Resección quirúrgica amplia con resección abdominoperineal (RAP) en lesiones demasiado distales.

.....Resección local transanal con radioterapia, más fluorouracilo (5-FU) o sin este.

Estadio II Quimiorradioterapia preoperatoria con fluorouracilo (5-FU) en los pacientes de adenocarcinoma de recto clínicamente estadificado como T3/T4. + Escisión mesorrectal de total (EMT) con resección anterior baja (RAB) o resección abdominoperineal (RAP).

.....Quimiorradioterapia posoperatoria para los pacientes de cáncer de recto en estadio II o III que no recibieron quimiorradioterapia preoperatoria.

..... 4 a 6 meses de quimioterapia postoperatoria con base en 5-FU.

Estadio III Quimiorradioterapia preoperatoria con fluorouracilo (5-FU) en los pacientes de adenocarcinoma de recto clínicamente estadiado como T3/T4. + EMT con RAB o RAP.

.....Quimiorradioterapia postoperatoria para los pacientes de cáncer de recto en estadio II o III que no recibieron quimiorradioterapia preoperatoria.

..... Cuatro a 6 meses de quimioterapia posoperatoria con base en 5-FU.

Estadio IV..... Resección del cáncer de recto localmente recidivante: puede ser curativa en pacientes minuciosamente seleccionados.

.....Resección quirúrgica paliativa con RAB o RAP

.....Radioterapia paliativa.

.....Quimioterapia paliativa

..... Resección de metástasis hepáticas en determinados pacientes

.....Resección de metástasis pulmonares u ováricas aisladas.

El tratamiento de elección de pacientes con cáncer de recto va a depender en el estadio que lleguen, ya que en estos caso la terapia neoadyuvante influye mucho en el pronóstico del paciente.

Los pacientes a los cuales se les puede realizar resección transanal son aquellos que son T1, N0, y el tumor es <3cm, abarca <30% de la circunferencia del recto y su distancia en < 8cm margen anal.

Pacientes con lesiones en recto medio y superior se realiza RAB con 4-5cm de margen distal . RAP se realiza cuando hay involucro de los esfínteres. En ambos se realiza EMT.

Terapia combinada con radiación más quimioterapia y cirugía es el tratamiento de elección para pacientes con cáncer rectal estadio II/III. Las ultimas guías recomiendan quimioterapia basada en fluoropirimidina con radiación a pelvis prequirúrgica y quimioterapia postquirúrgica. Se usan también otras combinaciones de fármacos como 5FU + LV, FOLFOX ,Cape +/- ox.

Los pacientes con T4 o con enfermedad irresecable el tratamiento prequirurgico es con 5FU/RT o 5FU+LV/RT, si la resección es posible se realiza posterior a la quimioterapia.³

Aproximadamente 50-60% de los CCR presentan metástasis, y el 80-90% de estos son inicialmente irresecables. Aproximadamente el 20-34% CCR presentan metástasis sincrónicas en el hígado. En estos pacientes se les da quimioterapia neoadyuvante y se valora nuevamente. En caso de reducción de las metástasis se puede realizar resección o ablación con radiofrecuencia.^{2,3}

K-RAS

El oncogén K-RAS ha sido asociado con el desarrollo del cáncer de colon y esta presente en 50-60% de los pacientes con CCR esporádico.

El receptor factor de crecimiento epidérmico (EGFR) sobreexpresado se ha visto en el 19% de los CCR. El EGFR activa diferentes vías RAS/RAF/MAPK, STAT y P13/AKT los cuales realizan proliferación, adhesión, angiogénesis, migración celular.

Cetuximab y panitumumab son anticuerpos monoclonales contra EGFR. Sin embargo la respuesta a estos es del 10-20% en pacientes con CCR metastásico.³⁴

Varios estudios indican que la presencia de la mutación KRAS es de pobre pronóstico y se asocia a pobre respuesta a la terapia con anticuerpos monoclonales.

El uso de cetuximab o panitumumab se utiliza en pacientes con KRAS nativo. La respuesta del panitumumab en pacientes con KRAS nativo es del 17% en comparación de los que tiene KRAS mutado con nula respuesta.

Un estudio de 572 pacientes, en el cual se dividieron en dos grupos, 287 pacientes que recibieron tratamiento con cetuximab (grupo A) y 285 con únicamente tratamiento de soporte (grupo B), se obtuvieron los siguientes resultados:

Sobrevida: pacientes en el grupo A con mutación en K-RAS la media fue de 4.5 meses, y grupo B con mutación de 4.6 meses, la sobrevida a un año fue de 13% y 19% respectivamente, sin embargo en los pacientes del grupo A con K-RAS nativo la sobrevida fue de 9.5 meses con una supervivencia al año de 28.3%.

Periodo libre de enfermedad: fue de 1.8 meses en ambos grupos con mutación de K-RAS. En los pacientes con K-RAS nativo del grupo A fue de 3.7 meses, y del grupo B 1.9 meses.

Respuesta al tratamiento: ningún paciente del grupo B presentó respuesta. En el grupo A, el 12.8% de los pacientes con K-RAS nativo presentaron respuesta mientras que solo uno (1.2%) con mutación del K-RAS tuvo respuesta.

En este estudio se concluyo que el uso de cetuximab en pacientes con mutación del gen K-RAS no tiene beneficio alguno.³⁵

Otro estudio en fase II demostró la eficacia de cetuximab en combinación con FOLFOX o FOLFIRI como tratamiento de primera línea, con una tasa de respuesta del 53% en pacientes con K-RAS nativo mientras que solo el 36% con mutación K-RAS, y una sobrevida de 24 meses con K-RAS nativo y 16.7 meses en pacientes con mutación.³⁶

Problema a Investigar

¿Cuál es la incidencia de la mutación de K-ras en pacientes del Centro Medico ABC con cáncer de colon y recto ?

Justificación

La posibilidad conocer la incidencia de casos de cáncer de colon y recto en el Centro Médico ABC que tienen mutaciones en el gen K-ras, permitirá particularizar el tratamiento adyuvante y ofrecer mayor sobrevida y mayor periodo libre de enfermedad. Los pacientes con K ras nativo (no mutado) tienen mejor respuesta a tratamiento con Cetuximab y Panitumumab.

Hipótesis

Existe una incidencia similar a la reportada en la literatura de pacientes con mutación en el gen K-ras y cáncer de colon.

El oncogén k-ras mutado contribuye a la progresión del tumor

Objetivos

Objetivo General:

Determinar la prevalencia del gen K-ras mutado en el cáncer de colon y recto en pacientes del Centro Medico

Objetivo Particular:

Analizar los casos para definir:

- El tipo de gen mutado de K-ras,
- La relaciones con el grado de diferenciación histológico

Material y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, longitudinal, analítico y observacional de casos, en pacientes del Centro Médico ABC (American British Cowdray) con el diagnóstico de cáncer de colon o de recto en la fecha de enero del 2011 a junio del 2012. Se revisaron una serie de 41 expedientes de pacientes con diagnóstico de cáncer de colon o cáncer de recto de enero del 2011 a junio del 2012 en el centro médico ABC, a los cuales se les realizó el estudio de K-ras, de los cuales 26 estaban completos, se les estudiaron las siguientes características género, edad, localización del tumor, características histopatológicas, por último si el estudio de K-ras con resultado mutado o nativo. Los expedientes que no cumplían dichos requisitos no fueron incluidos.

Metodología estadística

Se realizó un análisis estadístico univariado y bivariado.

En las variables de tipo continuo se describen las medidas de tendencia central (media) y de dispersión: desviación estándar, máximo y mínimo.

Las variables de tipo discreto se describen en frecuencia y porcentajes.

En todas las pruebas realizadas se consideran criterios unilaterales, con un error tipo I (α) de 0.05.

En el análisis bivariado se aplicó la prueba T de student (T para muestras independientes) para las variables de tipo continuo, para las variables de tipo categórico se aplicó la prueba de X^2 de Pearson.

Criterios de Inclusión

Pacientes adultos del Centro Médico ABC con diagnóstico de cáncer de colon o recto, con expediente clínico completo , con resultado histopatológico de la lesión, con estudio de K-ras solicitado.

Criterios de exclusión

Expediente clínico incompleto, sin resultado histopatológico, estudio de K-ras no solicitado.

Variables

Se analizaron las siguientes variables:

Género, edad, sintomatología al diagnóstico, ,localización del tumor, características histopatológicas, estadio clínico, K-ras mutado o nativo

RESULTADOS

ANÁLISIS DESCRIPTIVO (UNIVARIADO)

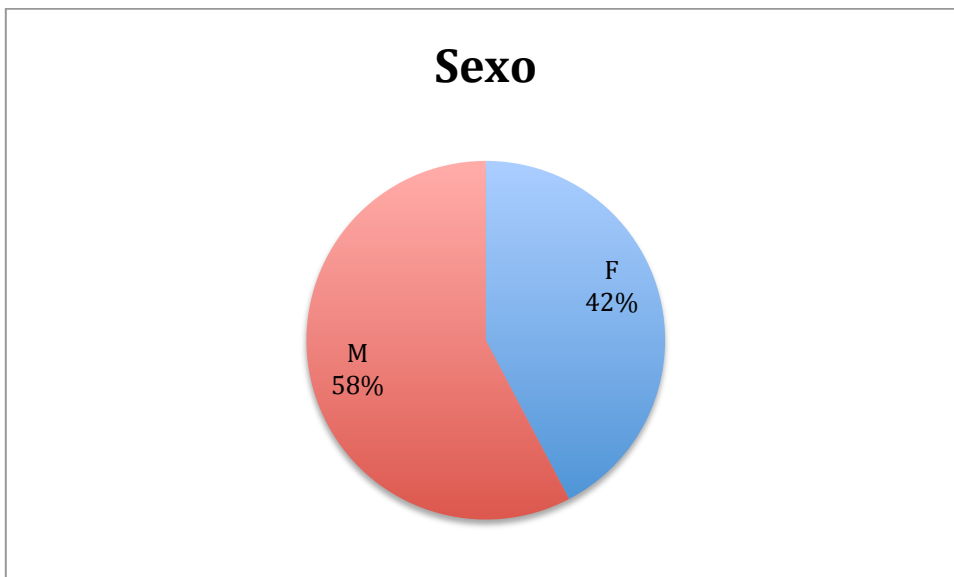
Población

Se revisaron un total de 41 expedientes sin embargo 26 expedientes estuvieron completos.

Género

De los 26 casos revisados 15 (58%) fueron hombre y 11 (42%) mujeres.

Gráfica 1.- Género



Edad

La edad promedio de las mujeres fue de 63.38 años con una desviación estándar (DE₊) de 13 años, con una edad mínima de 36 y máxima de 84 años.

Tabla 1. Distribución de la edad

Edad	Pacientes	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
	26	63.38	13.057	36	84

Localización del cáncer

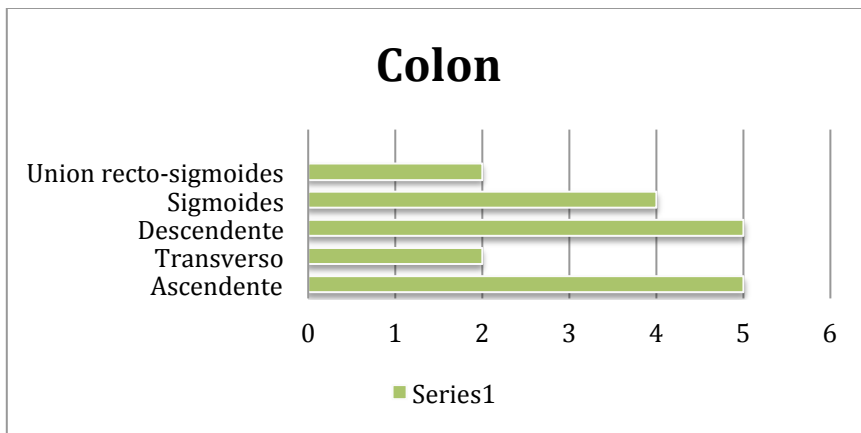
En relación a la región donde se localizó el cáncer, se encontró que la más frecuente fue en el colon en 18 pacientes (69%) seguido de la sigmoides y la recto (distal) 3 (11.5%) respectivamente.

Tabla 2. Localización del cáncer

Localización	Frecuencia	Porcentaje
Colon	18	69
Recto	8	31
Total	26	100

En las gráfica 2, se describe la localización en el colon siendo los sitios de mayor frecuencia colon ascendente y colon descendente.

Gráfica 2. Localización Tumor de colon



Tipo Histológico

Se presento adenocarcinoma en 25 pacientes, carcinoma epidermoide en 1 paciente.

Tabla 5. Tipo Histológico

<i>Tipo histológico</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Adenocarcinoma	25	96.1
Ca. epidermoide	1	3.9
Total	26	100

Grado de diferenciación

Respecto al grado de diferenciación de los pacientes con adenocarcinoma el 92.% (23) pacientes tuvieron un grado de diferenciación moderado .

Tabla 6. Diferenciación

<i>Diferenciación</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Bien	1	4
Moderado	23	92
Poco	1	4
Total	25	100

Etapa clínica

Respecto a la etapa clínica, el estadio IIb y IVa fueron los que más prevalecieron con 26.9% (7) cada etapa.

Tabla 10. Etapa clínica

Etapa Clínica	Frecuencia	Porcentaje
I	2	7.63
IIA	7	26.9
IIB	2	7.63
IIC	1	3.8
IIIA	1	3.8
IIIB	1	3.8
IIIC	2	7.63
IVA	7	26.9

IVB	3	11.5
Total	26	100,0

Mutación

La mutación del K-ras se presentó en el 65% (17) de los pacientes como se observa en la tabla 11.

Tabla 11. Mutación de K-ras

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Mutación K-ras	17	65
K-ras nativo	9	35

El codón más frecuente afectado fue el condón 12 con 13 (77%) pacientes (mientras que el codón 12 solo se presento mutado en 4 (23%) pacientes.

Tabla 12. Codón mutado

<i>Codón</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
12	13	77
13	4	23

DISCUSIÓN

La identificación de factores pronóstico de los CCR sigue siendo una de las principales metas para los médicos, siendo uno de estos la presentación de la mutación K-ras ya que como se ha descrito anteriormente al estar presente tiende a no responder a diversos tratamientos de quimioterapia .

El oncogén *K-ras* ha sido asociado con el desarrollo del CCR, presentándose hasta en el 40-50% de los pacientes con CCR ^{2,40} , en nuestro estudio el porcentaje fue mayor, sin embargo es una muestra pequeña. En cuanto a la distribución por sexo en nuestro estudio se observó que no hubo diferencias significativas.

Al considerar la clasificación histológica, 96%(25) eran adenocarcinomas del total de la muestra y de estos 16 pacientes presentaron mutación del K-ras. De los pacientes con adenocarcinoma y con mutación del K-ras el 93.8%(15) tenían grado de diferenciación moderado y solo el 6.2% (1) era bien diferenciado.

El porcentaje de mutaciones del oncogén *K-ras* observado fue del 65% (17) , estos resultados son mayores a los reportados por Capella y col. (40,1%)₃₇ , Finkelstein y col. (35%)₃₈ y menores a los reportados por Benhattar y col. (71%)₃₉. Estas discrepancias son debidas quizás, a diferencias étnicas, o variaciones en la metodología del estudio siendo una muestra pequeña. Con respecto al codón afectado se presento más frecuente en el codón 12 con 13 pacientes (77%), mientras que en el codón 13 fueron 4 pacientes (23%). No se pudo comparar el grupo de pacientes según el tipo histológico ya que el 96% de muestra presentaba adenocarcinoma.

Se compararon los grupos de pacientes cuyos tumores presentaban mutación del oncogén *K-ras* con los que no lo presentaban, utilizando como parámetro de comparación al estadio clínico, ubicándose a los pacientes en estadio clínico según el TNM. Se tomo estadio temprana pacientes con etapa clínica I y II , avanzada pacientes con etapa III y IV. El 52 %(9/17) de los pacientes cuyos tumores presentaban mutación del oncogén *K-ras*, se ubicaba en estadios avanzados de la enfermedad comparados con 55% (5/9) en aquellos pacientes que no presentaban algún tipo de mutación, estos resultados aunque estadísticamente no significativos.

CONCLUSIÓN

El presente estudio representa el reporte preliminar de epidemiología molecular del carcinoma de colon y recto en México, proporciona nuevos argumentos que dan soporte a la hipótesis ¿el oncogén *K-ras* mutado contribuye a la pobre diferenciación del tumor?. Constituye además un factor de decisión sobre la oportunidad de tratamiento adyuvante con nuevas terapias biológicas basadas en el uso de anticuerpos monoclonales contra Receptor de Factor de Crecimiento Epidérmico. Finalmente establece las bases de evaluación a largo plazo en nuestra población, de las nuevas terapias biológicas con Cetuximab y Panitumumab en pacientes con cáncer colorectal estadios III y IV.

BIBLIOGRAFIA

1. OMS, Organización Mundial de la Salud, <http://www.who.int/en/>.
2. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, Colon Cancer. National Cancer Network. Version 3. 2012.
3. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, Rectal Cancer. National Cancer Network. Version 3. 2012.
4. INCAN, <http://www.incan.edu.mx/>
5. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* , 2010 60:277.
6. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*; 1990 61:759.
7. Takayama T, Ohi M, Hayashi T, et al. Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2001; 121:599.
8. Chung DC, Rustgi AK. DNA mismatch repair and cancer. *Gastroenterology* 1995; 109:1685.
9. Shibata D, Schaeffer J, Li ZH, et al. Genetic heterogeneity of the c-K-ras locus in colorectal adenomas but not in adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:1058.
10. Tortola S, Marcuello E, González I, et al. p53 and K-ras gene mutations correlate with tumor aggressiveness but are not of routine prognostic value in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17:1375.

11. Loupakis F, Pollina L, Stasi I et al. PTEN Expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from Cetuximab plus Irinotecan for patients with metastatic, *J Clin Oncol* ; 2009,27 (16): 2622—29.
12. Brink M, de Goeij A, Weijnenberg MP et al. K-ras oncogen mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis* ;2003, 24 (4): 703-710.
13. Vogelstein B, Fearon ER, Kern SE, et al. Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244:207.
14. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988; 319:525.
15. Cappel SM. Pathophysiology, Clinical presentation and management of colon cancer. *Gastroenterol Clin N AM* 37; 2008 1-24.
16. Secco GB, Fardelli R, Campora E, et al. Primary mucinous adenocarcinomas and signet-ring cell carcinomas of colon and rectum. *Oncology* 1994; 51:30.
17. Consorti F, Lorenzotti A, Midiri G, Di Paola M. Prognostic significance of mucinous carcinoma of colon and rectum: a prospective case-control study. *J Surg Oncol* 2000; 73:70.
- 18 Nissan A, Guillem JG, Paty PB, et al. Signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum: a matched control study. *Dis Colon Rectum* 1999; 42:1176.
- 19 Psathakis D, Schiedeck TH, Krug F, et al. Ordinary colorectal adenocarcinoma vs. primary colorectal signet-ring cell carcinoma: study matched for age, gender, grade, and stage. *Dis Colon Rectum* 1999; 42:1618.

20. Goodman D, Irvin TT. Delay in the diagnosis and prognosis of carcinoma of the right colon. *Br J Surg* 1993; 80:1327.
21. Joosten E, Meeuwissen J, Vandewinckele H, Hiele M. Iron status and colorectal cancer in symptomatic elderly patients. *Am J Med* 2008; 121:1072.
22. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. *Gastrointest Endosc* 2003; 58:S3.
23. Morrin MM, Farrell RJ, Raptopoulos V, et al. Role of virtual computed tomographic colonography in patients with colorectal cancers and obstructing colorectal lesions. *Dis Colon Rectum* 2000; 43:303.
24. Macari M, Berman P, Dicker M, et al. Usefulness of CT colonography in patients with incomplete colonoscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 173:561.
25. Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2011; 259:393.
26. Halefoglu AM, Yildirim S, Avlanmis O, et al. Endorectal ultrasonography versus phased-array magnetic resonance imaging for preoperative staging of rectal cancer. *World J Gastroenterol* 2008;14(22):3504-3510.
27. Hernandez-Losa J, Landolfi S, López-Ríos F, et al. Recomendaciones para la determinación de mutaciones de K-ras en áncer de colon. *Rev Esp Patol* 2012; 45 (2), 76-85.
28. Cohen AM. Surgical considerations in patients with cancer of the colon and rectum. *Semin Oncol* 1991;18:381-387.

29. West NP, Hohenberger W, Weber K, et al. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon. *J Clin Oncol* 2010; 28:272-278.
30. Fleshman J, Sargent DJ, Green E, et al. Laparoscopic colectomy for cancer is not inferior to open surgery based on 5-year data from the COST Study Group trial. *Ann Surg* 2007;246:655-662.
31. Andre T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009 27:3109- 3116.
32. Des Guetz G, Uzzan B, Morere JF, et al. Duration of adjuvant chemotherapy for patients with non-metastatic colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010.
33. Yoo PS, Lopez-Soler RI, Longo WE, Cha CH. Liver resection for metastatic colorectal cancer in the age of neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2006;6:202-207.
34. Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to Cetuximab and Panitumumab in Colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010;28 (7):1254-1261.
35. Kaeapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ et al . K-ras Mutation and benefit from Cetuximab in advanced Colorectal cancer. *N Engl J Med* 559 2008; (17); 1757-1765.
36. Brodowicz T, et al. *ASCO GI* 2009; Abstract No: 381.
37. Capella G, Cronauer-Mitra S, Peinado M, Perucho M. Frequency and Spectrum of

Mutation at Codon 12 and 13 of the K-ras Gene in Human Tumors. *Environ Health Perspect* 1991; 93:125-131.

38.Finkelstein S, Sayegh R, Christensen S, Swalski P. Genotypic Classification of Colorectal Adenocarcinoma. *Cancer* 1993; 71:3827-3838.

39.Benhattar J, Losi L, Chaubert P, Givel J, Costa J. Prognostic Significance of K-RAS mutation in colorectal carcinoma. *Gastro- enterology* 1993; 104:1044-1048.

40.Richman SD, Seymour MT, Chambers P, et al. KRAS and BRAF Mutations in Advanced Colorectal Cancer Are Associated With Poor Prognosis but Do Not Preclude Benefit From Oxaliplatin or Irinotecan: Results From the MRC FOCUS Trial *Jclin Oncol* 2009; 27, 5931-5937.

