



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PETRÓLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

**ASOCIACIÓN DE LA MUTACIÓN DE K-RAS EN LOS ADENOMAS DE
COLON Y EL DESARROLLO DE ADENOCARCINOMA,
ESTUDIO EN CASOS DIAGNOSTICADOS EN EL SERVICIO DE
PATOLOGÍA DEL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD,
PEMEX, DE ENERO DEL 2005 A MAYO DEL 2012.**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO

DE ESPECIALISTA EN:

ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:

DRA. MARÍA LIZETH PÉREZ DÍAZ

TUTOR DE TESIS:

DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO

ASESORES DE TESIS:

DR. ANDRÉS LUPIAN SÁNCHEZ

DR. PEDRO ARTURO ZARATE RODRÍGUEZ



MÉXICO D.F. FEBRERO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. ROGELIO ESPINOSA LÓPEZ
DIRECTOR

DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN

DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO
TUTOR DE TESIS
JEFA DEL SERVICIO DE Y TITULAR
DEL CURSO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

DR. ANDRÉS LUPIAN SÁNCHEZ
ASESOR ESTADÍSTICO

Agradecimientos

Tengo muchas cosas que agradecer y todas ellas te las debo a ti Dios; en primer lugar gracias por la familia que me diste, unos padres y hermanos amorosos, justos, honrados e incondicionales. Quienes me enseñaron que en la vida se puede lograr lo que uno se proponga si lo haces con empeño pero sobre todo con amor. Me enseñaron que si estabas en mi corazón guiarías mis pasos y si en algún momento tomaba el camino incorrecto, tú encaminarías nuevamente mi andar.

Gracias Papas por estar siempre a mi lado, por creer en mí y por su infinito esfuerzo para que lograra mis sueños. Porque a pesar de que las circunstancias que nos rodeaban fueran adversas ustedes nunca dijeron no.

A mis maestras por todas sus enseñanzas, por su paciencia y apoyo, por permitirme compartir mas haya del mero trato profesional, por escucharme y reconfortarme cuando lo necesite, por todo esto y mas gracias Dra. Rivera, Dra. Lety, Dra. Vero y Dra. Rosita.

Gracias a mis compañeros de residencia por compartir conmigo estos años, por permitirme sentir entre amigos y no entre compañeros de trabajo. Les agradezco las risas, las palabras de aliento y porque no también los enojos. Los extrañare: Susana, Braulio, Gloria y Sandy.

INDICE

Definición del problema.....	5
Marco teórico.....	5
Clasificación de los pólipos colónicos.....	5
Etiología.....	6
Epidemiología.....	6
Fisiopatología.....	7
K-ras como oncogén.....	10
Clasificación de los adenomas de colon.....	11
Gradificación histológica.....	13
Antecedentes.....	15
Justificación.....	17
Pregunta de investigación.....	18
Hipótesis.....	18
Objetivos.....	19
Tipo de estudio.....	19
Materiales y método.....	20
Resultados y análisis estadístico.....	26
Discusión.....	37
Conclusiones.....	39
Bibliografía.....	40
Cronograma de actividades.....	41
Imágenes ilustrativas de adenomas.....	42

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.

La mutación de K-ras en adenomas y carcinoma de colon se ha descrito en diversas poblaciones con una frecuencia que varía entre el 40 y 70% respectivamente. Esta mutación se presenta en etapas tempranas de la secuencia adenoma-carcinoma. En este estudio se pretende definir si en la población mexicana que tiene características, nutricias, genéticas y ambientales diferentes, se presenta asociación entre la mutación K-ras en adenomas de colon y el desarrollo de carcinoma.

MARCO TEORICO.

CLASIFICACION DE LOS PÓLIPOS COLONICOS

En el colon el término pólipo se refiere a una neoformación glandular hiperplasica, hamartomatosa o neoplásica benigna. El mejor procedimiento para detectarlos es la colonoscopia.(1)

Los pólipos se dividen en 2 grupos:

- Neoplasias o adenomas
 - a) Adenomas tubulares
 - b) Adenomas túbulo-vellosos
 - c) Adenomas vellosos
- No neoplásicos
 - a) Juveniles o de retención
 - b) Hiperplasicos

c) Hamartomatosos

ETIOLOGÍA

Los adenomas colorectales se definen como neoplasias glandulares benignas caracterizadas por epitelio displásico.(1)

Los factores de riesgo para su desarrollo son:

- Dieta abundante en grasas y carnes rojas
- Dieta pobre en verduras, frutas y granos
- Dieta con bajo contenido de fibras, folatos y metionina.
- Etilismo
- Tabaquismo
- Poca actividad física

EPIDEMIOLOGÍA

La frecuencia de adenomas en la población depende del área geográfica. En poblaciones con alta incidencia de adenocarcinoma colorectales, tienen una prevalencia de adenomas que oscila entre el 30 y e 40% y esta asciende hasta el 50 y 65% después de los 65 años. En zonas de baja frecuencia de adenocarcinomas desciende al 12%. (1)

Después de los 40 años la mayoría de las lesiones polipoides son adenomas y se localizan con mayor frecuencia en el recto sigmoides, es recomendable realizar rectosigmoidoscopia después de esta edad. Si esta es un adenoma es recomendable realizar una colonoscopia larga, ya que se presentan hasta en un 20% adenomas sincrónicos en otro segmento de colon.(1)

Es difícil precisar el momento de la transformación maligna de estas lesiones. Cuando los adenomas son solitarios se calcula un riesgo global de malignización del 5%. Cuando estas lesiones son mayores a 1 cm se transforman en adenocarcinomas en 2.5 a 8% y 24% a 5, 10 y 20 años respectivamente.(1)

En la 5ta década de la vida aproximadamente el 12% de la población presentara adenomas de los cuales el 25% son considerados de alto riesgo, después de los 50 años la prevalencia de adenomas continua subiendo afectando al 50% de la población de alto riesgo de los países del Este.(2)

FISIOPATOLOGÍA

En 1990 se desarrollo un modelo de carcinogénesis colorrectal 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 Kras, mutaciones en p53 y deleciones en el cromosoma 18 coinciden con la transición a carcinoma. A esta serie de eventos se le conoce como secuencia adenoma-carcinoma.

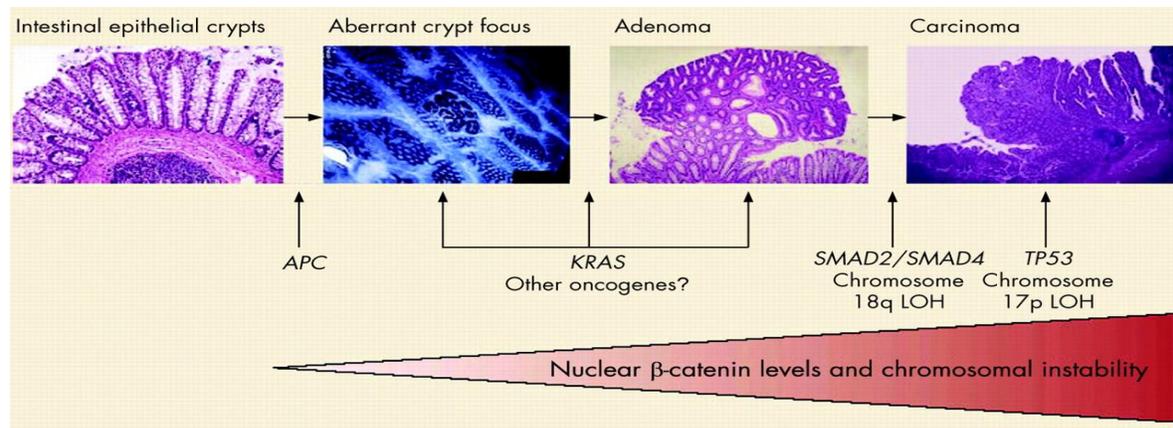


Figura 1. Secuencia adenoma carcinoma

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. La acumulación de estas alteraciones genéticas en el epitelio colónico requiere algunos años, normalmente décadas, lo que está de acuerdo con la edad media de los pacientes diagnosticados de CCR (alrededor de 65-70 años).

Se requieren al menos siete alteraciones para que se desarrolle un tumor maligno. Las distintas alteraciones genéticas que acompañan la secuencia epitelio normal, displasia, adenoma temprano, adenoma tardío, carcinoma

- 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 mas frecuencia.
- Oncogenes: los oncogenes fueron los primeros genes que se encontraron alterados en el CCR. Estos genes codifican proteínas que están implicadas en el crecimiento y la diferenciación celular. Entre los mecanismos que activan los proto-oncogenes están las mutaciones puntuales (K-ras, N-ras, H-ras), la amplificación génica (C-myc) o la traslocación cromosómica (bcr/abl). Todas desregulan la expresión génica y producen una proteína con su función alterada. Aparte del oncogén Kras que está implicado en el 40% de los CCR pocos oncogenes se han visto implicados en la carcinogénesis colorectal.
- Genes supresores: su función es la de inhibir la proliferación celular. Mientras los oncogenes actúan de manera dominante, ya que la alteración de

un único alelo es suficiente para producir la transformación celular, los genes supresores son de carácter recesivo. Por tanto, la pérdida de función de estos genes necesita de la inactivación de ambos alelos, la cual suele producirse por una mutación o por una deleción (o por ambas). La comparación de los alelos presentes en el tejido tumoral con respecto a los del tejido normal permite la identificación de deleciones, siendo una de las más frecuentes la pérdida de heterocigosidad.

Las mutaciones que ocurren en los genes tumorales pueden venir inducidas por factores externos o por errores espontáneos que se producen durante la replicación del ADN. El CCR puede inducirse a través de 2 vías moleculares, la vía supresora y la vía mutadora que fenotípicamente dan soporte a dos tipos de CCR diferentes, polipoideo y no polipoideo:

1- Vía supresora: asociada a inestabilidad cromosómica. La inestabilidad cromosómica se manifiesta en el desarrollo de tumores con aneuploidía y pérdidas frecuentes de heterocigosidad (LOH) en múltiples locus, así como mutaciones que activan oncogenes e inactivan o bloquean genes supresores.

En el cáncer de colon, el oncogén Ras y los genes supresores APC y P53 son los prototipos. Pertenecen a este grupo el 80-85% de los cánceres de colon de tipo esporádico (sin antecedentes familiares) polipoideos y los hereditarios de la poliposis adenomatosa familiar (PAF), que tienden a afectar más al colon distal.

2- Vía mutadora: asociada a inestabilidad de microsatélites (MSI+). Se presenta en el 15% de los tumores esporádicos así como en el 85% de los CCHNP que, en general, se caracterizan por estar localizados fundamentalmente en colon proximal y tener un mejor pronóstico con

respecto a los cánceres de la vía supresora. En ellos se observa una ausencia de mutaciones de los genes alterados habitualmente en los tumores de la vía supresora (Ras, APC y P53), siendo las mutaciones en microsatélites consecuencia de otras mutaciones en los genes reparadores del DNA. A estas mutaciones se las ha dado el nombre de mutaciones mutadoras.

KRAS COMO ONCOGEN

Este oncogén codifica una proteína implicada en la transducción de señales. Para contribuir en la carcinogénesis colorectal, las mutaciones en K-ras han de ser un tipo determinado: mutaciones en uno de los residuos 12, 13 o 61 con ganancia de función (de esta forma la célula se encuentra en ventaja de crecimiento). Además, la mutación de K-ras ha de seguir a la pérdida de APC ya que si APC esta intacto, solo se origina una lesión microscópica en el fondo glandular denominada foco aberrante no neoplásico., las mutaciones de K-ras se asocian con al menos dos características histopatológicas: mayor tamaño y mayor intensidad de displasia. El papel que desempeña la presencia de mutaciones en esta vía de desarrollo tumoral no esta claro per se ha sugerido dos hipótesis: en primer lugar implicación en la adquisición de un fenotipo de mayor agresividad, ya que se asocia con un mayor grado de displasia y su consecuente progresión a carcinoma al alterarse la función GTP-asa y perpetuar la unión de p21-ras-GTP. En segundo lugar es importante constatar que el pequeño grupo de adenomas de un tamaño inferior al centímetro que presenta mutación de K-ras son aquellos con una más rápida evolución a displasia severa y carcinoma. En el carcinoma ya instaurado, algunos autores han señalado que el cambio en el aminoácido traducido a glicina por aspártico en el

codón 12 se asocia fundamentalmente a carcinomas con estadio B de Dukes mientras que los cambios G a T y G a C con un mayor riesgo de desarrollo de metástasis.

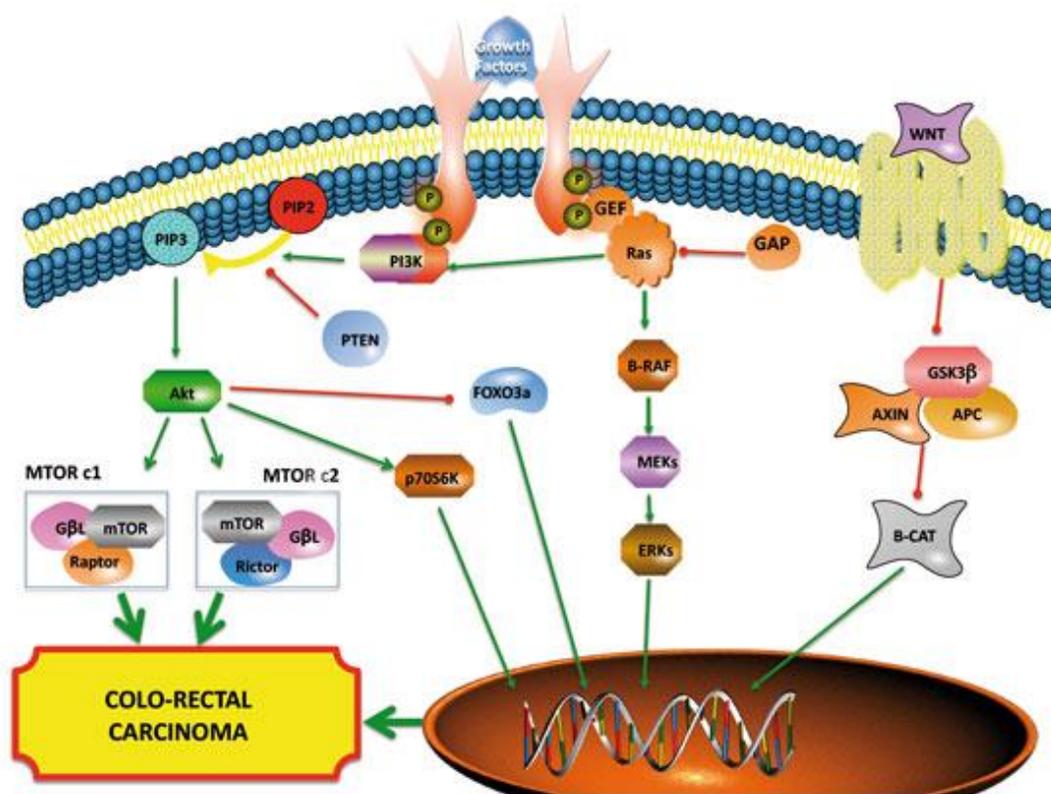


Figura 2. Secuencia de alteraciones genéticas y moleculares en el desarrollo de carcinoma de colon.

CLASIFICACION DE LOS ADENOMAS DE COLON

Macroscópicamente los adenomas pueden ser elevados, planos e incluso deprimidos. Los adenomas elevados pueden ser desde pediculados con tallo corto o largo, hasta sésiles. Los planos se reconocen endoscópicamente por una zona de enrojecimiento y cambios en la textura. Los adenomas deprimidos producen ligero

desnivel eritematoso en la mucosa, son generalmente mas pequeños que los pediculados y los planos, por lo general son multicentricos y pueden evolucionar a adenocarcinomas incluso siendo muy pequeños.(1)

Adenomas tubulares.

Los adenomas tubulares son los mas frecuentes generalmente son pediculados, aunque pueden presentar cualquiera de las características ya descritas. Son mas frecuentes en el colon izquierdo y sobre todo en el sigmoides. El síntoma mas frecuente es el sangrado usualmente leve, otros síntomas son obstrucción, incontinencia, prolapso, dolor abdominal, constipación y diarrea. (1)

Histológicamente se observan un gran número de glándulas adosadas entre sí o separadas por escaso estroma, el patrón de las criptas se conserva pero se pierde la diferenciación normal hacia células caliciformes y absortivas, las células se elongan y los núcleos se alargan y se tornan hiperromáticos, se pseudoestratifican y el número de mitosis aumenta. Este epitelio displásico ocupa por lo menos 80% luminal de la lesión.(1)

Adenomas vellosos.

Los adenomas vellosos son con mayor frecuencia sésiles y se caracterizan por elongaciones digitiformes, revestidas por epitelio displásico, sostenidas por estroma de la lámina propia. Para que se les otorgue la denominación de adenoma velloso, por lo menos debe tener 80% de patrón velloso.(1)

Una estructura vellosa se define arbitrariamente como aquella cuya longitud de las proyecciones vellosas es más de dos veces el espesor normal de la mucosa colónica. En estas lesiones la frecuencia de displasia de alto grado y adenocarcinoma invasor es mayor en los adenocarcinomas tubular.(1)

Adenomas tubulovellosos.

Los adenomas mixtos muestran una combinación de patrones adenomatoso y velloso; para que se les de esta denominación, es necesario que presenten más del 25% de patrón tubular o velloso. La potencialidad de malignidad es similar a los adenomas tubulares y al igual que estos pueden presentarse en los síndromes de poliposis múltiples.(1)

GRADIFICACION HISTOLOGICA.

La displasia en los adenomas se clasifica como de bajo y alto grado, este último incluye el carcinoma in situ. Estos pueden invadir a la mucosa o la muscular de la mucosa y son considerados adenocarcinomas intramucosos, el carcinoma invasivo se presenta cuando hay invasión de la submucosa y está presente más allá de la muscularis de la mucosa. La displasia de bajo grado es definida por la presencia de criptas complejas arquitecturalmente, con núcleos pseudoestratificados o parcialmente pseudoestratificadas con los núcleos rechazados solo en la porción inferior del citoplasma celular, actividad mitótica presente pero sin mitosis atípicas, pérdida significativa de la polaridad y pleomorfismo son mínimos, la criptas están dispuestas paralelamente, sin arreglos complejos. La displasia de alto grado esta

definida por marcada pseudoestratificación o la estratificación este presente el la mitad superior del citoplasma celular, hay importante pleomorfismo celular, actividad mitótica y marcada pérdida de la polaridad, los cambios arquitecturales incluyen: glándulas espalda con espalda y patrón cribiforme, cuando esta displasia se hace mas compleja caracterizada por pérdida de la diferenciación glandular, la relación núcleo citoplasma aumenta entre otras, no es llamada carcinoma in situ se sigue llamando displasia severa. Cuando hay infiltración por celas en anillo de sello, proliferación de glándulas pequeñas, desmoplasia o expansión marcada o colección empujante de glándulas espalda con espalda con arquitectura prominentemente cribiforme en la mucosa es considerado como adenocarcinoma intramucosos, este se hace por la marcada invasión de la lámina propia. Se han realizado estudios que este tipo de lesiones no tienen potencial metastasico si se reseca con bordes libres.

En el presente el mejor predictor para la presencia de la malignidad en un adenoma después de la escisión es el tamaño de la lesión, patrón vellosa, alto grado de displasia. En adenomas de más de 2cm hay un riesgo del 10 al 20% de desarrollar carcinoma después de la resección, en adenomas de 1 a 2cm el riesgo es de 5% y los menores de 1cm del 1%.

La mayoría de los adenomas ocurren distalmente al ángulo esplénico y 40% en colon proximal. Por consenso se estableció que el seguimiento de estos pacientes debía ser después de los 50 años o si había antecedente de carcinoma de colon en familiares de primer grado se debe realizar 10 años antes de la edad en la que fue diagnosticado el familiar y el estudio se repetirá cada 2 a 10 años dependiendo de

los hallazgos colonoscópicos y en pacientes con antecedente de síndrome poliposo cada 1 o 2 años. (2)

ANTECEDENTES

En este estudio realizado en el hospital universitario de Osaka se estudiaron 32 adenomas de colon con displasia leve y moderada y 36 adenomas con carcinoma focal, cada adenoma fue estudiado y se seleccionaron las áreas donde presentaban diferentes grados de displasia o carcinoma, se encontraron 36 áreas con displasia leve, 49 con displasia moderada y 36 con carcinoma focal. La frecuencia de la mutación de K-ras se encontró de la siguiente forma; 19% en displasia leve, 51% en displasia moderada y 39% en carcinoma focal. (3)

Un estudio realizado en el hospital universitario de Okayama, se clasificaron a los adenomas de 97 pacientes, dependiendo de sus características histológicas, se encontró que la mutación de K-ras era mayor en los adenomas tubulovelloso siendo de estos 24 de 40 positivos (60%).(4)

En este mismo estudio se identificó que el riesgo de malignización depende de diferentes características como tamaño, forma y tipo histológico. Del 5 al 10% de los adenomas colorectales presentan carcinoma intramucoso. En los casos de poliposis familiar el riesgo de malignización es del 80%.(4)(5)

En un estudio realizado en el Hospital médico universitario Kaohsiung, en donde se estudió el tejido obtenido de 70 pacientes, 21 de estos presentaron mutación detectada por microarreglos, lo que representó el 30% del total de universo, siendo mayor en adenomas tubulovelloso y vellosos que en tubulares.(5)

Como es conocido K-ras es miembro de la familia Ras, la activación de este gen es el más frecuentemente relacionado con los carcinomas humanos. La consecuencia de esta mutación in vivo no está bien dilucidada pero se cree que involucra la desregulación del crecimiento celular y diferenciación, inhibición de la apoptosis y la estimulación de la angiogénesis. (5)

Este gen esta mutado en 75% de los carcinomas de páncreas, 45% de los carcinomas colorectales y 48% de los carcinomas pulmonares. En algunos estudios se refiere que la presencia de la mutación de K-ras se presenta hasta en un 70% de los carcinomas colorectales y en el 40% de los adenomas de colónicos mayores a 1cm y en el 18% de los adenomas de colon mayores a 0.5cm. Se ha identificado que hay una relación entre la mutación de K-ras y el grado de displasia. Las mutaciones puntuales más frecuentes son en los codones 12 y 13. Se ha estudiado que los adenomas de más de 2cm con mutación de K-ras, tienen mayor riesgo de recurrencia.(3)(5)(6)

La mayoría de las mutaciones de Kras se identifican en los codones 12 (G12D, G12V) y 13 y el resto en el 61. Las mutaciones en estos codones están asociados a mas del 50% de las neoplasias de colon.(7)

También se ha visto en diferentes series que la mutación en el codón 12 se asocia a un pronóstico pobre en comparación con los mutados en el codón 13. En un estudio se refiere que la mutación especifica en G12V le confiere mayor agresividad.(9)

En el estudio realizado en carcinomas de colon por Estrada y col, se encontró la mutación en el 23.3% de su población en estudio, el 28.57% en el codón 12, el 57.14% en el 13 y el 14.29% en ambos codones. Se encontró que 78.57% de las

lesiones con la mutación se presento en colon izquierdo. También se observo que los pacientes con mutación de Kras se encontraban en estadios clínicos mas avanzados, B2 el 42.86% y C2 el 57.4%, esto le confiere a la mutación de Kras como un factor pronostico independiente. Los carcinomas mucinosos los cuales son conocidos como neoplasias de pobre pronostico, presentaron la mutación en un 28.57%, lo que tal vez confiera su mayor agresividad.(7)

En diversos estudios se ha encontrado que la presencia o expresión de la mutación de Kras va disminuyendo conforme se avanza la secuencia adenoma carcinoma, esto quiere decir que la expresión de Kras es inversamente proporcional al tamaño del tumor, esto se ha encontrado en concreto con G12V.(10)

En los últimos años han surgido nuevas terapias para el carcinoma de colon, de las que destaca el tratamiento con anti-EGFR, se ha encontrado en diferentes estudios como en el realizado por Wang y col., que la mutación de Kras confiere una pobre respuesta al tratamiento con estos medicamentos. En este mismo estudio se menciona que en diferentes estudios se ha demostrado que la aparición de la mutación de Kras es de aparición temprana en la secuencia adenoma-carcinoma.(8)

JUSTIFICACIÓN

En diversos estudios se ha encontrado que los adenomas colónicos se presenta la expresión de la mutación de K-ras hasta en un 40%, esta mutación se asocia al desarrollo de carcinoma de colon hasta en un 70% y a un peor pronóstico. Al determinar la mutación de K-ras en los adenomas podemos establecer una asociación entre esta y el desarrollado carcinoma de colon en los pacientes con

estos diagnósticos. Ya que la mayoría de las neoplasias de colon son analizadas y tratadas en este Hospital y se cuenta con información clínica, histológica y se cuenta con el apoyo del laboratorio de biología molecular, para que este estudio puede llevarse a cabo.

PREGUNTA

¿Cuál es la asociación del carcinoma de colon en pacientes que tienen adenomas con la mutación de K-ras?

HIPOTESIS

Los pacientes con adenomas de colon que presentan la mutación K-ras desarrollaran carcinoma de colon en el 25%.

Hipótesis nula

La mutación de Kras en los adenomas de colon no se asocia al desarrollo de carcinoma de colon.

OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la asociación de la mutación de Kras en adenomas de colon y el desarrollo de adenocarcinoma, en pacientes diagnosticados en enero del 2005 a diciembre del 2012.

- OTROS OBJETIVOS
- Determinar la prevalencia de la mutación de K-ras en los adenomas de colon y del carcinoma de colon de la población en estudio.
- Determinar las características clinicopatológicas obteniendo
 - --sexo
 - --edad
 - --tipo histológico
- Conocer el tipo de adenoma que se asocia con mayor frecuencia a mutaciones de K-ras.
- Conocer el codón donde se presenta la mutación para determinar si es el mismo en los adenomas y en los carcinoma de aquellos pacientes que lo desarrollaron.

TIPO DE ESTUDIO.

Observacional, transversal, comparativo

MATERIALES Y MÉTODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Todos los pacientes con diagnóstico histopatológico de adenoma de colon, realizado en el Servicio de Patología del Hospital Central Sur de Alta Especialidad, asociado o no a carcinoma de colon, este último diagnóstico realizado en el HCSAE y/o en cualquier otro laboratorio de patología de las unidades hospitalarias de PEMEX en el periodo comprendido entre Enero del 2005 a Diciembre del 2012.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los pacientes con diagnóstico de adenoma de colon que cuenten con bloques de parafina de las biopsias realizadas y/o bloques de revisión, con diagnóstico histológico de adenoma de colon, realizado en el HCSAE y expediente clínico, en el periodo comprendido de Enero del 2005 a Diciembre del 2012.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Pacientes que no cuenten con bloques de parafina, que no tengan expediente clínico o que no hayan sido diagnosticados en el periodo comprendido de Enero del 2005 a diciembre del 2012.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

Bloques que no contengan material histológico

Material que no sea útil para su procesamiento.

Bloques que no sean localizados.

Bloques de parafina en donde el tejido no sea suficiente para estudio de PCR.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

- Tipo de adenomas
- Adenocarcinoma intestinal de colon
- Mutación de K-ras
- Sexo
- Edad
- Codón

MÉTODO

-Se obtendrá del archivo electrónico de patología todos los casos con diagnóstico de adenoma de colon.

- -Adenoma Tubular
- -Adenoma Velloso

- -Adenoma Tubulovelloso

-De los pacientes con diagnóstico de adenoma se buscara en el sistema de patología cuantos tienen además diagnóstico de Adenocarcinoma previo, sincrónico o posterior al diagnóstico del adenoma y el tipo de carcinoma de colon.

-Se buscara en el archivo de patología los bloques y las laminillas de cada caso

-Se aplicaran los criterios de exclusión y eliminación

- De los casos que cuenten con todos los criterios de inclusión:

-Se obtendrá del expediente clínico los siguientes datos:

- Sexo
- Edad
- Intervalo de tiempo entre el diagnóstico de adenoma y carcinoma

-De las laminillas con hematoxilina-eosina se analizarán las características microscópicas de los adenomas:

- Corroboración del tipo de adenoma

Con los casos recopilados, se seleccionará el tejido que se enviara para determinar si existe o no la mutación, excluyendo área de necrosis, autolisis y pared muscular.

Se solicitará se coloque en un tubo Ependorf entre 15 y 20 cortes de 10 micras de los bloques de parafina para enviarlos al Laboratorio de Biología Molecular para realizar PCR y determinar la presencia o ausencia de las mutaciones de K-ras que incluyen:

- Cortes de los adenomas
- Cortes de los carcinomas encontrados de estos pacientes
- En los casos de carcinoma originado en adenoma y ambos estén en el mismo corte ambas lesiones se enviarán por separado.

Posteriormente se realizará el análisis de los datos obtenidos y se hará la correlación clínico patológica y análisis estadístico de los datos encontrados.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis descriptivo en el cual las variables nominales se representarán en porcentajes.

Como en este estudio obtendremos dos grupos de pacientes; los que presentan la mutación y los que no la presentan, los que se asocian a adenocarcinoma y de estos cuales tienen la mutación, en todas estas circunstancias tendremos 2 grupos obteniendo los casos y los controles de nuestra misma población en estudio, por lo tanto la siguiente prueba estadística se podrían utilizar para poder establecer una medida de asociación:

- Razón de Momios.

RECURSOS HUMANOS

Un médico especialista en Anatomía patológica.

Un médico residente del curso de especialización en Anatomía patológica.

Histotecnólogos.

Personal de laboratorio de PCR.

RECURSOS MATERIALES

- Expediente clínico
- PCR para K-ras
- Microscopio de luz.
- Computadora personal.
- Impresora
- Papelería.

IMPLICACIONES ETICAS

En este estudio se pretende determinar la mutación de K-RAS en los casos ya diagnosticados con adenoma de colon y de los que desarrollaron carcinoma, debido a que este estudio de Biología Molecular es muy reciente se informara al médico tratante del hallazgo de la mutación en caso de ser encontrada, y se reportara en el expediente electrónico.

Dado que el pedir aprobación a los pacientes para realizar este estudio es casi imposible o impracticable el comité de ética deberá considerar aprobar esta investigación.

En este estudio mantendremos la exactitud de los datos y resultados obtenidos, ya fueran estos positivos o negativos.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

No amerita.

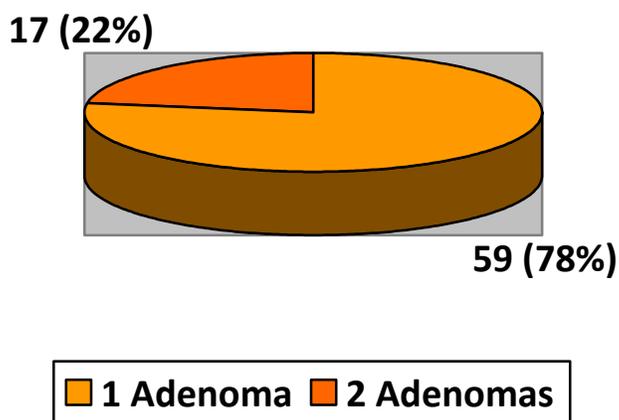
RESULTADOS

Las variables de estudio se obtuvieron del instrumento de recolección de datos capturándose en una base de datos en el programa EXCEL. Posteriormente a cada variable se le asignó un valor y se codifico del 1 a 2 y 1 a 3, dependiendo de la evaluación de cada variable (ver sección de variables).

Se analizaron las variables por medio de la prueba estadística Razón de Momios.

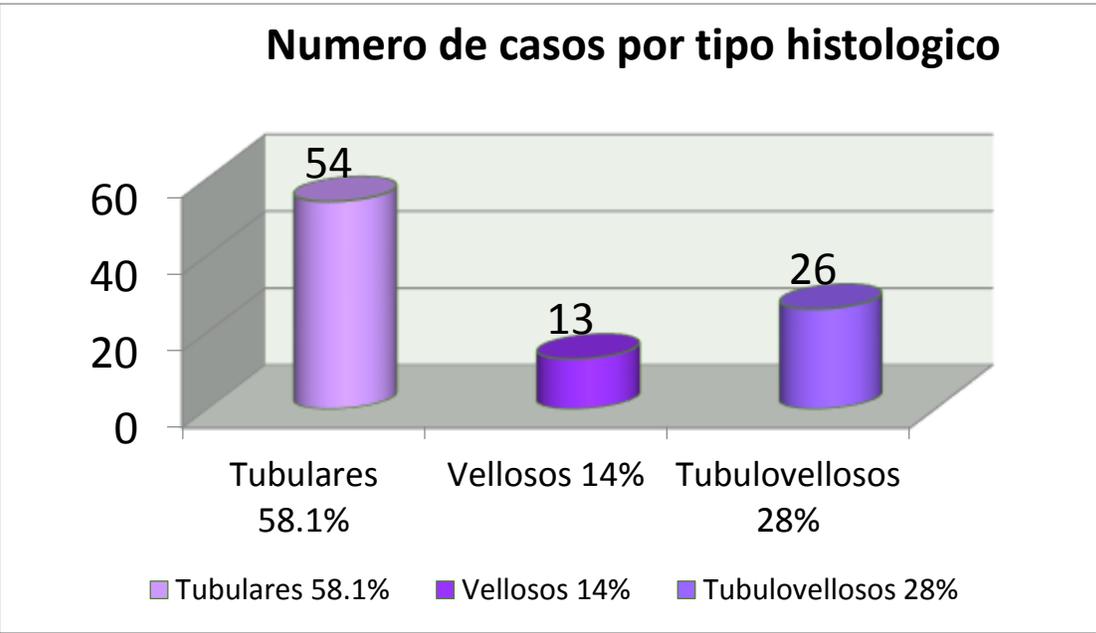
En el servicio de patología de Enero del 2005 a diciembre del 2012, se obtuvieron un total de 123 casos (100%), diagnosticados como adenomas, Aplicando los criterios de inclusión y exclusión se obtuvo un total de 93 adenomas pertenecientes a 76 pacientes, 17(22%) de estos pacientes tuvo 2 adenomas y 59(78%) solo uno. En lo referente a la distribución por sexo, 47 fueron hombres y 29 mujeres con una edad media de 61.82 años y un rango de edad que oscila entre 11 y 89 años.

Porcentaje de pacientes con uno o dos adenomas

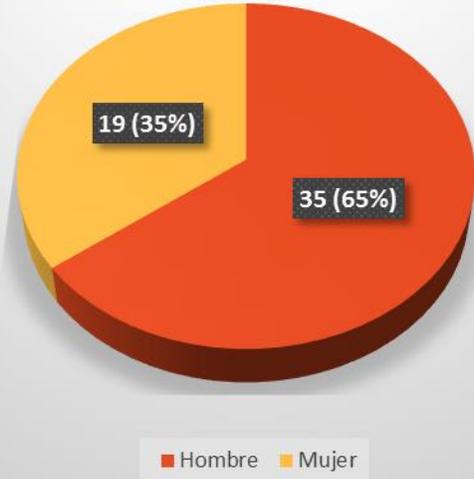




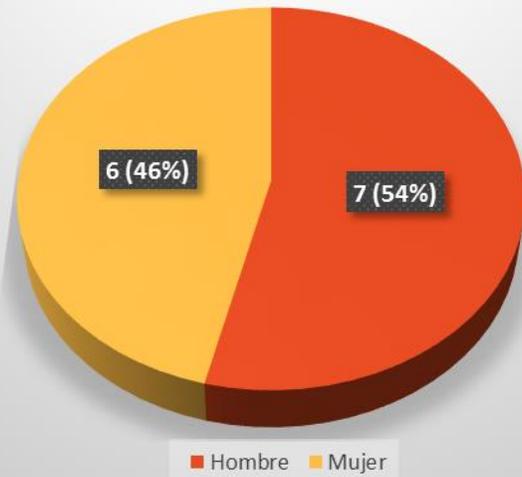
Respecto al tipo histológico y distribución por sexo 54 fueron tubulares (58.1%) 19 en mujeres y 35 en hombres, 13 vellosos (14%) 6 en mujeres y 7 en hombres, por ultimo 26 (28%) fueron tubulovelloso de estos 11 en mujeres y 15 en hombres.



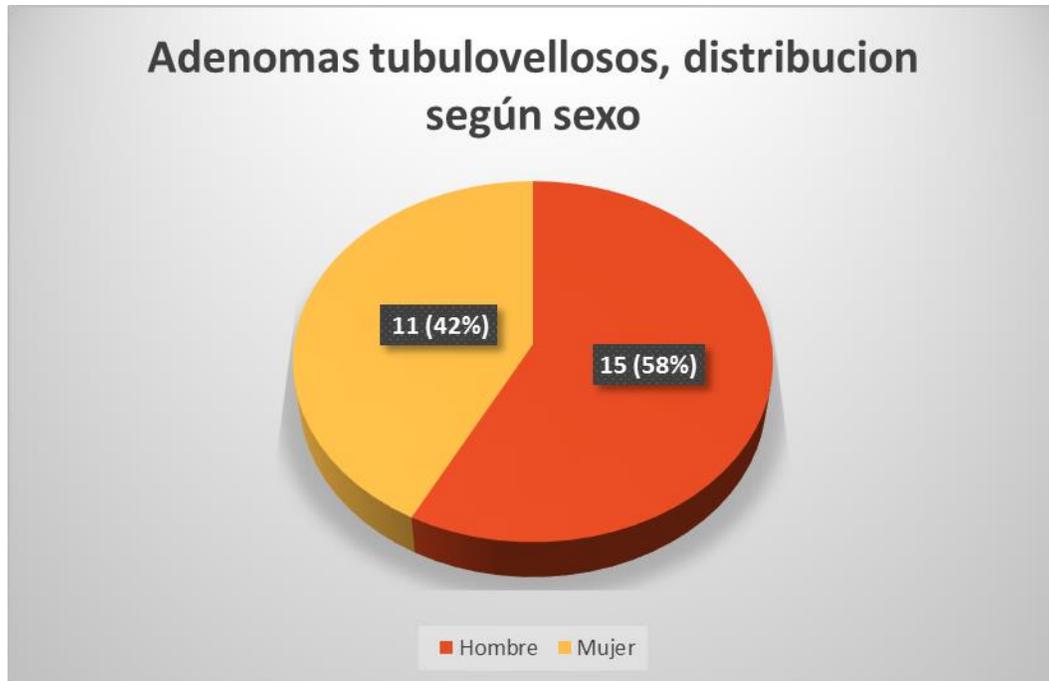
Adenomas tubulares, distribución por sexo



Adenomas vellosos distribución según sexo



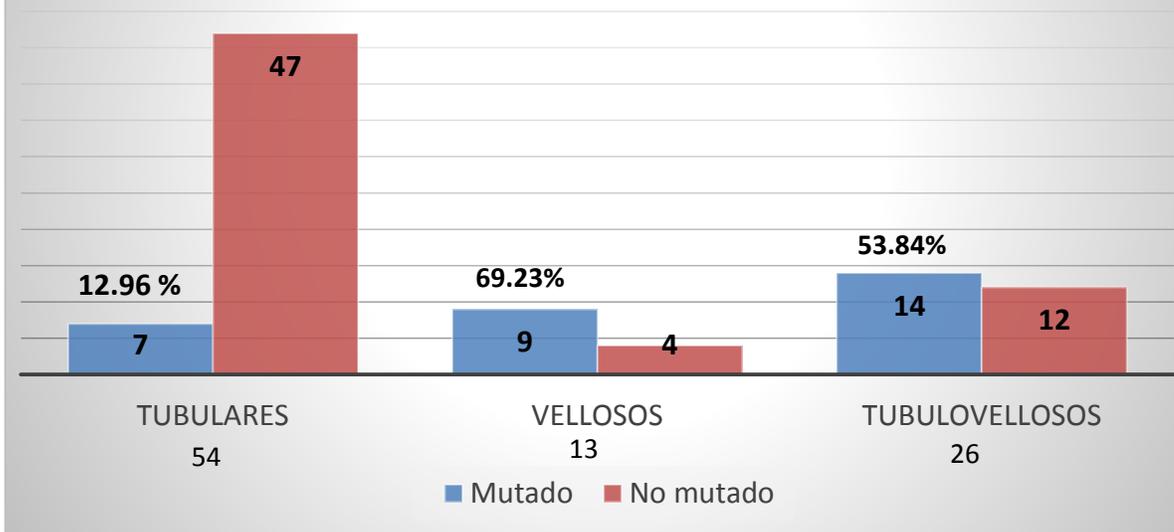
Adenomas tubulovelloso, distribución según sexo



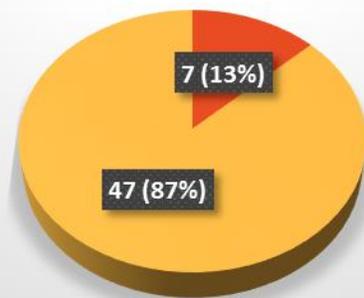
A todos los casos se les realizó PCR para detección de la mutación de Kras. Se encontró que la mutación de Kras estaba presente en 30 adenomas, representando así el 29% del total de adenomas. Con la siguiente distribución:

- 7 de 54 (12.96%) adenomas tubulares con una RM 0.66 (0.3-1.4), siendo no significativo estadísticamente.
- 9 de 13 (69.23%) adenomas vellosos con una RM 6.3 (1.7-22.7) y una $p=0.003$ resultando estadísticamente significativo.
- 14 de 26 (53.84%) adenomas tubulovelloso con una RM 3.71 (1.4-9.6) y una $p=0.05$ resultando estadísticamente significativa.

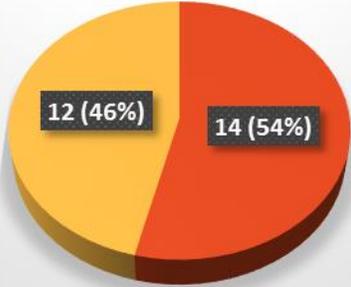
Comparación entre adenomas con mutación de Kras y adenomas no mutados



Adenomas tubulares con mutacion de Kras

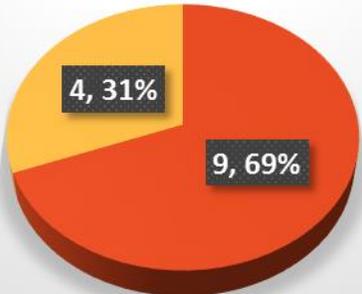


Adenomas tubulovillosos con mutacion de Kras



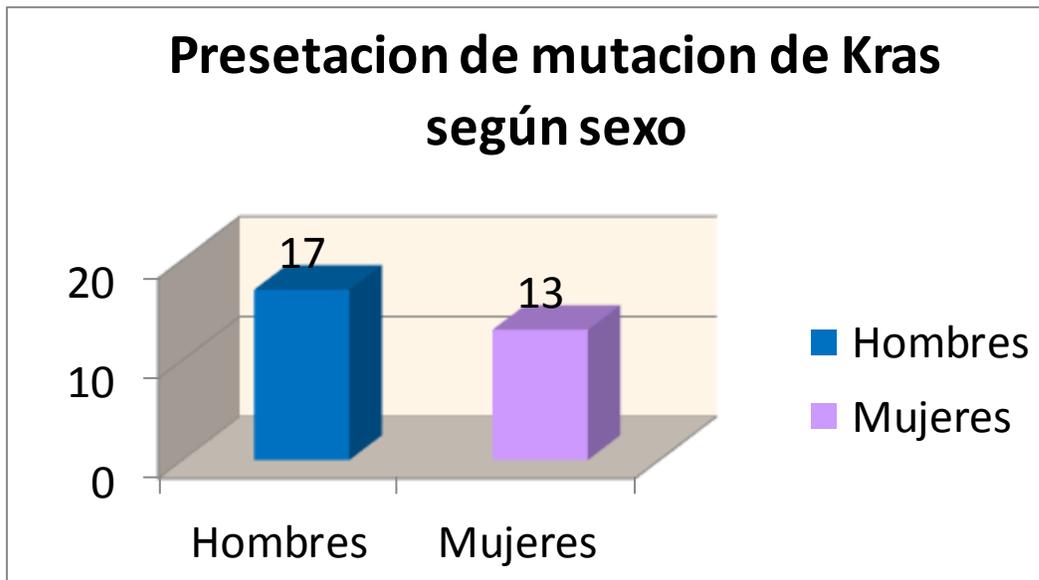
■ Con mutacion ■ Sin mutacion

Adenomas vellosos con mutacion de Kras



■ Con mutacion ■ Sin mutacion

En cuanto al sexo de presentación de esta mutación se observaron 13 casos en mujeres y 17 en hombres, la edad media de presentación fue de 65.9 ± 14.04 .

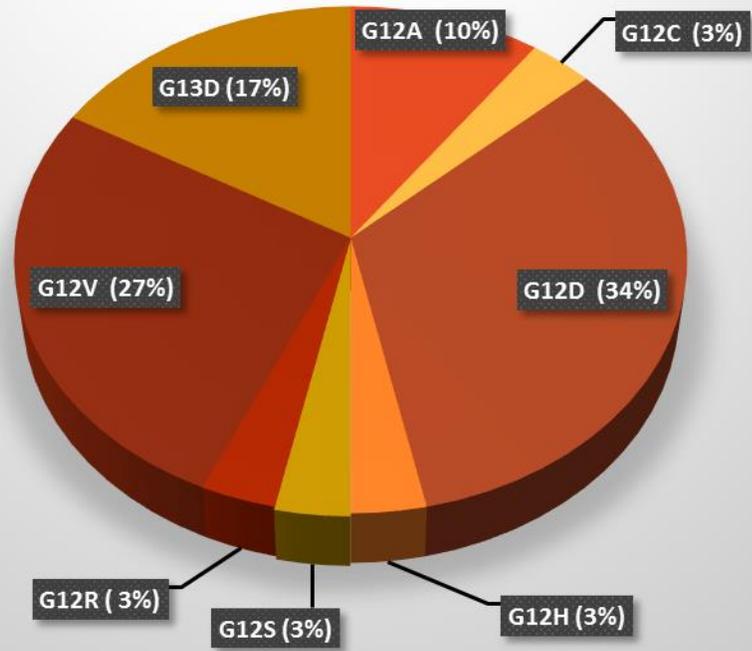


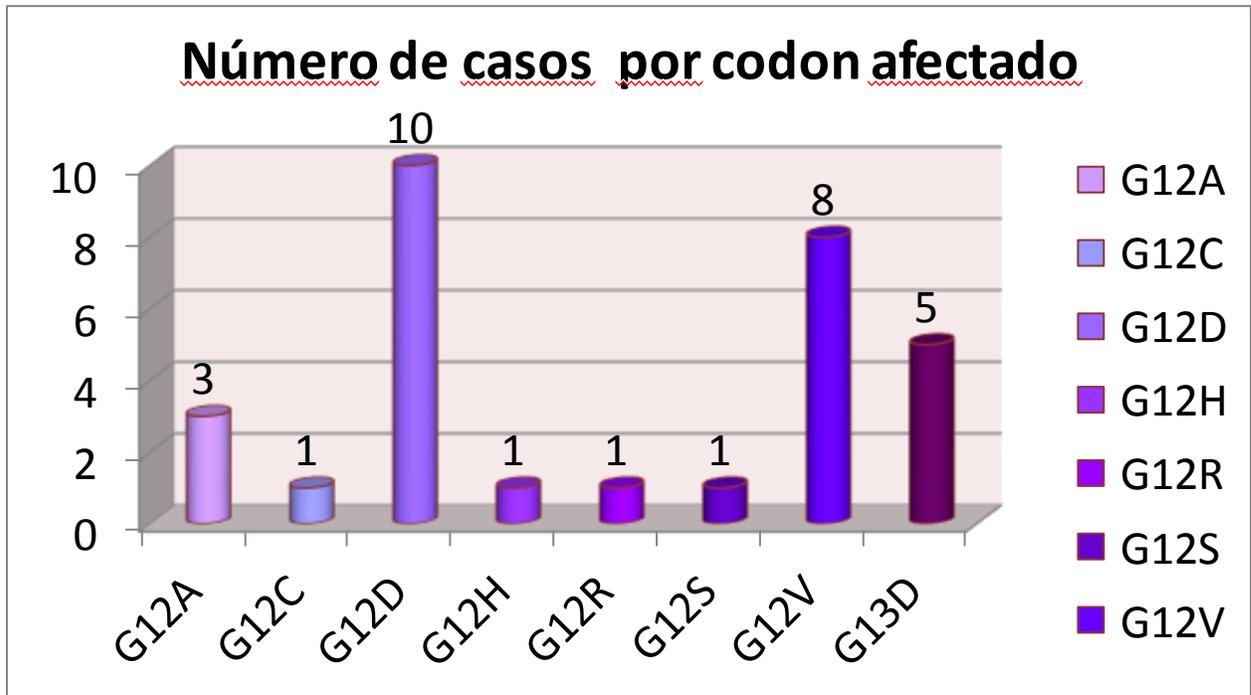
En cuanto a los codones donde se presenta la alteración se encontró que el G12D fue el más frecuentemente afectado con 10 casos (34%), seguido por el G12V con 8 casos (27%), G13D con 5 casos (17%) y G12A con 3 casos (10%), el resto de los codones (G12C, G12H, G12S, G12R) se presentó en un caso cada uno (3% cada uno).

CODON	TUBULAR	VELLOSO	TUBULOVELLOSO	TOTAL
G12A	2		1	3
G12C			1	1
G12D	3	4	3	10
G12H			1	1
G12R		1		1
G12S	1			1
G12V		4	4	8
G13D	1		4	5
TOTAL	7	9	14	30

Tabla 1 Distribución de adenomas según tipo histológico y mutación puntual de Kras.

Codones afectados





Concomitantemente con la búsqueda de los casos diagnosticados como adenomas se buscó si alguno de los paciente había tenido también el diagnostico histopatológico de carcinoma con lo cual se obtuvo un total 10 casos con ambos diagnósticos. El diagnostico de carcinoma intestinal de colon podía ser previo, sincrónico o posterior al de adenoma. Se encontró que 4 fueron diagnósticos sincrónicos, 5 previos y 1 posterior al diagnóstico de adenoma. En cuanto a la variedad histológica de los adenomas 4 fueron adenomas tubulares, 4 adenomas tubulovelloso y 2 vellosos De estos casos ninguno presento mutación de Kras tanto en el adenoma como en el carcinoma. Tres carcinomas presentaron mutación de Kras, 2 en G12D, 1 en G13D y un adenoma tubulovelloso con mutación en G12V. Se realizó una razón de momios en la cual se obtuvo como resultado 1.46 (0.37-5.6) con una p estadísticamente no significativa ($p=0.67$). Por lo tanto no se estableció una relación entre estas dos entidades con la mutación de Kras. (tabla2)

Ya con el resultado de la mutación de Kras se busco si alguno de esos 30 adenomas con mutación también tenían diagnóstico de carcinoma, se encontró que solo uno tenía carcinoma, este caso corresponde al adenoma túbulo vellosos con mutación de G12V anteriormente mencionado.

Tabla 2 Casos con Diagnóstico de Adenoma y Carcinoma y relación con mutación de Kras

Numero de caso	Tipo de Adenoma	Mutación de Kras adenoma	Mutación de Kras Carcinoma	Tiempo en el que se presento
1	Tubular	WT	WT	Previo
2	Tubular	WT	WT	Previo
3	Tubulovellosos	G12V	WT	Previo
4	Tubulovellosos	WT	WT	Previo
5	Tubulovellosos	WT	WT	Previo
6	Tubulovellosos	WT	G12D	Posterior
7	Tubular	WT	WT	Sincrónico
8	Vellosos	WT	WT	Sincrónico
9	Vellosos	WT	G13D	Sincrónico
10	Tubular	WT	G12D	Sincrónico

DISCUSIÓN

En este trabajo se buscó la asociación de la mutación de k-ras en los adenomas de colon y el desarrollo de adenocarcinoma, el estudio se realizó en casos diagnosticados en el servicio de patología del hospital central sur de alta especialidad, y se obtuvieron las biopsias de enero del 2005 a diciembre del 2012 que fueron 123 casos de adenomas y aplicando los criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron 93 casos correspondientes a 76 pacientes con predominio en varones (62%) , con una relación H:M de 1.6:1, la edad oscilo entre los 11 y 89 años con una media de 61.82 años, estos resultados son semejantes a la literatura revisada donde la edad oscilo entre 20 y 80 años con un predominio en varones.

En cuanto al tipo histológico se encontró que el adenoma tubular fue el más frecuente (58.1%) y el menos frecuente fue el adenoma vellosa (14%), este dato concuerda con la literatura en la cual se reporta un claro predominio del adenoma tubular sobre las demás variedades histológicas.

La mutación de Kras se encontró presente en 30 de los 93 adenomas, lo que representa el 29% de los casos, en otras series se encontró entre 29.6% y 40%, siendo el adenoma vellosa el que presento mayor asociación a la mutación de Kras (69.93%), también se encontró asociación entre los adenomas tubulovellosos y la mutación de Kras (53.84%). Este dato fue diferente a lo encontrado en otros estudios en los cuales el adenoma tubulovellosa fue el adenoma con mayor presentación de mutación en Kras. La mutación fue más frecuente en hombres (57%) y la edad media fue de 65.9±14.04 años. Los adenomas tubulares son los

adenomas con menos asociación a mutación de Kras hecho esperado ya que estos son los adenomas con menos grado de displasia.

Los codones más frecuentemente afectados fueron G12D (34%), G12V (27%) y G13D(17%), estos hallazgos concuerdan con lo reportado en la literatura siendo los codones más frecuentemente afectados, en este estudio se encontró que en la población G12V es el segundo más afectado(27%), este punto es de significativa importancia ya que estudios han reportado que G12V confiere un comportamiento más agresivo a la entidad y este tiende a disminuir su expresión conforme evoluciona el padecimiento , por tal motivo sería importante mantener en vigilancia a los pacientes que presentaron adenoma con mutación en este codón.

En cuanto a la relación entre los adenomas y el desarrollo de carcinoma, no se encontró que alguno de los casos que presentaba las dos lesiones tuviera mutación de Kras en ambas, por lo tanto en este estudio no se encontró asociación entre esta mutación y el desarrollo de carcinomas, aunque cabe mencionar que algunos de los especímenes estudiados son de reciente diagnóstico y se menciona que el tiempo que transcurre entre la aparición de un adenoma y el desarrollo de carcinoma es de hasta 10 años.

CONCLUSIONES.

- La mutación de K-ras se asoció más a los adenomas vellosos y en segundo lugar a tubulovellosos.
- Se encontró que el codón más afectado en los adenomas fue el G12D con un total de 10 casos, seguido por G12V que se asocia a mayor agresividad de la entidad y el cual pierde expresividad conforme evoluciona la secuencia adenoma carcinoma. Por lo tanto es importante mantener en vigilancia a los pacientes que presentaron esta mutación puntual.
- En este estudio no se estableció la relación entre la mutación de K-ras en los adenomas y el desarrollo de carcinoma, probablemente debido al tiempo transcurrido entre el diagnóstico del adenoma y la realización de la prueba y se requiere un mayor tiempo de seguimiento.
- Este trabajo abre la pauta para el desarrollo de estudios prospectivos para poder establecer la relación entre estas entidades y la mutación de K-ras

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Ángeles, Ángeles Arturo, Biopsia endoscópica de tubo digestivo. 1era ed., México, D.F.; Ángeles editores, 2002, Pág. 193-199.
- 2.- , Robert D. Odze, John R. Goldblum, James M. Crawford, Surgical pathology of the GI tract, Liver, Biliary Tract and pancreas, 1st ed., Philadelphia, Pennsylvania, Saunders 2004,. Pag. 345-349.
- 3.- Ohnishi T, Tomita N, et. al. A detailed analysis of the role of K-ras gene mutation in the progression of colorectal adenoma. British Journal of Cancer (1997), 75(3), 341-347.
- 4.- Harada K, Hiraoka S, et. al. Genetic and epigenetic alterations of Ras signaling pathway in colorectal neoplasias: analysis based on tumour clinicopathological features. British Journal of Cancer, 2007, 1425-1431.
- 5.- Wang Jaw-Yuan, Wang Yung-Hsin, et. al. Molecular mechanisms underlying the tumorigenesis of colorectal adenomas: Correlation to active K-ras oncogene. Oncology reports 16; 1245-1252, 2006.
- 6.- R. Barry Elizabeth, Baron Jhn, et. al. K-ras mutations in incident sporadic colorectal adenomas. Cancer, March 1, 2006, Vol.106, Num. 5.1037-1040..
- 7.- Estrada Pedro, Rojas Atencio Alicia, et al. Frecuencia y asociación clinicopatologica de las mutaciones de Kras en pacientes venezolanos con cáncer colorectal. Invest Clin 50(1);55-63,2009.
- 8.- Wang, Hanlin, Lopategui Jean, et al. KRAS mutation testing in human cancers: The pathologist's role in the era of personalized medicine. Adv Anat Pathol, volume 17, Numer 1, January 2010.
- 9.- Parsons BL, Myers MB, et al. Personalized cancer treatment and the myth of Kras wild type colon tumors. DiscovMed. Apr, 15, 2013(83) 259-67.
- 10.- Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutation in patients with colorectal cancer: The multicenter "RASCAL" study. J Natl Cancer Inst. 1998, May 6:90(9):675-84.

	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
Obtención de todos los casos	■											
Recopilación de laminillas y bloques de parafina.	■	■										
Revisión de los casos y cortes de los bloques de parafina.			■	■								
Envío a PCR para determinación de K-ras					■	■	■					
Recopilación de resultados.								■				
Concentración de la información.									■			
Análisis estadístico										■		
Conclusiones para revisión											■	

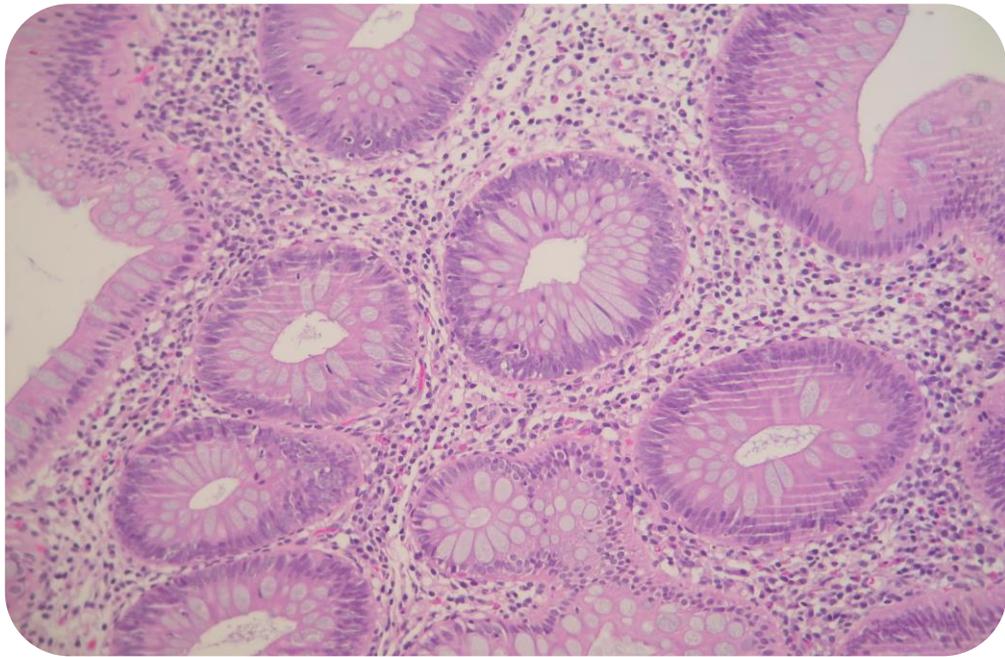


Figura 1.- Adenoma tubular con displasia leve, nótese la distribución basal de los núcleos, así como la ausencia de mitosis.

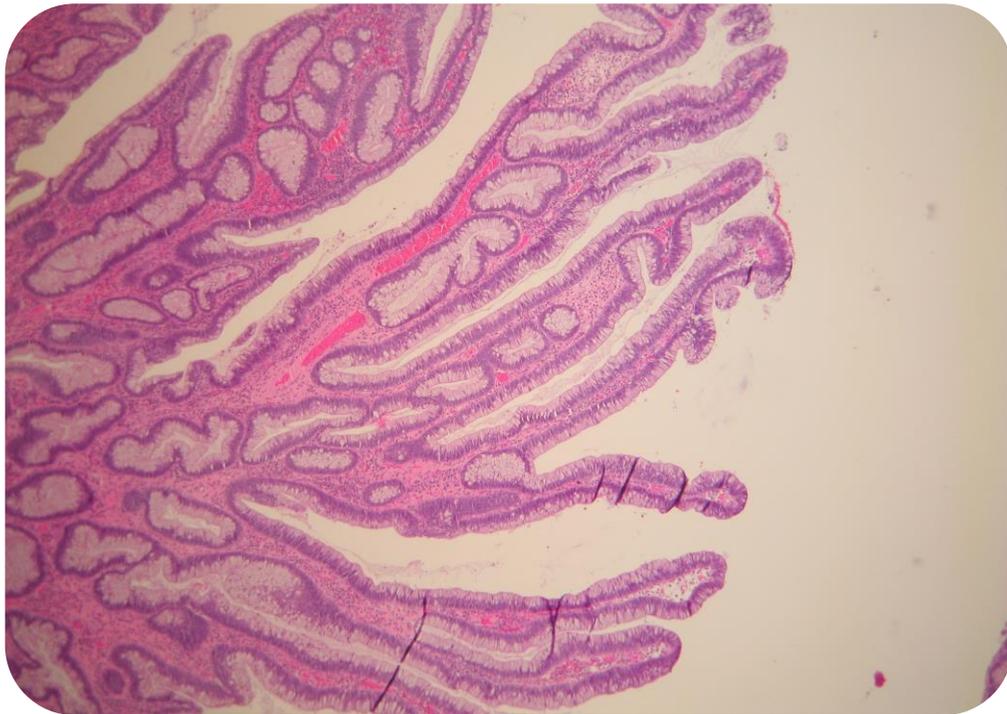


Figura 2.- Adenoma vellosa con prolongaciones digitiformes características.

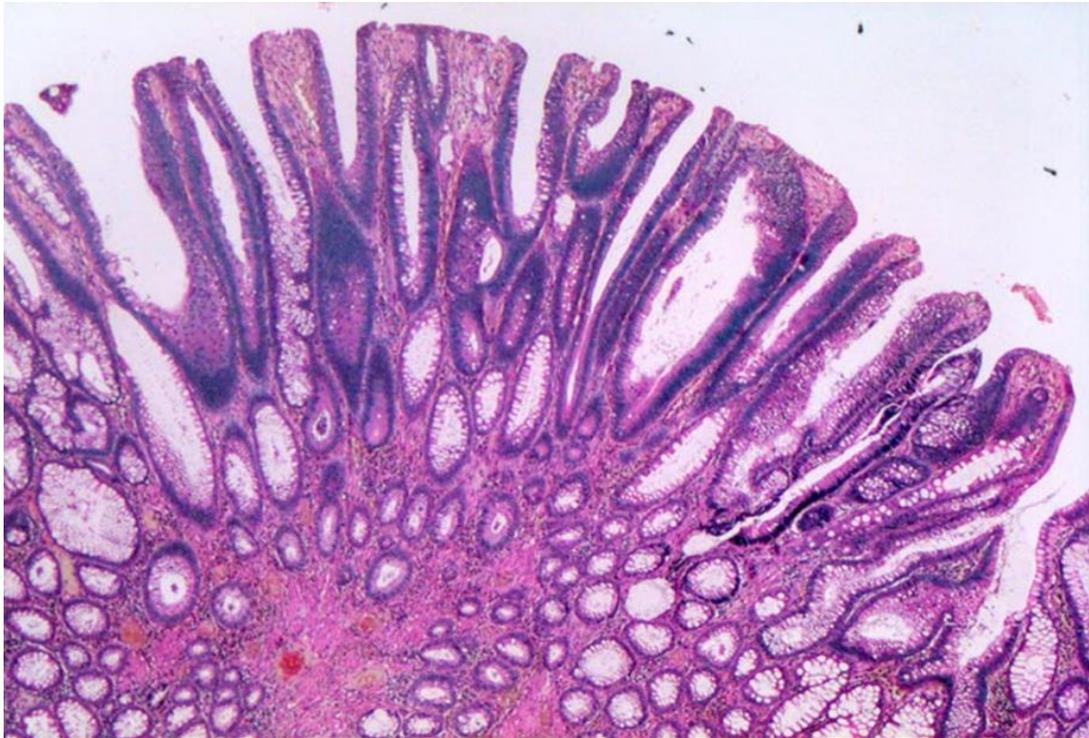


Figura 3.- Adenoma tubulovelloso, con 25% de componente tubular.

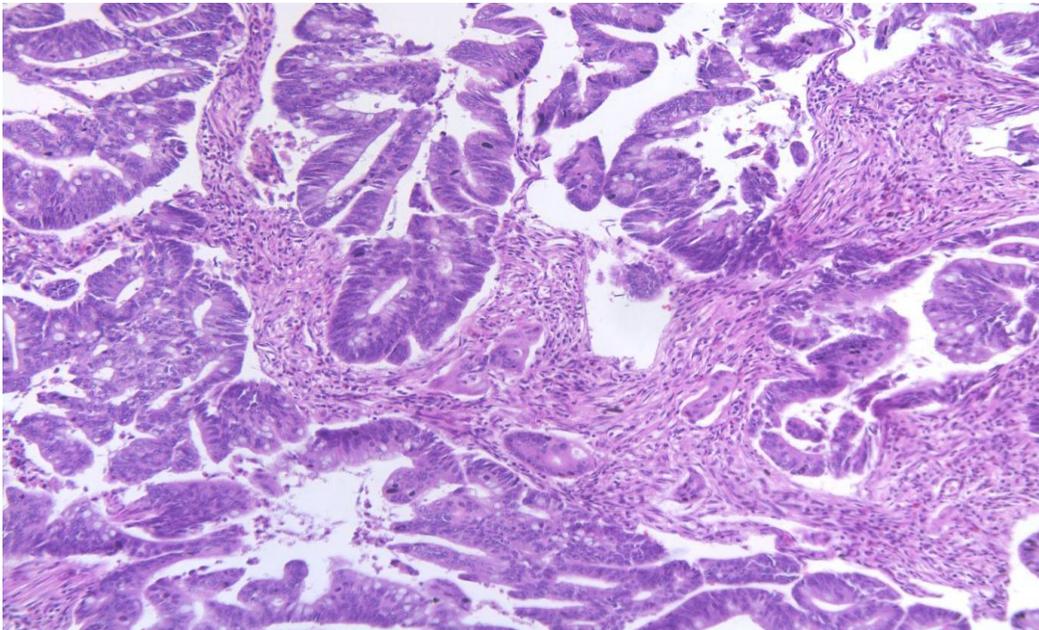


Figura 4.- Adenocarcinoma intestinal invasor moderadamente diferenciado. (Nótese la invasión al estroma y la desmoplasia generada en la periferia a las glándulas neoplásicas.)