



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
CURSO DE ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA ONCOLÓGICA**

**BIOMARCADORES ASOCIADOS A RECAÍDA EN PACIENTES CON  
CÁNCER DE COLON ETAPA I  
EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CANCERLOGÍA  
2010-2015**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
SUBESPECIALISTA EN CIRUGÍA ONCOLÓGICA**

**PRESENTA:**

**DRA. HERMINIA DEL SOCORRO ARVELO SAAVEDRA**

**DRA. ITZEL VELA SARMIENTO**

**TUTOR DE TESIS**

MÉXICO, D.F.

2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**AUTORIZACIÓN DE TESIS**

**BIOMARCADORES ASOCIADOS A RECAÍDA EN PACIENTES CON CÁNCER DE  
COLON ETAPA I  
EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CANCERLOGÍA  
2010 - 2015**

---

**Dra. Itzel Vela Sarmiento  
Tutor de Tesis  
Instituto Nacional de Cancerología**

---

**Dra. Sylvia Verónica Villavicencio Valencia  
Subdirectora de Educación Médica  
Instituto Nacional de Cancerología**

---

**Dra. Herminia del Socorro Arvelo Saavedra  
Médico Residente de Tercer Grado Cirugía Oncológica  
Autor  
Instituto Nacional de Cancerología**

## DEDICATORIA

**"En verdad les digo que si el grano de trigo no cae en tierra y muere, queda él solo; pero si muere, produce mucho fruto.**

**Juan 12:24**

A Dios, el dador y hacedor de vida, por quien soy, tengo y puedo, quien es mi todo y suficiente para vivir, quien me ha formado con el propósito de servir a los demás.

A mis padres, quienes han sido, son y serán mi ejemplo a seguir, por su esfuerzo constante, inagotable paciencia, amor, confianza, tolerancia, esperanza, fortaleza, por todo su apoyo a través de cada paso en mi vida y a mi madre **Dulce María Saavedra**, que aunque me dejaste este año y no estas más en este mundo, sé que estarás a mi lado ese día como lo prometiste, te amo mama. Cada enseñanza de vida, por cada esfuerzo, no tengo más que decir que eres quien me ha hecho estar donde estoy y llevaré conmigo el gran honor de tenerte como mi madre, te amo profundamente.

A mis hermanos y hermanas, por ser un segmento de mi misma vida en quienes me reconozco y he crecido, siempre juntos Miguel, Giovanni, Enrique, Astrid, Sara y Francisco. Astrid gracias por ser mi bastón cuando he caído.

A mis maestros, de quienes he aprendido a través de su ejemplo, no sólo a buscar y atesorar el conocimiento, sino también, a procurar el sentido de humanidad, de empatía, a poner en primer lugar la necesidad de otros, incluso sobre las propias, de quienes

aprendí el valor de dar amor a los demás y siempre hacer lo mejor para dar una mejor calidad de vida a cada uno de mis pacientes.

A mis compañeros, familia adquirida para mí, a quienes llevaré en mis recuerdos, por todos los momentos compartidos, a quienes agradezco por su apoyo incondicional.

Por último, pero no menos importantes, a los pacientes, el motor de esta profesión, el motivo de nuestro esfuerzo y sacrificio a través de tantos años, por quienes estamos dispuestos a darnos en cuerpo y alma, con el fin de recuperar su salud.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Instituto Nacional de Cancerología** por haberme dado la oportunidad de formarme en esta institución

A mi tutoras **Dra. Itzel Vela Sarmiento** por todo su apoyo incondicional por creer en mí y darme la oportunidad de recibir sus conocimientos. **Dra. Erika Betzabé Ruiz García**, quien desde el primer momento ha estado enriqueciendo este proyecto por abrirme las puertas del laboratorio de Medicina Transnacional y hacerme sentir parte de su equipo, Dra. Alette Ortega Gómez quien fue parte esencial en el inicio de este proyecto y hacerme sentir alumna, colega y amiga, a la Dra. Jessica Maldonado Lissete Mendoza también por su apoyo y orientación.

Al laboratorio de Medicina Transnacional y todo el personal quien hace vida profesional en ese lugar, ya que me hicieron sentir en casa y fueron quienes hicieron posible esta investigación.

A todas aquellas personas que contribuyeron en la elaboración y culminación de este trabajo, a mis amigos que siempre estuvieron a mi lado en las buenas y las malas.

## RESUMEN

**Introducción:** El cáncer colorrectal es un problema de salud pública y es una de las neoplasias más frecuentes en el mundo, con el cuarto lugar en incidencia y segundo lugar por mortalidad, Para el 2016 hay un estimado de 95,270 casos nuevos y se estima que 49.190 personas morirán por la misma causa. En México tiene incidencia de 8,651 casos nuevos, lo que representó el 5.8% y con una mortalidad de 4,694 (6.0%) de todas las neoplasias malignas reportadas en el país. los pacientes con mejor supervivencia son aquellos que se presentan en etapa clínica I. a 5 años es de aproximadamente 90% con cirugía como tratamiento único, para estos pacientes las tasas de recidiva local son de 5% o menos y las tasas de recaída distantes son de 10%.

**Objetivo:** Estudiar la población total con diagnóstico de cáncer de colon estadio I desde el año 2010 - 2015. Analizar las características clínicas (histología, datos demográficos generales, factores de riesgo genéticos y asociados a hábitos, complicaciones entre otros y así poder conocer el número de recurrencias y progresión existentes y posteriormente realizar la expresión de SOX9 en todas las muestras tumorales de todos los pacientes con etapa clínica I para con los resultados finales poder correlacionarlos con las características clínicas adversas y las recurrencias de los pacientes en esta etapa clínica

**Método:** Estudio retrospectivo, descriptivo y observacional de análisis uni y multivariable, desarrollado en el Instituto Nacional de Cancerología en colaboración con el laboratorio de medicina transnacional. Se analizó la información de expedientes electrónicos, seleccionando únicamente pacientes con estadio clínico I. donde posteriormente se les realizara el estudio de la proteína SOX9 para correlacionarla con los resultados finales como biomarcador de pronóstico de recurrencia y progresión

**Resultados:** Con 46 pacientes con un 5.34% se encuentran en una etapa I, Un 23.9% de esta población fue sometida a cirugía de urgencia con 11 pacientes, donde la media de edad fue de 63 años con grupos homogéneos, la histología más frecuente es el adenocarcinoma en un 56.5% y un 43.5% de estos casos tienen variantes histológicas. Siendo el lado izquierdo del colon el más afecto con un 63 % y el cáncer de colon hereditario se manifiesta en un 23% de la población, con un 15 % de la población quien presenta hábitos tabáquicos y concomitantemente alcohólicos, con 22% de la población con historia personal de otro cáncer, y sobrepeso, obesidad en un 60% de los casos un 26% de la población con síntomas que no fueron dolor abdominal para inicio de padecimiento actual que va de 4 a 12 meses. Con cirugía electiva un 76.1 % de la población sin diferencias entre márgenes entre una cirugía de urgencia y una cirugía electiva, con total 43.5% con complicaciones postquirúrgicas donde la infección de la herida operatoria se presentó en un 15.2 % mientras que la dehiscencia de la anastomosis fue en un 8.7% y un 2.2 % desencadenó la muerte de un paciente. Presentamos una recurrencia general de 17.4 % por eso que en las próximas semanas se les realizará la expresión de SOX9 a esta población para la correlacionar la recurrencia y progresión de estos pacientes ya previamente estudiados y sacar conclusiones acerca de su utilidad clínica como biomarcador.

**Conclusiones:** El cáncer de colon estadio clínico I tiene una supervivencia global de 95 al 85% en los 5 años de estudio sin embargo la recurrencia y progresión alcanzo un 17% de la totalidad de esta población, es por eso que la importancia de tomar en cuenta la posibilidad de que exista un biomarcador que a nivel molecular pueda predecir la recurrencia o progresión de esta patología toma connotación clínica.

## INDÍCE

Indice .....	7
Datos generales .....	8
Marco teorico.....	9
Cancer de colon.....	9
1.- Introduccion .....	9
1.1 Epidemiologia Mundial.....	9
1.2 Epidemiologia en Mexico .....	10
1.3 Epidemiologia en el Instituto Nacional de Cancerologia .....	10
1.4 Proyecciones de nuevas investigaciones .....	10
1.5 Etapa clinica de colon I.....	12
1.6 Cambios morfologicos en el epitelio colonico .....	12
1.7 Desarrollo del Cancer Colorectal .....	13
1.8 La Inestabilidad Genomica .....	14
1.8.1 Primera Ruta Carcinogenica: Ruta de la inestabilidad cromosomica.....	14
1.8.2 Segunda Ruta Carcinogenica: Ruta de la inestabilidad mocrosatelital .....	15
1.8.3 Tercer Ruta Carcinogenica: Ruta de la Metilacion .....	16
1.9 SOX9 .....	17
1.9.1 Expresion de SOX9 .....	18
1.9.2 La expresion de SOX9 como predictor de recaida en pacientes EC II en cancer de colon .....	19
2.- Planteamiento del problema.....	21
3.- Justificacion.....	22
4.- Pregunta de investigacion .....	24
5.- Objetivos .....	25
5.1 Objetivo General .....	25
5.2 Objetivos Espeificos.....	25
6.- Metodo .....	26
6.1 Diseño de Estudio.....	26
6.2 Ubicacion en Espacio Temporal .....	28
6.3 Poblacion en Estudio .....	29
6.4 Criterios de Inclusion .....	30
6.5 Criterios de Exclusion .....	30
6.6 Criterios de Eliminacion .....	30
6.7 Elaboracion de Ficha de datos.....	31
6.8 Procedimiento de Laboratorio.....	32
6.8.1 Histopatologia. ....	32
6.8.2 Establecimieto de criterios oncologicos.....	32
6.8.3 Tejido Tumoral .....	33
6.8.4 Inmunohistoquimica .....	33
6.8.5 Analisis de Inmunohistoquimica .....	36
6.9 Estandarizacion de Criterios .....	37
6.10 Consideraciones Eticas .....	37
7.- Resultados .....	41
8.- Discusion .....	50
9.- Conclusiones .....	53
10.-Referencias Bibliograficas .....	54
11.-Anexos .....	56

## **DATOS GENERALES**

### **Investigador General:**

Dra. Herminia del Socorro Arvelo Saavedra. Residente 3er año de la Subespecialidad de Cirugía Oncológica en el Instituto Nacional de Cancerología México.

### **Título:**

Biomarcadores asociados a recaída en pacientes con cáncer de colon etapa I revisión de 5 años en el Instituto Nacional de Cancerología México.

### **Tipo de investigación:**

Clínica / Investigación.

### **Origen:**

Interno

### **Duración del proyecto:**

Inicio 1 de Julio 2015. Termino Julio 2016

### **Colaboradores:**

Dra. Itzel Vela Sarmiento. Cirujano Oncólogo Adscrito de la unidad de Gastrocirugia de Instituto Nacional de Cancerología.

Dra. Erika Betzabé Ruiz García. Oncólogo Médico Adscrito de la unidad de Gastrocirugia de Instituto Nacional de Cancerología y jefe de la Unidad de Medicina Transnacional.

Dra. Alette Ortega Gómez. Médico especialista, Doctora en Ciencias Adscrito de la Unidad de Medicina Transnacional.

## MARCO TEÓRICO

### CÁNCER DE COLON

#### 1.- INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es un problema de salud pública ya que es una de las neoplasias más frecuentes en el mundo. Existen diferencias que influyen en el desarrollo del cáncer colorrectal, por la exposición a distintos factores de riesgo, presentación y sintomatología que nos dan la oportunidad de ofrecer un diagnóstico temprano y por consiguiente la extirpación quirúrgica cuando la curación es factible, por lo que es indispensable realizar mayor investigación para prevenir y detectar tempranamente esta neoplasia.

##### 1.1 Epidemiología Mundial

Para 2016, se proyectan 1, 685,210 nuevos casos de cáncer y 595,690 muertes por cáncer en los Estados Unidos. El cáncer colorrectal ocupa el cuarto lugar en incidencia y el segundo lugar por mortalidad en los Estados Unidos y a nivel mundial. Para el 2016 hay un estimado de 95,270 casos nuevos de cáncer de colon y durante el mismo año se estima que 49.190 personas morirán por la misma causa por datos del globocan.<sup>1</sup> Debido a su alta incidencia y morbi-mortalidad, el cáncer de colon es considerado un problema de salud pública a nivel mundial.<sup>2-3</sup>

## 1.2 Epidemiología en México.

En México, con una población un poco mayor a los 150 millones de habitantes, el registro del cáncer se hace a través del Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM) de acuerdo con esta información el cáncer colorrectal para el año 2012 tiene incidencia de 8,651 casos nuevos, lo que representó el 5.8% y con una mortalidad de 4,694 (6.0%) de todas las neoplasias malignas reportadas en el país.<sup>4</sup>

## 1.3 Epidemiología en el Instituto Nacional de Cancerología.

El Instituto Nacional de Cancerología de México, es un centro de referencia para pacientes con diagnóstico de cáncer, siendo atendido en el registro de estadística un total de 1,186 pacientes con cáncer colorrectal, lo que representó el 4.4% de la consulta del periodo que comprendió del 2000 al 2006.<sup>5</sup> En el periodo del 2010 – 2015 se ingresaron 860 pacientes al instituto con diagnóstico de cáncer de colon.

## 1.4 Proyecciones de nuevas investigaciones.

Las tasas de incidencia de cáncer de colon y de recto en pacientes jóvenes están aumentando en los últimos 10 años. Ya que esta patología se presenta más comúnmente en pacientes mayores de 50 años. Al ritmo actual, la tasa de incidencia de pacientes jóvenes con cáncer de colon y recto se duplicará para el año 2030, mientras que esta disminuirá en un tercio de los pacientes mayores de 50 años de edad. Para el año 2030, el 10,9% de todo el cáncer de colon y el 22,9% de todos los cánceres rectales serán diagnosticados en pacientes jóvenes en comparación con el 4,8% y 9,5%, respectivamente, en 2010.<sup>6</sup>

Muchos de estos pacientes son tratados inicialmente con cirugía ya sea planificada o de urgencia, y los pacientes con mejor supervivencia son aquellos que se presentan en etapa clínica I. La supervivencia esperada a 5 años es de aproximadamente 90% con cirugía como tratamiento único, para estos pacientes las tasas de recidiva local son de 5% o menos y las tasas de recaída distantes son de 10%. En estos pacientes el tratamiento adyuvante rara vez se recomienda después de la resección por su baja recurrencia y su alto porcentaje de curación.<sup>7</sup> En la búsqueda de características que nos encaminen a un mejor tratamiento del paciente y prevención de las recurrencias buscamos características clínicas que nos den más información para optimizar a este porcentaje de población en etapa clínica I.

Sin embargo, dentro de los datos importantes para el manejo del cáncer de colon, no hay un biomarcador óptimo para identificar pacientes con alto riesgo de recaída o como predictor para beneficio de tratamiento adicional. Se han desarrollado directrices sobre todo para los estudios que evalúan un único marcador tumoral de interés, incluyendo el ajuste de las variables pronósticas clínicas estándar, La elaboración de directrices para la presentación de informes de estudios con marcadores tumorales fue una de las principales recomendaciones de la Organización Europea del Cáncer Instituto-Nacional para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (NCI-EORTC). En este documento, se definió como marcador pronóstico, aquel que tenga una asociación con algún estadístico clínico como la supervivencia global o la supervivencia libre de recidiva, que pueden ser utilizados para tomar decisiones y determinar si un paciente debe recibir quimioterapia adyuvante u otro tratamiento como radioterapia.<sup>8</sup>

### 1.5 Etapa Clínica I de Cáncer de Colon.

El estadiaje del cáncer de colon se divide en etapas clínicas que son el resultado de transformación maligna del epitelio normal del colon y esta depende de la profundidad de la invasión del tumor primario, dentro y fuera de la pared intestinal, y de la presencia o ausencia de metástasis a nivel de los ganglios linfáticos y metástasis a distancia (TNM).

**Cuadro 1.** El cáncer de colon etapa I se define como:

.- T1: El tumor invade la submucosa
.- T2: El tumor invade la capa muscular propia
.- N0: Sin ganglios linfáticos positivos
.-M0: Sin metástasis a distancia.

### 1.6 Cambios morfológicos en el epitelio colonico.

El intestino grueso se divide en cuatro capas anatómicas distintas. El revestimiento luminal interior es una capa única de células epiteliales con invaginaciones que se encuentran en el tejido conjuntivo de la submucosa para formar la unidad funcional del intestino, denominada cripta de Lieberkuhn. Cada cripta contiene alrededor de 2,000 células y se compone de tres principales linajes diferenciados: Los enterocitos, las células caliciformes y las células endocrinas que residen en el tercio superior de la cripta, y en las células de Paneth.<sup>9</sup> La diferenciación terminal de las células de Paneth, que se realiza por proteínas P11 a P14 que realizan cambios moleculares, en la señalización de Wnt a través del receptor Wnt- Frizzle. El evento esencial en la cascada de señalización Wnt es la acumulación y la translocación nuclear de  $\beta$ -catenina, que a su vez interactúa con los miembros de la familia de factores de transcripción Lef/Tcf para activar genes

diana. Uno de los genes diana de Wnt/Tcf4 en el intestino es SOX9, que se expresa en las criptas intestinales. El gen SOX9 es un miembro de la familia transcripcional de SOX y como tal presenta un dominio SRY de unión al ADN. En particular, SOX9 juega un papel fundamental en una serie de procesos de desarrollo y su expresión transcripcional es requerida para la embriogénesis normal, del cual hablaremos más adelante.<sup>10</sup>

Las células colonicas se encuentran en un proceso continuo de proliferación celular, ya que constantemente se recambian en el lumen cuando se convierten en senescentes. La tasa de reemplazo del epitelio intestinal (5 días) esta mediado por el microambiente.<sup>18</sup> Este ambiente conduce cambios morfológicos que ocurren como consecuencia de sucesión de alteraciones genéticas o epigenéticas en genes supresores tumorales y proto-oncogenes.

#### 1.7 Desarrollo del cáncer colorrectal.

El cáncer colorrectal avanza a través de una serie de etapas clínicas e histopatológicas de las lesiones que van de las criptas individuales a través de pequeños tumores benignos (pólipos adenomatosos) a cánceres malignos (adenocarcinomas), Las mutaciones presentes principalmente en las vías RAS/RAF y de p53 conducen a la progresión del tumor hacia la malignidad y metástasis. Dos tipos de inestabilidad genética han sido identificados en el cáncer colorrectal por deficiencia de los mecanismos de reparación generados por la enzima polimerasa II la cual conduce a la inestabilidad microsateletal de nucleótidos; mientras que el segundo está asociado a la pérdida o ganancia de cromosomas enteros o fragmentos de los mismos durante la división celular. Esto está influenciado a través mutaciones somáticas o germinales.<sup>12</sup>

En los últimos años se han descrito un nuevo proceso de inestabilidad genómica que caracteriza a una tercera ruta carcinogénica. En esta ruta la inestabilidad genómica se produce por modificaciones epigenéticas de la secuencia de DNA.<sup>13</sup>

## 1.8 La inestabilidad genómica

La pérdida de la estabilidad genómica puede conducir al desarrollo de cáncer colorrectal, facilitando la adquisición de múltiples mutaciones que se traducen en la aparición de tumores por el proceso de división celular. En esta enfermedad, la inestabilidad genómica toma varias formas, cada uno con una causa diferente, entre las que describimos las siguientes:

### 1.8.1 Primera Ruta carcinogénica: Ruta de la inestabilidad cromosómica:

En aproximadamente el 70 y 85% de los casos de cáncer colorrectal son esporádicos, se desarrollan mediante el modelo genético descrito 1990 por Fearon y Vogelstein, quienes presentaron evidencia de un modelo con múltiples etapas por cambios a nivel del epitelio colónico hasta llegar a presentarse a este nivel una lesión macroscópica de crecimiento descontrolado y con la capacidad metastásica, basado en que el cáncer colorrectal es el resultado de mutaciones en genes clave.<sup>14,15</sup> La inestabilidad cromosómica es un mecanismo eficaz para causar la pérdida física de una copia de genes supresores de tumores, tales como APC, p53, y SMAD4, cuya actividad normal es de oponerse a la del fenotipo maligno.<sup>16,17</sup> Ejemplos de la actividad de estos genes son: KRAS y SOX9, que presentan mutaciones puntuales, activan de manera constitutiva la actividad de la proteína G trimétrica. El KRAS promueve la activación a

través de su acoplamiento directo con la región fosforilable (tirosinas) de los receptores de factores de crecimiento. El SOX9 activa constitutivamente a los receptores de crecimiento a través de la interacción con los MEFs (Células Embrionarias Pluripotenciales) y en ambos casos, aumentan los niveles de transcripción de los ARNm. Por otro lado, la pérdida de los locus del gen p53 induce a la regulación negativa de la CDKN2A modificando la actividad del ciclo celular que lleva al desarrollo oncogénico. De manera específica, la interacción SOX9/CDKN2A genera un aumento de su expresión de manera progresiva conforme al grado de malignidad.

#### 1.8.2 Segunda Ruta Carcinogénica: Ruta de la inestabilidad microsatélital:

En el 15% de los pacientes con cáncer de colon esporádico, existe una falla del sistema de reparación del ADN por la inactivación de los genes necesarios para la revisión y compensación de apareamientos erróneos de bases denominados genes reparadores. Asimismo, las funciones MUTYH como una ADN glicosilasa en la reparación por escisión de adeninas mal incorporados marcadas con 8-oxo-7,8-dihidro-2-desoxiguanosina, como producto del daño oxidativo del ADN es importante dentro de los mecanismos de reparación.<sup>15</sup>

Estos mecanismos de reparación pueden ser heredados, como en el cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC), también conocido como el síndrome de Lynch, o adquirido, como en los tumores con el silenciamiento de la metilación asociada de un gen que codifica una proteína de ADN reparador.<sup>15</sup>

En los pacientes con HNPCC, defectos de la línea germinal en los genes reparadores MLH1 y MSH2 confieren un riesgo de desarrollar tumores a los 45 años en

un 80% de los casos. La pérdida de la función reparadora en estos pacientes se debe también a la inactivación somática del alelo parental. Los Genes supresores de tumores, tales como los que codifican el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF-beta) y del receptor de tipo II (TGFB2) y la proteína X BCL2-asociado BAX tienen regiones funcionales con secuencias de dinucleótido que pueden ser inactivados.<sup>15 16</sup>

### 1.8.3 Tercer Ruta Carcinogénica: Ruta de la metilación:

El silenciamiento epigenético es principalmente mediado por la metilación del ADN aberrante, La metilación consiste en unir un grupo metilo al carbono 5 (5-metilcitosina) de las citosinas presentes en el ADN dentro de los dinucleótidos CpG de secuencias repetitivas de ADN conocidas como promotores del gen e introducido por la metiltransferasa sin embargo, esto también puede ocurrir en regiones codificantes (exones) y no codificantes (intrones). En el genoma de cáncer colorrectal, la mayor proporción de metilación se genera dentro de la isla CpG del promotor. Esta metilación aberrante está asociada con el silenciamiento que regula la expresión génica.<sup>15,17</sup> Mediante una técnica de secuenciación genómica de bisulfito y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) específica de metilación en células de cáncer de vejiga se utilizó como promotor de hipermetilación de SOX9 que se encuentra con frecuencia en los tumores de vejiga, y la metilación del SOX9 se asoció con el grado del tumor y la supervivencia global de los pacientes con cáncer de vejiga. La presencia de SOX9 hipermetilado se asoció con la supervivencia global, lo que confirma su papel potencial como marcador pronóstico en el manejo clínico de los pacientes afectados con tumores uroteliales y la inactivación por hipermetilación de SOX9, está asociado con mal pronóstico. La falta de expresión puede ser provocada por mutaciones promotoras de hipermetilación. De hecho, SOX9 se ha

informado como promotor de hipermetilación y la pérdida de expresión con la progresión del cáncer de vejiga. Por lo tanto una expresión baja o no detectable de SOX9 se ha asociado un mayor riesgo de recaída, y una expresión mayor del SOX9, con menor riesgo de recaída, se podría tomar como un gen supresor de tumores.<sup>19</sup>

## 1.9 SOX9

La proteína SOX9 es codificada por el gen de mismo nombre ubicado en el cromosoma 17q24. Es un factor de transcripción de alta movilidad, y su actividad es necesaria para el desarrollo, la diferenciación y el compromiso de linaje en diversos tejidos, incluyendo el epitelio intestinal, que se sobre-expresa en una amplia variedad de cánceres humanos, donde su expresión se correlaciona con carácter maligno y progresión. SOX9 [región determinante del sexo Y (SRY) proteína-box 9] es un miembro de la familia de factores de transcripción SOX. Estos son reguladores de desarrollo que poseen dominios de movilidad (HMG) en la unión del ADN, así como otras características, tales como dominios de transactivación. En particular, SOX9 juega un papel fundamental en una serie de procesos de desarrollo y sus niveles necesitan ser controlados estrictamente para la embriogénesis normal. La duplicación de gen SOX9 o su expresión errónea y deliberada se han relacionado con el cambio de sexo masculino XX y los trastornos relacionados con fibrosis.<sup>20</sup> Otros análisis han demostrado que SOX9 es crucial para la diferenciación de células de Sertoli, en la condrogénesis, el desarrollo de la cresta neural, así como, para el desarrollo de determinados tipos de células y linajes dentro del sistema nervioso central, páncreas, intestino, próstata, piel, pituitaria, corazón, riñón, sistemas sensoriales y a nivel de colon actuando en particular en los genes que constituyen la vía de señalización Wnt son esenciales para el mantenimiento de células

progenitoras indiferenciadas en las criptas y para el mantenimiento de las células de Paneth, Las Mutaciones Wnt se encuentran a menudo en los cánceres colorrectales, con frecuencia dirigidos a los supresores de tumores APC o AXIN2 o el oncogén  $\beta$ -catenina.<sup>21</sup>

### 1.9.1 Expresión del SOX9

La primera ocasión que se evaluaron los niveles de SOX9 por inmunohistoquímica fue en un panel multitumoral donde se colocaron todos los cánceres humanos derivados de una amplia gama de tejidos. Se observó intensa expresión de la proteína SOX9 en todos los tipos de cáncer, con la excepción de los linfomas. Los resultados se clasificaron en las muestras tumorales estudiadas, como: altamente positivas (cáncer del SNC, páncreas, colorrectal, pulmón y próstata), medianamente positivas (sarcomas, tiroides y mama), y escasamente positivas (cánceres renales). La tinción se observa generalmente en el núcleo con diferentes intensidades entre las células.<sup>22</sup>

Para caracterizar mejor la expresión del SOX9 en el cáncer humano, se decidió centrar la atención en los cánceres colorrectales. Los estudios mostraron niveles significativamente más altos de SOX9 en adenocarcinomas invasivos que en comparación del tejido de colon normal ( $p = 0,0001$ ). La frecuencia de SOX9 con sobreexpresión en adenocarcinoma era equivalente a los niveles de proteína y ARNm que reflejan el aumento de la transcripción. Siendo altamente expresado en líneas celulares de cáncer colorrectal humano, con niveles que van desde 1,5 hasta 30 veces más alta que en la mucosa colonica normal.<sup>22</sup> En particular, cuando se emplean anticuerpos para SOX9 se observa en el tejido ganglionar un incremento notablemente mayor en el ganglio linfático metastásico (SW620) que en el tejido tumoral primario

(SW480) con 2 líneas celulares establecidas a partir de la metástasis de los ganglios linfáticos y de su adenocarcinoma de colon primario, respectivamente, del mismo paciente, apoyando aún más el papel de SOX9 en el tumor progresión y malignidad en los cánceres colorrectales.<sup>24</sup>

### 1.9.2 La expresión de SOX9 como predictor de recaída en pacientes EC II en cáncer de colon

Del año 2005 – 2008 se realizó el primer estudio donde se investigó la expresión de la proteína SOX9 como un biomarcador potencial de recaídas en pacientes con cáncer de colon estadio clínico II.<sup>24,25</sup> Encontrando una baja expresión de SOX9 en los tumores invasivos primarios de colon, lo que asoció significativamente con la recaída, lo que se evidencio realizando la amplificación de la región cromosómica 17q24.3, que contiene SOX9 correlacionándolo con la transición de cáncer colorrectal primario a metástasico.<sup>26</sup>

El cáncer de colon y recto tienen patrones similares en su alteración genómica. En estos tumores, se han encontrado varios genes mutados de manera significativa como son APC, TP53, SMAD4, PIK3CA y KRAS y otras mutaciones frecuentes como son ARID1A, FAM123B y SOX9.<sup>27</sup> La deficiencia en la expresión de SOX9 por inmunohistoquímica muestra una morfología aberrante del epitelio colonico, así como disminución del linaje de las células caliciformes en el colon. Con estos resultados se concluye que se requiere de SOX9 para mantener las condiciones normales de las células de Paneth y las caliciformes. En conclusión, la baja expresión de la proteína SOX9 en cáncer de colon en estadio II predice un alto riesgo de recaída y la alta expresión de SOX9 predice bajo riesgo de recaída. De esta manera, SOX9 se sugiere como un

biomarcador útil, para la predicción de la recaída y para el tratamiento personalizado del cáncer de colon.

El nivel de expresión del SOX9 no se ha asociado con otros factores clínico-patológicos tales como: edad, hábitos, sexo, estado funcional, grado de diferenciación.<sup>25</sup> Clínicamente los pacientes en estadio I son tratados con cirugía y esto genera un 90% de curación. Sin embargo, existe un 5 a un 10 % de recurrencia tanto local como a distancia en estos pacientes. Es por ello que el objetivo de este trabajo es evaluar la expresión de SOX9 en estadio clínico de cáncer de colon I y asociarlo clínicamente con recurrencia y otros parámetros clínicos para utilizarlo como biomarcador pronóstico de pacientes que sean candidatos a algún otro tratamiento adicional.

## **2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El cáncer colorrectal es un problema importante de salud pública, en frecuencia, el cuarto cáncer más diagnosticado y es la segunda causa de muerte en el mundo, un número de observaciones sugieren que la proteína SOX9 podría tener un papel crítico en la homeostasis de epitelio colónico. La sobreexpresión de SOX9 en cáncer colorrectal humano fue equivalente a la actividad transcripcional del gen, lo que reditúa en el aumento de los niveles del ARNm y a la expresión de su proteína. Todo este mecanismo molecular asociado a regulación de la expresión del gen SOX9 está directamente relacionado con la progresión tumoral en este tipo de cáncer, lo que apoya el uso de SOX9 como un potencial marcador de pronóstico en el cáncer colorrectal ya que los altos niveles de SOX9 de los tumores primarios de colon en estadio II predicen un bajo riesgo de recaída, mientras que los niveles bajos de SOX9 predicen un alto riesgo de recaída. SOX9 y al comprobarse su utilidad como biomarcador en la evaluación de riesgo de recaída se podría instaurar un tratamiento personalizado.

Esta investigación se realiza con el fin de estudiar la población de pacientes con cáncer de colon estadio clínico I, así como sus características clínicas, complicaciones y ver en el seguimiento de aquellos pacientes que su tratamiento se basa solo en la cirugía la tasa de recurrencia y poder investigar si la expresión de la proteína SOX9, en los tejidos tumorales puede ser un biomarcador de pronóstico de recurrencia.

### 3.- JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de cáncer de colon depende de la etapa clínica, factores pronósticos y características propias de cada paciente. Éste debe ser multidisciplinario y comprende intervención quirúrgica, en algunos casos radioterapia y muchas veces quimioterapia.

En pacientes con cáncer de colon en etapa clínica I, la determinación de SOX9 como factor predictor de recurrencia, no ha sido estudiada, y esta puede ser una herramienta útil para selección de pacientes candidatos a recibir tratamiento con quimioterapia adyuvante u otro tratamiento adicional.

Ya se ha estudiado en la actualidad que los altos niveles de SOX9 de los tumores primarios de colon en estadio II predicen un bajo riesgo de recaída, mientras que los niveles bajos de SOX9 predicen un alto riesgo de recaída. SOX9 puede tener un valor importante como biomarcador en la evaluación de riesgo de recaída para el tratamiento personalizado.<sup>18</sup>

En la actualidad, en el instituto nacional de cancerología en México contamos con la herramienta para la realización de la determinación de la proteína SOX9.

Por lo que tomaremos a la población con cáncer de colon estadio I por TNM. Ya que la expresión SOX9 se correlaciona con la progresión tumoral en este tipo de cáncer pero en estadio clínico II y los resultados apoyan el uso de SOX9 como un potencial marcador de pronóstico en el cáncer colorrectal,<sup>20</sup> por lo que proyectaremos dicha investigación en etapa clínica I del cáncer colon como biomarcador del tumor después de una cirugía curativa lo que nos dará más información acerca de las recurrencias en estos pacientes, revisaremos las características de la población con diagnóstico de cáncer de colon, los cuales fueron operados, quienes continuaron en seguimiento y estudiaremos factores de mal pronóstico de esta población, casos con recurrencias y progresión. Con el estudio de

la pieza tumoral, en bloques de parafina, buscamos la expresión de SOX9 por inmunohistoquímica para al final correlacionar datos y sacar nuestras conclusiones. Es por ello que el objetivo de este trabajo es evaluar la expresión de SOX9 en estadio clínico de cáncer de colon I y asociarlo clínicamente con recurrencia y otros parámetros clínicos para utilizarlo como biomarcador pronóstico de pacientes que sean candidatos a algún otro tratamiento adicional.

#### **4.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Se sobreexpresa la proteína SOX9 en pacientes con etapa clínica I de cáncer de colón que tengan recurrencia, y esta proteína, se podría utilizar en la clínica como un biomarcador?

## **5.- OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la población total con diagnóstico de cáncer de colon estadio I desde el año 2010 - 2015. Analizar las características clínicas (histología, datos demográficos generales, factores de riesgo genéticos y asociados a hábitos, complicaciones entre otros y así poder conocer el número de recurrencias y progresión existentes y posteriormente realizar la expresión de SOX9 en todas las muestras tumorales de todos los pacientes con etapa clínica I para con los resultados finales poder correlacionarlos con las características clínicas adversas y las recurrencias de los pacientes en esta etapa clínica I.

### **5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la proteína SOX9 en la población estudiada y los niveles de expresión de la misma, en el Instituto Nacional de Cancerología para el periodo 2010 -2015
- Determinar características clínicas de pacientes con cáncer de colon estadio clínico I, tanto demográficas como clínicas entre la más importante la tasa de recurrencia y complicaciones secundarias al procedimiento quirúrgico del cáncer de colon en estadio clínico I.
- Correlacionar la expresión de SOX9 con las características clínicas y establecer la asociación de la expresión de SOX9 y las características clínico patológicas.

## **6.- METODO**

### **6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio retrospectivo, descriptivo y observacional de análisis uni y multivariable, desarrollado en el Instituto Nacional de Cancerología en colaboración con el laboratorio de medicina transnacional

**Por el área de estudio:** Clínico / Investigativo

**Por el diseño:** Descriptivo y Observacional.

**Por la maniobra de intervención:** No experimental

**Por seguimiento en temporalidad:** Retrospectivo

**Por tipo de recolección de datos:** Retrolectivo

Una vez capturados los datos se realizó un análisis exploratorio de los mismos consistente en la obtención de medidas de resumen y gráficos de cada conjunto de datos, con la finalidad de identificar errores en su captura, como valores atípicos, extremos y perdidos.

Se realizó un análisis univariado y con fines descriptivos, los resultados son representados tablas de contingencia. Los datos se analizaron con medidas de tendencia central y de dispersión para cada variable, por cada uno de los grupos analizados. Para las variables categóricas utilizadas se construyeron tablas de contingencia y se realizó, en donde es aplicable, la prueba de chi cuadrado con el objeto de identificar dependencia entre variables. La significancia estadística se determinó como un valor de p menor a 0.05. Las variables que resultaron significativas en el análisis de regresión fueron

expresadas como razón de riesgos con intervalos de confianza. La captura de los datos fue realizada en el programa informático Microsoft Excel versión 2011 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA). El análisis de los datos se realizó en el programa informático SPSS versión 20 (IBM Corporation, New York, New York, EUA). Para medir supervivencia global se utilizó las gráficas de Kaplan y Meier.

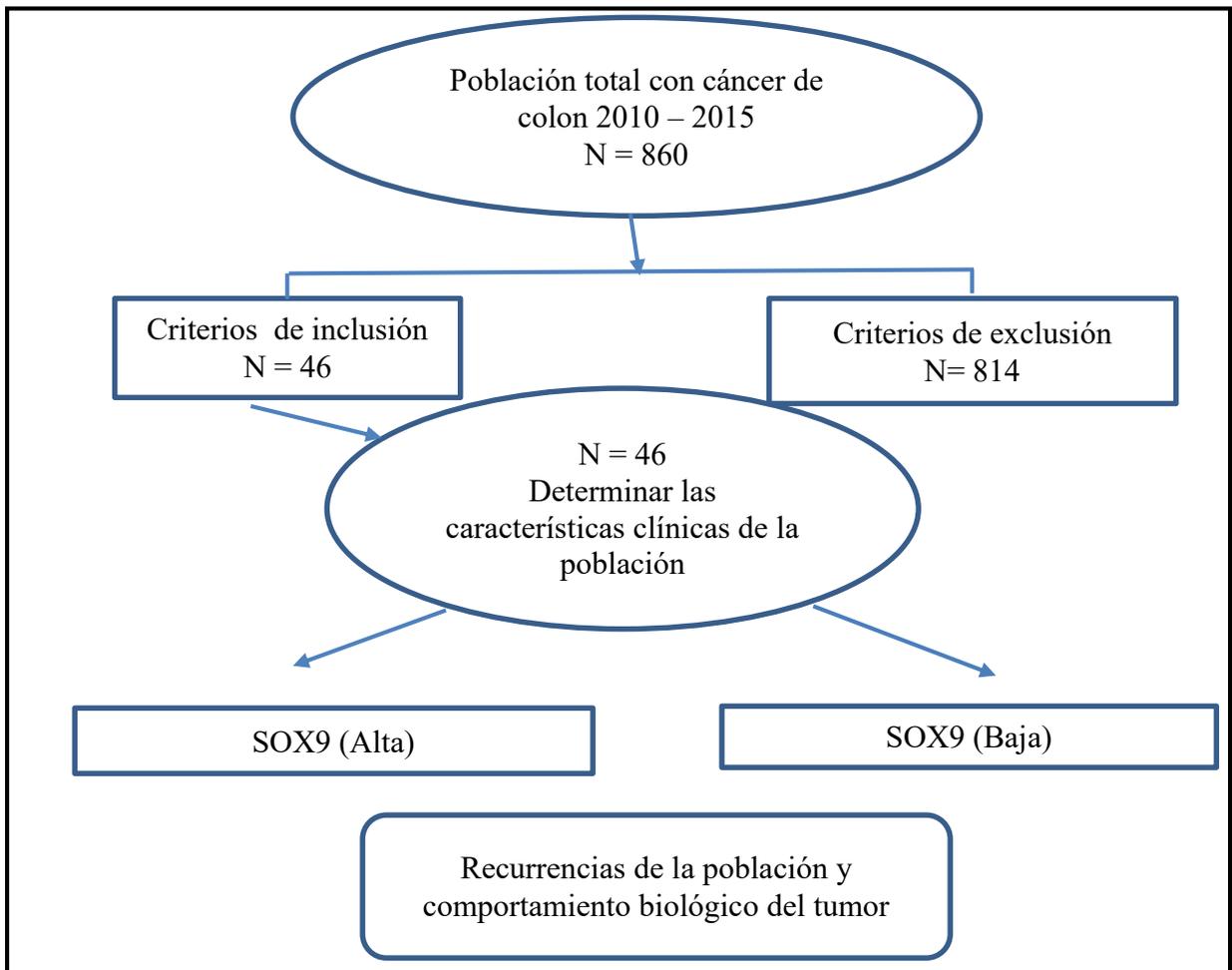
## **6.2 UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL**

Instituto Nacional de Cancerología localizado en la Ciudad de México, durante el periodo de Enero de 2010 a Diciembre de 2015 donde se revisaron todos los expedientes electrónicos y las piezas histopatológicas de todos los pacientes ingresados y operados por cáncer de colon etapa clínica I en el Servicio de Gastrocirugía y donde se realiza la determinación y expresión de la proteína SOX9 Laboratorio de Medicina Trasnacional.

### 6.3 POBLACION DE ESTUDIO

Se analizó la información obtenida de expedientes electrónicos, de todos los pacientes con diagnóstico de cáncer de colon en el Instituto Nacional de Cancerología desde Enero de 2010 hasta Diciembre 2015, seleccionando únicamente pacientes con estadio clínico I.

**Diagrama 1.** Diseño del estudio



#### **6.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes tratados con diagnóstico de Cáncer de colon en etapa clínica I con un seguimiento mayor a seis meses después de la cirugía curativa de Enero del 2010 a Diciembre del 2015, estos fueron llevados de inicio a cirugía radical, estudiando los diferentes datos como por ejemplo histología y sus variantes, complicaciones, periodo libre de enfermedad y recurrencias.

#### **6.5 CRITERIOS DE EXCLUSION**

- Pacientes con que no tuvieron seguimiento.
- Pacientes con quimioterapia neoadyuvante.
- Pacientes que fallecieron antes de la cirugía.

#### **6.6 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- Se eliminaron todos aquellos pacientes con expedientes clínicos incompletos.

## 6.7 ELABORACION DE FICHAS DE DATOS

Se incluyeron las siguientes variables para el análisis clínico y de seguimiento y supervivencia de los pacientes, para lo que se realizó el registro por medio de una ficha de datos que se dividió en 4 secciones; la primera consistió en la información demográfica y de tiempo (edad, sexo, fechas de ingreso a la institución, meses de padecimiento actual, fecha de la primera sesión en la unidad funcional y fecha de la cirugía y fecha de la última consulta o muerte.) la segunda incluyo datos clínicos y antecedentes de importancia (cáncer de colon familiar, cáncer de colon hereditario y antecedentes familiares de otros canceres, antecedente de consumo de tabaco, alcohol y marihuana, enfermedades concomitantes, clínicos como localización del tumor, síntomas iniciales, índice de masa corporal, ECOG, complicaciones asociadas a la cirugía por la escala de clavier dindo, datos paraclínicos, recaída, progresión y estatus de la última consulta.) la tercera parte, incorporo características histopatológicas de la pieza quirúrgica (Histología, estado de los márgenes, profundidad de la lesión y presencia de metástasis a nivel de los ganglios linfáticos, grado histológico, infiltración linfovascular y perineural, numero de ganglios resecados.) y por último se realizara en un segundo tiempo la expresión de SOX9 en las muestras tumorales.

## **6.8 PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO**

### 6.8.1 Histopatología

Se colectaron todos los casos de pacientes con diagnóstico de cáncer de colon estadio clínico I que fueron ingresados al Instituto Nacional de Cancerología en el periodo de Enero del año 2010 – hasta Diciembre del año 2015 con una cirugía radical curativa. Se revisaron las laminillas y bloques de parafina disponibles para corroborar los criterios histopatológicos de interés, a través de los archivos clínicos (historial médico y estudios de extensión) se obtuvo los datos demográficos y clínicos disponibles, tales como: el seguimiento postquirúrgico y complicaciones, datos demográficos y clínicos disponibles, para determinar la homogeneidad de la muestra y la etapificación de los pacientes en estudio.

### 6.8.2 Establecimiento de criterios histológicos

Los bloques de parafina seleccionados fueron procesados en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología obteniéndose cortes 4 - 5  $\mu\text{m}$  de grosor de cada uno los cuáles fueron colocados en portaobjetos de vidrio. Se utilizaron laminillas (numero de 3) fueron empleadas para teñirla con hematoxilina-eosina para identificar la características histopatológicas. Otras laminillas (numero de 2) se emplearan para el análisis de expresión de la proteína SOX9 y controles técnicos de la inmunohistoquímica.

### 6.8.3 Tejido tumoral

El tejido tumoral se procesa de rutina después de la cirugía curativa. El tejido se fija en formalina neutra al 10% durante 48 h antes de ser incluida en parafina. Se obtienen varios bloques por paciente con el tumor primario de colon estadio I. Los tejidos se seleccionan y se colocan en laminillas de vidrio como parte del análisis patológico dentro del hospital. Para ello, se tiñen los tejidos con hematoxilina- eosina para evaluar la presencia y número de células tumorales (>70%).

### 6.8.4 Inmunohistoquímica

Pasos de los procedimientos:

a.- Desparafinación y rehidratación de los tejidos.

Las muestras del tejido de cáncer de colon estadio I en laminillas se incuban por 20-30 min en el horno a 50-60°C. Posteriormente, se lavan en xilol y alcohol por 30 segundos para finalmente, lavarlas en agua destilada, sin dejarlas secar.

b.- Reactivación de sitios antigénicos.

Para la reactivación se empleará una solución de buffer de citratos empleando, ácido cítrico (21.01 g) en 1 lt de H<sub>2</sub>O y citrato de sodio (29.41g) en 1 lt de H<sub>2</sub>O. Las laminillas se colocan en un envase couplin con el buffer de citratos cubriéndolas completamente y

se coloca a baño maría a 120°C durante 3 min. Las laminillas se enjuagan con agua destilada y con TBS (PBS y Tris-Base).

c.- Bloqueo de sitios antigénicos (especificos y anti-especificos).

El Bloqueo de peroxidasa endógena y de proteínas no específicas. El bloqueo de peroxidasas se realiza con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3%) durante 10 min. Para bloquear proteínas no específicas se incuban las laminillas con albúmina sérica bovina (BSA) por 1h.

d.- Anticuerpo Primario

Colocaremos el anticuerpo primario anti-SOX9 (1:10,000) Merck Millipore, Darmstadt, Germany) diluyéndolo en BSA y Tritón X100hr a 37°C por 24h. Como control se colocará una laminilla sin anticuerpo primario. El Ab se lavará con TBS (3X).

e.- Anticuerpo Secundario

Colocaremos el anticuerpo secundario, diluido en BSA y Tritón. Los tiempos de incubación serán para A: el anticuerpo Biotinilado, 30 min a temperatura ambiente o para B: para anticuerpos acoplado con peroxidasa, 60 min a 37°C.

**Cuadro 2** Descripción de los pasos finales donde se produce la tinción de la laminilla.

<b>A: Biotinilado</b>	<b>B: Peroxidasa</b>
1) Lavar con el buffer 3 X 5	1) Lavar con el buffer 3 X 5
2) Colocar HRP-estreptavidina peroxidasa (4+ Universal HRP-DAB kit), 10 min (temperatura ambiente).	2) Revelar con cromógeno Diaminobencidina (DAB) o Aminoethylcarbazol (AEC)
3) Lavar con el buffer 3 X 5	3) Lavar con Agua Destilada
4) Revelar con (cromógeno) Diaminobencidina (DAB) o Aminoethylcarbazol (AEC).	4) Contrateñir con la Hematoxilina.
5) Lavar con agua destilada.	5) Lavar con agua de la llave hasta quitar el exceso de colorante.
6) Contrateñir con Hematoxilina de Mayer o Gills (de alcohol).	
7) Lavar con agua de la llave hasta quitar el exceso de colorante	

f.- Revelado

Para revelar con Diamino-bencidina (DAB), las muestras se deshidratan con Alcohol a diferentes porcentajes. 70% por 30 minutos

g.- Montaje

Se realizará el montaje con resina diluída con xilol.

### 6.8.5 Análisis de la inmunohistoquímica

Para el análisis de la expresión de la proteína SOX9 se elegirán al azar 5 áreas diferentes de cada corte (2) en las laminillas por paciente. Se evaluará el porcentaje de células positivas (marcadas con el Anticuerpo SOX9) y negativas, a las cuáles se les asignará un valor.

- . - Score cualitativo 0 (0-5% positive nuclei)
- . - Score 1 (>5%-25% positive nuclei)
- . - Score 2 (>24%-50% positive nuclei)
- . - Score 3 (>50%-75% positive nuclei)
- . - Score 4 (>75% positive nuclei).

De estos datos se asignaran niveles de intensidad que corresponden a

0 (sin tinción)

1 (baja)

2 (moderado)

3 (alto).

## 6.9 ESTANDARIZACION DE CRITERIOS

De todos los casos estudiados se realizó una selección aleatoria de cinco casos, los cuales fueron evaluados de acuerdo a los criterios de selección ya preestablecidos y de forma individual por cuatro examinadores. El valor de la prueba estadística kappa obtenido para medir la concordancia interexaminadores entre los patólogos oncólogos del instituto nacional de cancerología fue de 0.78.

## 6.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se llevó a cabo sobre la base de estudios realizados previamente, sobre la determinación de la proteína SOX9 en cáncer colon en estadio clínico II (**SOX9 expression predicts relapse of stage II colon cancer patients**) para extrapolarse a la determinación de la expresión de la proteína SOX9 en el tejido tumoral de los pacientes ya intervenidos quirúrgicamente en el instituto nacional de cancerología en el periodo de los años 2010 – 2015 con diagnóstico de cáncer de colon en etapa clínica I donde se evaluaron las diferentes características clínicas, patológicas, complicaciones y la recurrencia por estudio retrospectivo, observacional, no será necesaria la aprobación adicional por el Comité de Ética, así como tampoco de la firma de consentimiento informado por parte de las pacientes.

### 6.10.1 Aspectos éticos y de bioseguridad

La recolección de datos confidenciales de expedientes clínicos forma parte de la investigación biomédica, por lo que a lo largo del presente estudio se siguieron los siguientes principios:

- Respeto por la dignidad humana
- Respeto por las personas vulnerables
- Respeto por la privacidad y confidencialidad
- Minimización de cualquier daño que incidental o accidentalmente pudiera infringirse en alguno de los participantes

### **6.10.2 Riesgos Potenciales para Participantes**

El único riesgo posible para los participantes en el estudio es el riesgo psicosocial resultante de un inadecuado manejo o diseminación de la información médica confidencial. Para minimizar este riesgo, Se emplea una serie de procedimientos especiales para mantener la confidencialidad:

- 1) La recolección de datos contiene únicamente un número de identificación, sin nombre del participante: los nombres aparecerán exclusivamente en una etiqueta electrónica que será eliminada en el momento de la captura de los datos lo que permite garantizar la confidencialidad de estos instrumentos durante los procedimientos de recolección y almacenamiento de la información.
- 2) Una vez capturada la información, la base de datos con nombres archivos separados y ocultos para los usuarios el cual es accesible únicamente para la generación de cuestionarios suplementarios en forma ciega para el usuario. Estos procedimientos para garantizar confidencialidad han sido utilizados en otros estudios de cohorte similares resultan altamente efectivos.

### **6.10.3 Recursos disponibles**

Ya que el presente estudio involucra solo la identificación de pacientes y la captura de las variables sociodemográficas y clínicas de éstos, se requiere la revisión de expedientes y de material histopatológico ya consignado a la institución así como el uso de programas informáticos disponibles en este centro hospitalario.

### **6.10.4 Recursos a solicitar**

Se solicitaron recursos al laboratorio de medicina trasnacional para comprar los marcadores utilizados para el estudio de inmunohistoquímica, anti-SOX9 (1:10,000) Merck Millipore, Darmstadt, Germany).

### **6.10.5 Recursos humanos y materiales.**

#### **ASESOR DE TESIS:**

**Dra. Itzel Vela Sarmiento**

Cirujano Oncólogo Adscrito de la Unidad de Gastrocirugia

Instituto Nacional de Cancerología de México

#### **COLABORADOR:**

**Dra. Erika Betzabé Ruiz García**

Oncólogo Médico Adscrito de la Unidad de Gastrocirugia y departamento de medicina  
transnacional

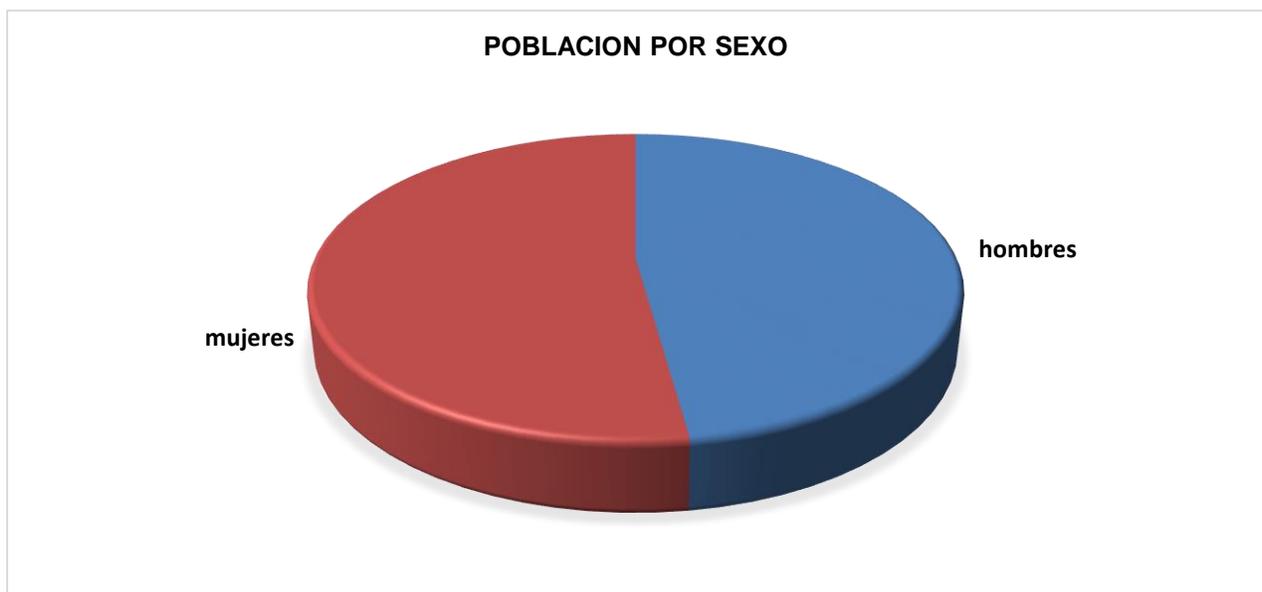
Instituto Nacional de Cancerología de México

## 7.- RESULTADOS

### 7.1 Características demográficas

Se revisaron un total de 860 expedientes electrónicos de pacientes quienes se ingresaron al Instituto Nacional de Cancerología en el periodo de 5 años desde Enero del año 2010 hasta Diciembre del año 2015 donde se buscaron los pacientes de la etapa clínica I con tumores que infiltraban hasta la muscular propia con ganglios linfáticos y metástasis a distancia negativos, (fueron excluidos los estadios 0, II, III y IV) solo 46 pacientes repartidos en 22 hombres con un 47.8 % de la totalidad de la población y 24 mujeres con un 52.2 % siendo ambos grupos heterogéneos (Figura 1), quienes fueron evaluados en la unidad funcional de gastrocirugía con estudios de extensión y fueron tratados con cirugía de manera inicial.

**Figura 1.** Características de la población por sexo



Siendo la edad de la población la menor en 37 y la mayor de 90 años con una media de edad de 63 años (Cuadro 3)

### Cuadro 3. Características de la población por edad

	N =	Mínimo	Máximo	Media
<b>Edad</b>	46	37 años	90 años	63.67

#### 7.2 Características Clínicas

Cuando vamos estudiando las demás características de la población, de los 46 pacientes el 100% fueron adenocarcinomas, pero 9 eran de tipo intestinal con un 19.6%, 4 tuvieron componente mucinoso con un 8.4%, entre otros (Cuadro 4), siendo el lado izquierdo el más afectado con un 63% seguido del derecho con un 30.4%. con antecedentes de cáncer de colon familiar en primer grado 8 pacientes con un 17.4% y 2 pacientes con antecedentes de cáncer de colon familiar en segundo grado 4.3%, y 36 pacientes con sin antecedentes familiares de cáncer de colon con un 78% de los casos, de estos con antecedentes personales de poliposis adenomatosa familiar en 2 casos con 4.3% y síndrome de Lynch en 8 casos con el 17.4 %.

Entre los pacientes se presentaron 15 con antecedente tabáquico con un 32% y concomitantemente alcoholismo, dentro de las comorbilidades se presentaron 9 pacientes con Diabetes Mellitus con un 19.5%, con 11 pacientes con Hipertensión arterial sistémica con 23.9% entre otras, siendo el índice de masa corporal normal solo para 19 pacientes, y los otros 27 con sobrepeso hasta obesidad. (Cuadro 4),

**Cuadro 4. Características clínicas de la población**

Características		N	%
Histología	Adenocarcinoma	26	56.5
	adenocarcinoma con componente musinoso	4	8.7
	adenocarcinoma asociado a in situ	2	4.3
	adenocarcinoma asociado a medular	1	2.2
	adenocarcinoma tipo intestinal	9	19.6
	Adenocarcinoma de tipo cerrado	2	4.3
	adenocarcinoma tipo cribiforme	2	4.3
	Total	46	100.0
Lado del colon afectado	Derecho	14	30.4
	Transverso	3	6.5
	Izquierdo	29	63.0
	Total	46	100.0
Antecedente de cáncer de colon familiar	Ca colon en familiar 1er grado	8	17.4
	Ca colon en familiar 2do grado	2	4.3
	No	36	78.3
	Total	46	100.0
Síndrome de cáncer de colon hereditario	Poliposis adenoatosa familiar	2	4.3
	Síndrome de Lynch	8	17.4
	Otros	1	2.2
	No	35	76.1
	Total	46	100.0
Antecedente de tabaquismo	Si	15	32.6
	No	31	67.4
	Total	46	100.0
Antecedente de alcoholismo	Si	15	32.6
	No	31	67.4
	Total	46	100.0
Diabetes mellitus tipo 1	Si	2	4.3
	No	44	95.7
	Total	46	100.0
Diabetes mellitus tipo 2	Si	7	15.2
	No	39	84.8
	Total	46	100.0
Hipertensión arterial sistémica	Si	11	23.9
	No	35	76.1
	Total	46	100.0
Obesidad	Si	7	15.2
	No	39	84.8
	Total	46	100.0
Dislipidemia	Si	6	13.0
	No	40	87.0
	Total	46	100.0
Otro tumor maligno primario	Si	10	21.7
	No	35	76.1
	Colon sincrónico	1	2.2
	Total	46	100.0
Índice de masa corporal	normal	19	41.3
	sobrepeso	22	47.8
	obesidad 1	3	6.5
	obesidad 2	2	4.3
	Total	46	100.0

### 7.3 Características de la presentación del tumor.

Dentro de la sintomatología presentada en la gran mayoría de los casos su inicio de enfermedad actual va desde 2 meses hasta un año antes de su ingreso a la institución, donde el síntoma inicial en 34 de los pacientes fue dolor abdominal con un 73% (Cuadro 5) y en segundo lugar el sangrado del tubo digestivo en 27 pacientes con un 58.7% seguido de la constipación y pérdida de peso cada uno con un 43.5% lo que representa 20 pacientes.

**Cuadro 5.** Características de presentación del tumor

Características		N =	%
Padecimiento con dolor abdominal	Si	34	73.9
	No	12	26.1
	Total	46	100.0
Padecimiento con distensión abdominal	Si	19	41.3
	No	27	58.7
	Total	46	100.0
Padecimiento con pérdida de peso	Si	20	43.5
	No	26	56.5
	Total	46	100.0
Padecimiento con diarrea	Si	16	34.8
	No	30	65.2
	Total	46	100.0
Padecimiento con constipación	Si	20	43.5
	No	26	56.5
	Total	46	100.0
Padecimiento con sangrado de tubo digestivo	Si	27	58.7
	No	19	41.3
	Total	46	100.0

### 7.4 Características de la cirugía

Se presentaron 11 pacientes quienes ameritaron cirugía de urgencia con un 23.9% mientras que 35 pacientes con un 76.1% de estos fueron llevados a cirugía electiva, con 45 pacientes de los cuales presentaron márgenes negativos en la pieza quirúrgica con un 97% siendo de estos tumores 50% con 23 pacientes grado I y 18 pacientes grado II

con un 39.1 % y solo 9 pacientes presentaron invasión linfovascular con 19.6% y 3 pacientes con invasión perineural con 6.5%.

Dentro de las complicaciones posoperatorias se utilizó la escala de complicaciones quirúrgicas de Clavien Dindo modificada la cual evalúa la desviación del curso postoperatorio ideal, la misma va por grados del I hasta el V definiendo la gravedad de la complicación y los tratamientos instaurados siendo el grado V la muerte del paciente. En la población estudiada 20 pacientes presentaron complicaciones con un 43.5% de los cuales 7 pacientes ameritaron intervención quirúrgica bajo anestesia general con un 15.2% de los cuales 1 desencadenó la muerte del paciente con 2.2 % (Cuadro 6)

#### **Cuadro 6.** Características de la cirugía

Características		N =	%
Cirugía programada	Si	35	76.1
	No	11	23.9
	Total	46	100.0
Estado de márgenes	no valorables	1	2.2
	Negativos	45	97.8
	Total	46	100.0
Grado histológico	1	23	50.0
	2	18	39.1
	3	5	10.9
	Total	46	100.0
Invasión linfovascular	Si	9	19.6
	No	37	80.4
	Total	46	100.0
Invasión perineural	Si	3	6.5
	No	43	93.5
	Total	46	100.0
Complicaciones por grado	Sin complicaciones	26	56.5
	Grado I	4	8.7
	Grado II	2	4.3
	Grado IIIa		
	infección de la herida operatoria	7	15.2
	Grado IIIb		
	Absceso intrabdominal	2	4.3
	Dehiscencia de la anastomosis	4	8.7
	Grado IV	0	0
	Grado V	1	2.2
	Sufijo D	0	0
	Total	46	100.0

## 7.5 Características de la recurrencia o progresión

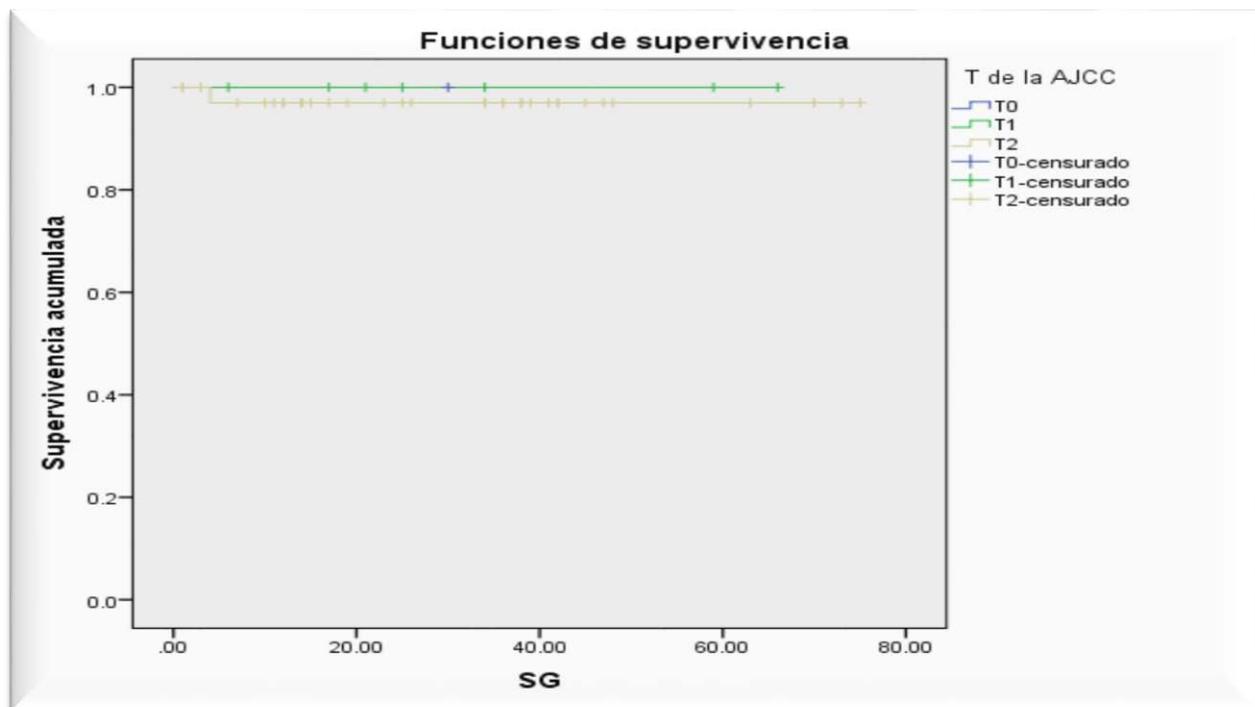
De esta población se evidencio 3 pacientes con progresión con un 6.5% con enfermedad a distancia y 5 pacientes con recurrencia local con un 10.9% y una defunción con un 2.2 % (Cuadro 7)

**Cuadro 7.** Características de la recurrencia o progresión

Características		N =	%
Progresión	Si	3	6.5
	No	43	93.5
	Total	46	100.0
Recaída	Si	5	10.9
	No	41	89.1
	Total	46	100.0
Defunción	Si	1	2.2
	No	45	97.8
	Total	46	100.0

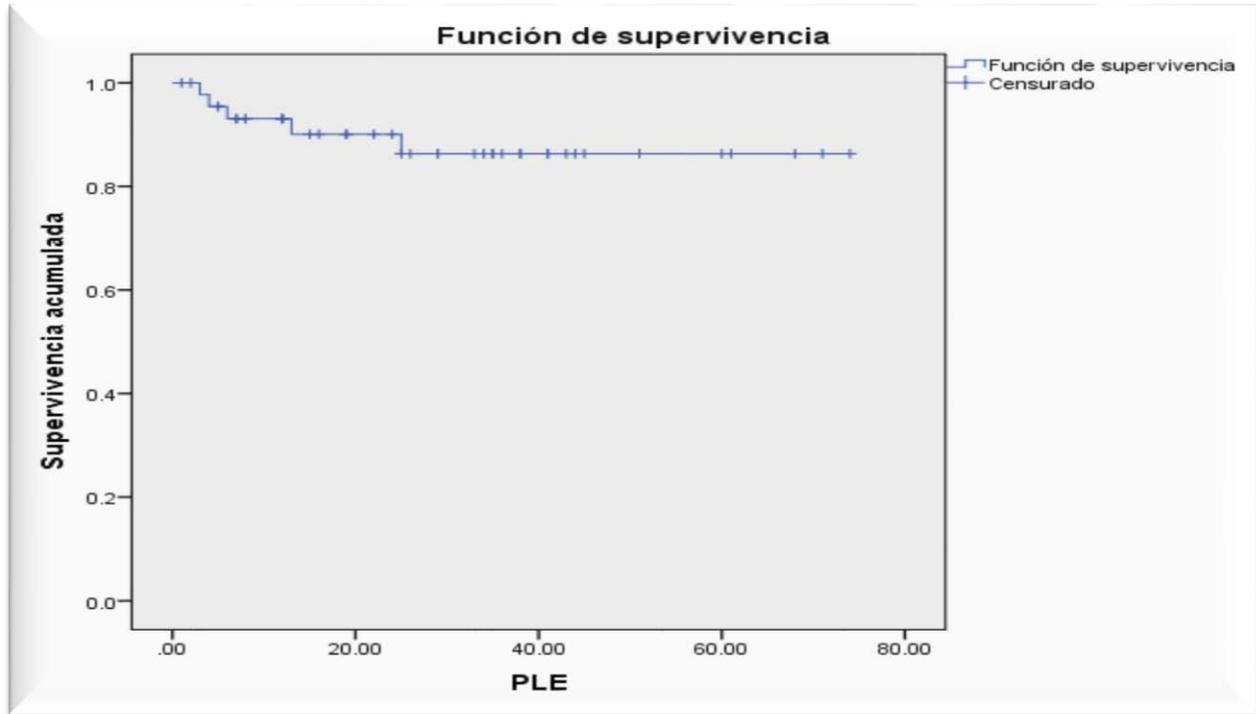
Cuando analizamos por curva de supervivencia global por profundidad de la invasion tenemos 100% para T1 y 98% para T2

**Grafico 2.** Supervivencia global por T



Cuando analizamos en curvas de Kaplan Meier el periodo libre de enfermedad vemos que a los 1 año es de 93% a los dos años del 90% a los 3 años hasta los 5 años se mantiene en 85% (Grafico 3)

**Grafico 3.** Periodo libre de enfermedad.



El estado de la última consulta se describe en el (cuadro 8) donde vivos con actividad tumoral y finado se presenta solo 1 paciente con 2.2% y vivos sin actividad tumoral hay 33 con un 71.7%, y 10 pacientes con pérdida de su seguimiento.

**Cuadro 8.** Estatus de la última consulta

Características		N =	%
Estatus en la fecha de última consulta	Vivo con AT	1	2.2
	Vivo sin AT	33	71.7
	Finado	1	2.2
	Pérdida de seguimiento	10	21.7
	Total	45	97.8
Perdidos	Sistema	1	2.2
Total		46	100.0

## 7.6 Correlación de la Histopatología tumoral con síndrome de cáncer de colon hereditario

Al realizar un análisis multivariado donde se encontró que de los 4 pacientes que presentaron histología de Adenocarcinoma con componente musinoso 2 de los pacientes con 4.4 % presenta síndrome de Lynch y otros 2 pacientes con este síndrome con Adenocarcinoma de tipo intestinal dándole una histología de mal pronóstico en un 50% de los pacientes con síndrome de Lynch. (Cuadro 9)

**Cuadro 9.** Correlación de la Histopatología tumoral con síndrome de cáncer de colon hereditario

		Síndrome de cáncer de colon hereditario				Total
		Poliposis adenoatosa familiar	Síndrome de Lynch	Otros	N =	
<b>H I S T O L O G I A</b>	Adenocarcinoma	1	3	1	21	26
	adenocarcinoma con componente musinoso	0	2	0	2	4
	adenocarcinoma asociado a in situ	0	0	0	2	2
	adenocarcinoma asociado a medular	0	0	0	1	1
	adenocarcinoma tipo intestinal	1	2	0	6	9
	Adenocarcinoma de tipo cerrado	0	0	0	2	2
	adenocarcinoma tipo cribiforme	0	1	0	1	2
<b>Total</b>		<b>2</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>35</b>	<b>46</b>

## 7.7 Correlación de la Histopatología tumoral con cirugía de urgencia y cirugía electiva

Al realizar el análisis Multivariado de la histopatología con el tipo de cirugía inicial se evidencia que 7 pacientes de los 11 llevados a cirugía de urgencia presentaron histología de Adenocarcinoma sin componentes que le dieran alguna característica de mal pronóstico por ser cirugía de urgencia. (Cuadro 9)

**Cuadro 10.** Correlación de la Histopatología tumoral con cirugía de urgencia y cirugía electiva

		Tipo de cirugía		Total
		Programada	De urgencia	
<b>H I S T O L O G I A</b>	Adenocarcinoma	19	7	26
	adenocarcinoma con componente mucinoso	4	0	4
	adenocarcinoma asociado a in situ	1	1	2
	adenocarcinoma asociado a medular	0	1	1
	adenocarcinoma tipo intestinal	7	2	9
	Adenocarcinoma de tipo cerrado	2	0	2
	adenocarcinoma tipo cribiforme	2	0	2
	<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>11</b>	<b>46</b>

## 8.- DISCUSION

El presente estudio es el primer análisis donde se plantea el SOX9 como biomarcador de cáncer de colon estadio clínico I para evaluación de recurrencia. La regulación de SOX9 y su función exacta son complejas. El factor de transcripción se ha informado que tiene tanto efectos oncogénicos como supresor de tumores en el cáncer colorrectal es por ello que no es fácil la interpretación de su sobreexpresión, ya que es un gen crítico para el desarrollo embrionario y la homeostasis tisular en varios órganos, con un papel en el cáncer no se entiende completamente todavía.<sup>26</sup> por lo que hicimos el análisis estadístico de 5 años de pacientes con el diagnóstico antes descrito con cirugía de inicio en quienes la tasa de curación es del 90% donde de una población del 100% de consultas de nuevos ingresos desde Enero 2010 hasta Diciembre del 2015 con un total de 860 pacientes siendo solo 46 pacientes con un 5.34% quienes se encuentran en una etapa I, donde la cirugía puede representar la curación. Un 23.9% de esta población fue sometida a cirugía de urgencia con 11 pacientes, donde la media de edad fue de 63 años con grupos homogéneos en cuanto a la presentación por sexo también se comportando compatible con la estadística mundial, donde la histología más frecuente es el adenocarcinoma en un 56.5% y un 43.5% de estos casos tienen variantes histológicas que les da una connotación de mal pronóstico en más de 15% del total, donde el tipo intestinal se correlaciona mas con cáncer de colon hereditario, obstrucción intestinal, e invasión linfovascular, pero no con progresión en nuestra población.

Siendo el lado izquierdo del colon el más afecto con un 63 % y en cuanto el porcentaje de cáncer de colon hereditario se manifiesta en un 23% de la población lo que también va de la mano con un 20% de las estadísticas mundiales, con un 15 % de la población

quien presenta hábitos tabáquicos y concomitantemente alcohólicos lo que no se correlaciona con progresión ni recurrencia dentro de nuestro estudio, y con un 22% de la población con historia personal de otro cáncer lo que se correlaciona con el porcentaje de colon familiar y síndromes asociados por lo que siempre debemos estar más alertas con esta población, tomando en cuenta también el antecedente de sobrepeso y obesidad ya que en nuestra población es casi del 60% de los casos colocándolo como factor de riesgo importante en nuestra población, también pudimos evidenciar que un 26% de la población puede tener ausencia de síntomas que los hagan consultar como el dolor abdominal para inicio de padecimiento actual lo que es un factor que contribuye al retraso diagnóstico haciendo en esta población el retraso de su consulta posterior al inicio de los síntomas de padecimiento actual de 4 a 12 meses.

En cuanto a la cirugía de los cuales fueron llevados de forma electiva un 76.1 % de la población sin diferencias entre márgenes entre una cirugía de urgencia y una cirugía electiva, ya que en ambos grupos fueron cirugías curativas, y siendo para ambos grupos un total 43.5% con complicaciones postquirúrgicas donde la infección de la herida operatoria se presentó en un 15.2 % mientras que la dehiscencia de la anastomosis fue en un 8.7% y un 2.2 % desencadenó la muerte de un paciente.

Al final cuando estudiamos que esta población en su totalidad fue operada con adecuados márgenes quirúrgicos y con una cirugía adecuada presentamos una recurrencia general de 17.4 % siendo está más alta que para lo que se presentan en etapas clínicas tempranas en la población general y de toda la población la quimioterapia se ofreció en 4 pacientes de los cuales un paciente no la aceptó y esta se ofreció solo

por casos particulares por datos clínicos de mal pronóstico y de estos uno fue por discordancia de la pieza operatoria, por haber sido operado fuera de la institución y se sometido a revisión de laminillas y bloques de parafina y haber sido un procedimiento de urgencia, por lo que vemos que si debemos poner nuestra atención en este grupo de pacientes y cada día mejorar el tratamiento buscando los datos clínicos e histopatológicos que nos hablen de la biología más agresiva del tumor y las diferencias en el mismo grupo, es por eso que en las próximas semanas se les realizar la expresión de SOX9 a esta población como datos importante para la correlación de recurrencia y progresión de estos pacientes ya previamente estudiados y sacar conclusiones acerca de su utilidad clínica como biomarcador.

## 9.- CONCLUSIONES

El cáncer de colon estadio clínico I tiene una supervivencia global de 95 al 85% en los 5 años de estudio sin embargo la recurrencia y progresión alcanzo un 17% de la totalidad de esta población, por lo que vemos que el cáncer de colon es una patología que incluso en diagnósticos iniciales su impacto en la mortalidad lo hace un problema de salud pública y es por eso que su tratamientos debe ir cada día más personalizado, y al igual que la etapa clínica II debemos buscar la forma de predecir la recurrencia o progresión en este grupo

Es por eso que la importancia de tomar en cuenta la posibilidad de que exista un biomarcador que a nivel molecular pueda predecir la recurrencia o progresión de esta patología toma connotación clínica.

Que aun siendo el mayor porcentaje de cirugías de manera electiva y estando en un centro de alta experiencia en el manejo de estos pacientes puede presentar complicaciones que pueden llevar al paciente desde una infección del sitio operatorio hasta la muerte del mismo.

Se deben tomar en cuenta los pacientes que ingresan a la institución por cualquier otra neoplasia ya que muchos pueden ser portadores de cáncer de colon hereditario y de tal manera hacer diagnóstico temprano en esta población.

Este estudio puede ser el inicio de muchos avances para el manejo del cáncer de colon ya que podemos optimizar el mismo y disminuir de manera importante las recurrencias a futuro.

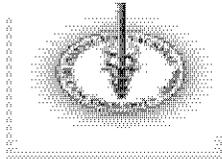
## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66:7-30.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P et al. GLOBOCAN 2002. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC Cancer base no. 5, version 2.0. Lyon, France: IARC Press, 2004.
3. Boyle P, Leon ME. Epidemiology of colorectal cancer. *British Medical Bulletin* 2002; 64: 1-25
4. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas Compendios 1998-2002. DGE, SSA. México.
5. Rizo- Ríos, Sierra – Colindres MI, Vázquez-Piñón A al. Registro Hospitalario de Cáncer; Compendio de Cáncer 2000-2004, *Cancerología* 2007;2:203-287.
6. Bailey CE, Hu CY, You YN et al. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States 1975 – 2010 *JAMA Surg* 2014: 1-6
7. Gunderson LL, Sargent DJ, Tepper JE, et al. Impact of T and N substage on survival and disease relapse in adjuvant rectal cancer: A pooled analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;54:386–96, with permission of Elsevier.
8. McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM. REporting recommendations for tumor MARKer prognostic studies (REMARK). *Eur J Cancer* 2005;41:1090-6.
9. Pevny LH, Lovell-Badge R. Sox genes find their feet. *Curr Opin Genet. Dev* 1997;7:338-44.
10. Mori-Akiyama Y, van den Born M, van ES, et al. SOX9 is required for the differentiation of paneth cells in the intestinal epithelium. *Gastroenterology* 2007;133:539-46.
11. Franziska Michor, Yoh Iwasa, Christoph Lengauer, Martin A. Nowak. Dynamics of colorectal cancer, *Seminars in Cancer Biology* 15 (2005) 484–493.
12. Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging Concepts in Colorectal Neoplasia. *Gastroenterology* 2002;123:862– 876.
13. Kinzler KW, Vogelstein B. Colorectal tumors. The genetic basis of human cancer. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002:583-612.
14. Sanford D. Markowitz, Monica M. Bertagnolli. Molecular Basis of Colorectal Cancer *N Engl J Med.* 2009 December 17; 361(25): 2449–2460.
15. J.R. Sampson, S. Jones, S. Dolwani, J.P. Cheadle. MutYH (MYH) and colorectal cancer. Department of Medical Genetics, Cardiff University, (2005) Volume 33, part 4.
16. Enric D , Rene ´e C Niessen , C. Oliveira , Pia Alhopuro , C. Moutinho , Schwartz Jr,1 R. Hofstra. BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC in patients with functional MLH1 and MSH2 genes. *Oncogene* (2005) 24, 3995–3998. doi:10.1038/sj.onc.1208569 Published online 21 March 2005
17. Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 988-993
18. Espersen ML, Olsen J, Linnemann D, Hogdall E, Troelsen JT. Clinical implications of intestinal stem cell markers in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14:63-7.

19. Aleman A, Adrien L, Lopez-Serra L, et al. Identification of DNA hypermethylation of SOX9 in association with bladder cancer progression using CpG microarrays. *Br J Cancer* 2008;98:466-73.
20. Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination and SRY: down to a wink and a nudge *Trends Genet* 2009;25:19–29.
21. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005;434:843–50.
22. Matheu A, Collado M, Wise C, et al. Oncogenicity of the developmental transcription factor Sox9. *Cancer Res* 2012;72:1301-15.
23. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759–67.
24. Robert E, Andrew Mc, David K Validation of a model of colon cancer progression *he Journal of Pathology* 2000 192, 4, 446–454.
25. Maiken L. Marcker E, Dorte Linnemann SOX9 expression predicts relapse of stage II colon cancer patients *Hum Pathol.* 2016 Jun;52:38-46.
26. Matheu A, Collado M, Wise C, et al. Oncogenicity of the developmental transcription factor Sox9. *Cancer Res* 2012;72:1301-15.
27. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012;487:330-7.

## 11. ANEXOS

### 11.1 ANEXO 1. Ficha de recolección de datos



#### Formato de Recolección de Datos

#### **BIOMARCADORES ASOCIADOS A RECAIDA EN PACIENTES CON CANCER DE COLON**

#### **ETAPA I**

#### **EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CANCERLOGIA**

2010 - 2015

(Estudio Prospectivo descriptivo)

Nombre: \_\_\_\_\_ EXP: \_\_\_\_\_

AÑO: \_\_\_\_\_ NRO: \_\_\_\_\_

- 
1. Número de expediente \_\_\_\_\_
  2. Fecha de la historia de Ira del servicio de gastrocirugía \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
  3. Fecha de la valoración en la unidad funcional de gastrocirugía \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
  4. Diagnóstico de cáncer de colon \_\_\_\_
  5. Lado de colon afectado
    - 5.1 Colon derecho \_\_\_\_
    - 5.2 Colon transverso \_\_\_\_
    - 5.3 Colon izquierdo \_\_\_\_
  6. Estadío clínico \_\_\_\_\_
  7. Histología
    - 7.1 Adenocarcinoma
      - 7.1.1 Adenocarcinoma con componente mucinoso
      - 7.1.2 Adenocarcinoma asociado a componente in situ
      - 7.1.3 Adenocarcinoma asociado a carcinoma medular
      - 7.1.4 Adenocarcinoma de tipo intestinal
      - 7.1.5 Adenocarcinoma Cerrado
      - 7.1.6 Adenocarcinoma Cribiforme
  8. Fecha de nacimiento \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
  9. Edad \_\_\_\_\_
  10. Sexo
    - 10.1 Masculino \_\_
    - 10.2 Femenino \_\_
    - 10.3 NA
  11. Fecha de Diagnóstico INCan \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

12. Candidato a inclusión en el estudio  
 12.1 Si \_\_\_\_\_  
 12.2 No \_\_\_\_\_
13. Recibió Adyuvancia  
 13.1 Si \_\_\_\_\_  
 13.2 No \_\_\_\_\_  
 13.3 Se indicó pero no la recibió \_\_\_\_\_  
 13.4 Se desconoce \_\_\_\_\_
14. Antecedente de Cáncer de colon familiar  
 14.1 Cáncer de colon en Familiar en 1er Grado  
 14.2 Cáncer de colon Familiar en 2do grado  
 14.3 No.
15. Cáncer de mama en primer o segundo grado  
 15.1 Si \_\_\_\_\_  
 15.2 No \_\_\_\_\_
16. Cáncer de Ovario Familiar en primer o segundo grado  
 16.1 Si \_\_\_\_\_  
 16.1 No \_\_\_\_\_
17. Cáncer de Endometrio en primer y segundo grado  
 17.1 Si \_\_\_\_\_  
 17.2 No \_\_\_\_\_
18. Sx. de Colon hereditario  
 18.1 Poliposis adenomatosa familiar \_\_\_\_\_  
 18.2 Sx de Lynch \_\_\_\_\_  
 18.3 Otros \_\_\_\_\_  
 18.4 No \_\_\_\_\_
19. Tabaquismo  
 19.1 Si \_\_\_\_\_  
 19.2 No \_\_\_\_\_
20. Alcoholicismo  
 20.1 Si \_\_\_\_\_  
 20.2 No \_\_\_\_\_
21. Marihuana  
 21.1 Si \_\_\_\_\_  
 21.2 No \_\_\_\_\_
22. Ejercicio aeróbico mayor a 3 semanas  
 22.1 Si \_\_\_\_\_  
 22.2 No \_\_\_\_\_
23. Diabetes Mellitus tipo I  
 23.1 Si \_\_\_\_\_  
 23.2 No \_\_\_\_\_
24. Diabetes Mellitus tipo II  
 24.1 Si \_\_\_\_\_

- 24.2 No \_\_\_\_\_
25. Hipertensión arterial sistémica.  
25.1 Si \_\_\_\_\_  
25.2 No \_\_\_\_\_
26. Obesidad  
26.1 Si \_\_\_\_\_  
26.2 No \_\_\_\_\_
27. Dislipidemia  
27.1 Si \_\_\_\_\_  
27.2 No \_\_\_\_\_
28. Infarto Agudo al miocardio  
28.1 Si \_\_\_\_\_  
28.2 No \_\_\_\_\_
29. Insuficiencia Cardíaca  
29.1 Si \_\_\_\_\_  
29.2 No \_\_\_\_\_
30. Embolismo Cerebro Vascular  
30.1 Si \_\_\_\_\_  
30.2 No \_\_\_\_\_
31. Cirrosis  
31.1 Si \_\_\_\_\_  
31.2 No \_\_\_\_\_
32. Otro Tumor primario  
32.1 No \_\_\_\_\_  
32.2 Endometrio \_\_\_\_\_  
32.3 Próstata \_\_\_\_\_  
32.4 Colon Síncronico \_\_\_\_\_  
32.5 Colon Metacrónico \_\_\_\_\_  
32.6 Linfoma No Hodgkin \_\_\_\_\_  
32.7 Riñón \_\_\_\_\_  
32.8 Páncreas \_\_\_\_\_
33. Meses de padecimiento actual \_\_\_\_\_
34. Padecimiento actual dolor abdominal  
34.1 Si \_\_\_\_\_  
34.2 No \_\_\_\_\_
35. Distensión  
35.1 Si \_\_\_\_\_  
35.2 No \_\_\_\_\_
36. Pérdida de Peso  
36.1 Si \_\_\_\_\_  
36.2 No \_\_\_\_\_
37. Diarrea

- 37.1 Si \_\_\_\_\_  
 37.2 No \_\_\_\_\_
38. Constipación  
 38.1 Si \_\_\_\_\_  
 38.2 No \_\_\_\_\_
39. Sangrado del tubo digestivo  
 39.1 Si \_\_\_\_\_  
 39.2 No \_\_\_\_\_
40. Tratamiento Inicial  
 40.1 Cirugía \_\_\_\_\_  
 40.2 Quimioterapia \_\_\_\_\_
41. Fecha del tratamiento inicial \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
42. Cirugía Programada  
 42.1 Si \_\_\_\_\_  
 42.2 No \_\_\_\_\_
43. Perforación intestinal  
 43.1 Si \_\_\_\_\_  
 43.2 No \_\_\_\_\_
44. Oclusión Intestinal  
 44.1 Si \_\_\_\_\_  
 44.2 No \_\_\_\_\_
45. Pólipos colorrectales  
 45.1 Si \_\_\_\_\_  
 45.2 No \_\_\_\_\_
46. IC diagnostico \_\_\_\_\_
47. IC Cirugía \_\_\_\_\_
48. T (Infiltración de la pared) AJCC \_\_\_\_\_  
 48.1 T1 \_\_\_\_\_  
 48.2 T2 \_\_\_\_\_
49. N (Numero de ganglios) AJCC  
 49.0 N0 \_\_\_\_\_  
 49.1 N1a \_\_\_\_\_  
 49.2 N1b \_\_\_\_\_  
 49.3 N1c \_\_\_\_\_  
 49.4 N2a \_\_\_\_\_  
 49.5 N2b \_\_\_\_\_  
 49.6 NX \_\_\_\_\_
50. M (Metástasis a distancia) AJCC  
 50.0 M0 \_\_\_\_\_  
 50.1 M1 \_\_\_\_\_  
 50.2 M2 \_\_\_\_\_

- 51. Estado de los Márgenes
  - 51.0 No valorables
  - 51.1 Positivos \_\_\_\_\_
  - 51.2 Negativos \_\_\_\_\_
  
- 52. Grado histológico
  - 52.1 grado I
  - 52.2 grado II
  - 52.3 grado III
  - 52.4 grado IV
  
- 53. Infiltración linfocascular
  - 53.1 Si \_\_\_\_\_
  - 53.2 No \_\_\_\_\_
  
- 54. Infiltración perineural
  - 54.1 Si \_\_\_\_\_
  - 54.2 No \_\_\_\_\_
  
- 55. Numero de ganglios resecaos \_\_\_\_\_
  
- 56. Numero de ganglios metastaticos \_\_\_\_\_
  
- 57. Complicaciones
  - 57.1 grado I
  - 57.2 grado II
  - 57.3 grado III
    - 57.3.1 grado IIIa
    - 57.3.2 grado IIIb
  - 57.4 grado IV
  - 57.5 grado V
  - 57.6 sufixo D
  
- 58. ECOG \_\_\_\_\_ puntos
  
- 59. Peso \_\_\_\_\_ Kgs
  
- 60. Talla \_\_\_\_\_ cms
  
- 61. IMC \_\_\_\_\_
  
- 62. Superficie corporal total \_\_\_\_\_
  
- 63. Glucosa \_\_\_\_\_
  
- 64. Creatinina \_\_\_\_\_
  
- 65. TGO \_\_\_\_\_
  
- 66. TGP \_\_\_\_\_
  
- 67. BT \_\_\_\_\_
  
- 68. BD \_\_\_\_\_

69. BI \_\_\_\_\_
70. FA \_\_\_\_\_
71. GGT \_\_\_\_\_
72. Albumina \_\_\_\_\_
73. Hemoglobina \_\_\_\_\_
74. Lencocitos \_\_\_\_\_
75. Neutrófilos \_\_\_\_\_
76. Esquema de Adyuvancia
- 76.1 Capcitabine \_\_\_\_\_
- 76.2 5 FU \_\_\_\_\_
- 76.3 Xelox \_\_\_\_\_
- 76.4 Folfor \_\_\_\_\_
- 76.5 No \_\_\_\_\_
77. Inicio de adyuvancia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
78. Efecto adverso Nausea \_\_\_\_\_
79. Efecto adverso diarrea \_\_\_\_\_
80. Efecto adverso mucositis \_\_\_\_\_
81. Efecto adverso Neuropatia \_\_\_\_\_
82. Efecto adverso síndrome mano/pie \_\_\_\_\_
83. Efecto adverso lesión renal aguda \_\_\_\_\_
84. Efecto adverso anemia \_\_\_\_\_
85. Efecto adverso Neutropenia \_\_\_\_\_
86. Efecto adverso trombocitopenia \_\_\_\_\_
87. Efecto adverso aumento de las transaminasas \_\_\_\_\_
88. Efecto adverso colestasis \_\_\_\_\_
89. Numero de ciclos de QT \_\_\_\_\_
90. Fin de la adyuvancia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
91. Recaida
- 91.1 Si \_\_\_\_\_
- 91.2 No \_\_\_\_\_
92. Fecha de recaida \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
93. Segunda línea \_\_\_\_\_

- 93.1 Cirugía \_\_\_\_\_
- 93.2 QT \_\_\_\_\_
- 93.1 No \_\_\_\_\_
- 93.2 MSM \_\_\_\_\_
  
- 94. Progresión
- 94.1 Si \_\_\_\_\_
- 94.2 No \_\_\_\_\_
  
- 95. Fecha de progresión \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  
- 96. Defunción
- 96.1 Si \_\_\_\_\_
- 96.2 No \_\_\_\_\_
  
- 97. Fecha de la defunción \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  
- 98. Motivo de la Defunción
- 98.1 No aplica \_\_\_\_\_
- 98.2 Peroperatoria \_\_\_\_\_
- 98.3 Complicaciones asociadas \_\_\_\_\_
- 98.4 Oclusión por Adherencias \_\_\_\_\_
  
- 99. Fecha de última consulta \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
  
- 100. Estatus de la última consulta
- 100.1 Vivo con actividad tumoral
- 100.2 Vivo sin actividad tumoral
- 100.3 Finado
- 100.4 Perdida de seguimiento

## 11.2 ANEXO 2. Etapificación del cáncer de colon según la AJCC

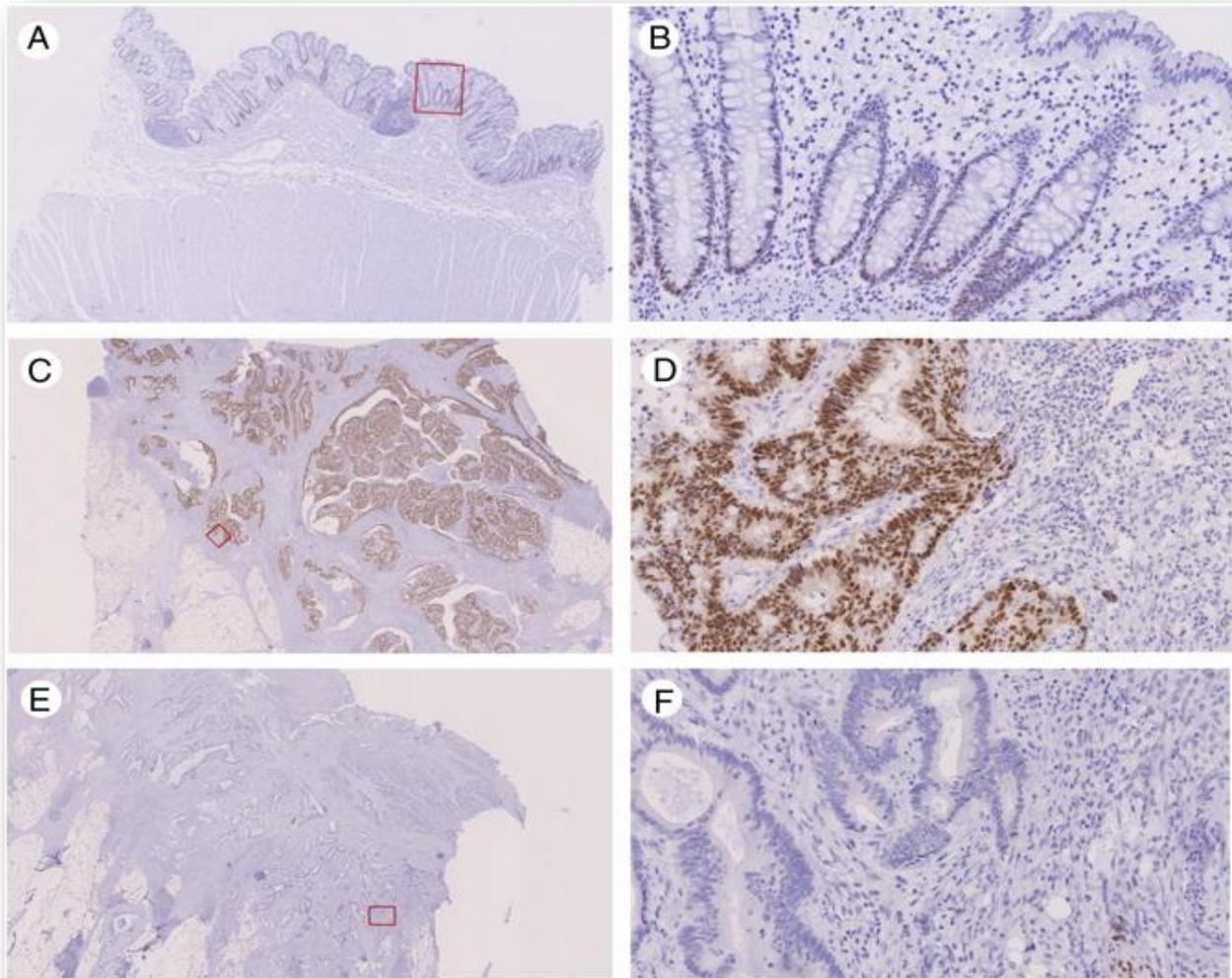
<b>TUMOR</b>	
TX	No valorable
T0	Sin tumor
Tis	Intraepitelial o invasión de lamina propia
T1	Invade submucosa
T2	Invade muscular propia
T3	Invade a través de muscular propia en tejido pericorectal
T4a	Tumor penetra en superficie de peritoneo visceral
T4b	Tumor invade directamente o adherido a otros órganos

<b>GANGLIOS LINFATICOS REGIONALES</b>	
NX	No valorables
N0	Sin metástasis
N1 N1a N1b N1c	1 – 3 ganglios 1 ganglio 2 – 3 ganglios Depósito tumoral en subserosa, mesenterio o tejido pericólico o perirectal no peritonizado sin mets a ganglios
N2 N2a N2b	4 o más ganglios 4 – 6 ganglios 7 o > ganglios
<b>METÁSTASIS A DISTANCIA</b>	
M0	Sin metástasis
M1 M1a M1b	Metástasis a distancia Metástasis localizada en 1 órgano o sitio (Hígado, ovario, GL no regional) Metástasis en más de un órgano o sitio o peritoneo

Etapas clínicas del cáncer de colon NCCN 2.2016

<b>EC</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
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	Cualq T	Cualq N	M1a
IVB	Cualq T	Cualq N	M1b

### 11.3. ANEXO 3. Tinción de inmunohistoquímica de SOX9



- La tinción inmunohistoquímica de SOX9 en el tejido de colon normal (A y B) y en la etapa II de tejido de cáncer de colon
- A, expresión SOX9 por un aumento x 2,7. C y E, por un aumento x 1,25.
- Los paneles B, D, y F son  $\times 20$  magnificación de zonas marcadas de los paneles A, C y E.
- A y B, SOX9 se expresa en núcleos de las células epiteliales en la parte inferior de las criptas.
- C y D, de alta expresión de SOX9 en las células tumorales.
- E y F, la expresión SOX9 no detectado en las células tumorales, incluyendo el control del estroma interno para la tinción SOX9

#### 11.4 ANEXO 4. Escala de complicaciones de Clavien Dindo Modificada

<b>- Clasificación de las complicaciones quirúrgicas de Clavien modificada</b>	
<b>Grado</b>	<b>Definición</b>
Grado I	Cualquier desviación de un curso postoperatorio normal sin la necesidad de tratamiento farmacológico, quirúrgico, endoscópico o intervenciones radiológicas. Sí se permite tratamientos como antieméticos, antipiréticos, analgésicos, diuréticos, electrolitos y fisioterapia. Este grado incluye úlceras de decúbito
Grado II	Requerimiento de tratamiento farmacológico con fármacos distintos de los permitidos para complicaciones de grado I. También están incluidas las transfusiones de sangre y la nutrición parenteral total
Grado III	Requieren intervención quirúrgica, endoscópica o radiológica
Grado IIIa	Intervenciones que no requieren anestesia general
Grado IIIb	Intervenciones bajo anestesia general
Grado IV	Complicaciones que implican un riesgo vital para el paciente y requieren manejo de cuidados intensivos (incluidas complicaciones del sistema nervioso central)
Grado IVa	Disfunción de un único órgano
Grado IVb	Disfunción multiorgánica