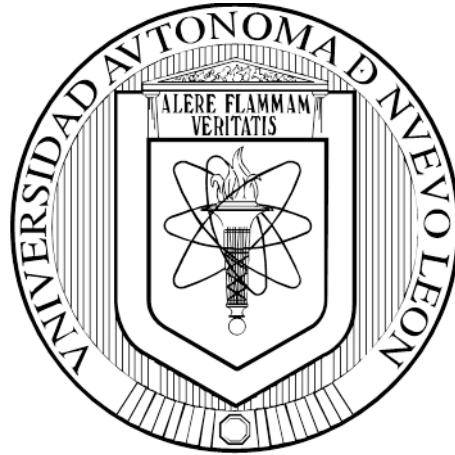


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**ESTUDIO SOCIODEMOGRÁFICO Y CLÍNICO DEL CCR EN NUEVO LEÓN Y
ANÁLISIS DE LA SENSIBILIDAD A MEDICAMENTOS DE PRIMERA LÍNEA EN
CULTIVOS PRIMARIOS DE TUMORES COLORRECTALES**

POR

MCP. PAULINA DELGADO GONZÁLEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN MEDICINA**

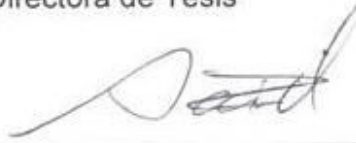
JUNIO 2016

"Estudio sociodemográfico y clínico de CCR en Nuevo León y análisis de la sensibilidad a medicamentos de primera línea en cultivos primarios de tumores colorrectales."

Aprobación de la tesis



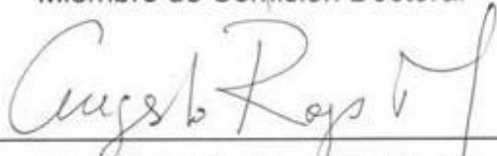
Dr. C Herminia Gpe. Martínez Rodríguez
Directora de Tesis



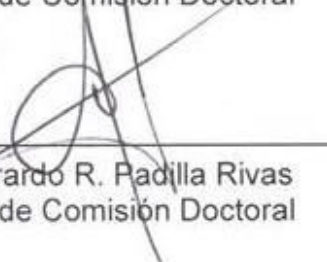
Dr. C Salvador Luis Said y Fernández
Co-Director de Tesis



Dr. Med Gerardo E. Muñoz Maldonado
Miembro de Comisión Doctoral



Dr. C Augusto Rojas Martínez
Miembro de Comisión Doctoral



Dr. C Gerardo R. Padilla Rivas
Miembro de Comisión Doctoral



Dra. Med Raquel Garza Guajardo
Subdirectora de Estudios de Posgrado

El presente trabajo se llevó a cabo bajo la Dirección de la Dra. Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez y la Co-Dirección del Dr. Salvador Luis Said y Fernández.

La selección de pacientes y los procedimientos quirúrgicos se realizaron en el servicio de Cirugía General del Hospital Universitario “Dr. José E. González”, así como en el servicio de Cirugía Oncológica de la Unidad Médica de Altas Especialidades No. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social, el estudio histopatológico de las piezas quirúrgicas se realizó por los servicios de Anatomía Patológica de las instituciones participantes.

Los experimentos in vitro se realizaron en el Laboratorio de Terapia Celular del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

La valoración, evolución postquirúrgica y obtención de los agentes quimioterapéuticos de los pacientes, se realizó en el Centro Universitario Contra el Cáncer del Hospital Universitario “Dr. José E. González” y el servicio de Oncología Médica de la Unidad Médica de Altas Especialidades No. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Este estudio fue apoyado parcialmente por el Fondo Sectorial SEP/CONACYT, registro No. CB2012-178641-M y con recursos propios del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL

ASPECTOS ÉTICOS

Por las características del estudio, se considera de bajo riesgo para el paciente, los cuales no fueron manipulados ni puestos en riesgo durante el estudio. La participación de los pacientes consistió en proporcionar datos sociodemográficos y clínicos de su patología (cáncer colorrectal) para fines de investigación.

El estudio fue autorizado por el Comité de Ética para la Investigación Científica del Hospital Universitario y Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el registro BI114-004 y el Comité Nacional de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social con el registro R-2012-785-075

DEDICATORIA

Por ti, Para ti

Francisco Delgado González (†)

29-junio-2013

A mi paciente No. 20

Mi Mamá

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por concederme la oportunidad de descubrir mi capacidad de trabajo y dedicación en este proyecto, por enseñarme caminos que tal vez en un inicio no eran para mí, y que al final fueron necesarios para lograr ser la persona que soy actualmente.

No hay agradecimiento suficiente, para la **Dra. C Herminia Gpe. Martínez Rodríguez** y el **Dr.C Salvador Luis Said y Fernández** por todo el apoyo y por haber depositado su confianza en mí, para desarrollar este trabajo, se arriesgaron a formar un recurso humano capaz de investigar aún así no conociera nada. Han sido parte esencial en mi formación como profesional y como persona, me han dado la oportunidad de aprender cosas que nunca pensé que pudiera realizar, me permitieron retarme como profesional, a enfrentar mis más grandes miedos y a salir de ellos, pero sobre todo me enseñaron la capacidad de ser humano que los caracteriza, son mi ejemplo, y espero en un futuro poder retribuirles un poquito de todo lo que han hecho por mí.

Agradezco enormemente a las autoridades de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José E. González”, en especial al **Dr. Med Santos Guzmán López** por darme la oportunidad y apoyo al realizar el doctorado en esta institución, en manos de grandes profesores como el **Dr. Med Gerardo E. Muñoz Maldonado** que sin su equipo de profesores, residentes, enfermeras y personal administrativo, no hubiera tenido materia prima para realizar este estudio, al **Dr. Med Juan Pablo Flores** agradezco todas sus atenciones, su tiempo, su disposición por parte de sus residentes para el proceso de las piezas quirúrgicas, al **Dr. Juan Francisco González Guerrero** por permitirme el acceso a su servicio de Oncología Médica, muy en especial al **Dr. Sergio Buenaventura** por todo su apoyo y sus buenos deseos durante la realización de este proyecto.

Al **Dr. Oscar de la Garza**, quien me apoyó desde estudiante de pregrado y quien confirmaría mis intenciones de iniciar el doctorado, al **Dr. Félix Vilchez**

Cavazos y a todo el personal de Subdirección de Posgrado, por su calidez humana, su paciencia y sobretodo su compromiso con el estudiante.

Al **Dr. C Gerardo R. Padilla**, por siempre estar al pendiente de mi desempeño, por su exigencia, por su tiempo y sus grandes conocimientos aportados a este trabajo, al **Dr. C Augusto Rojas** por apoyar este trabajo en todos los aspectos.

Al Laboratorio de **Terapia Celular**, a M.C Martha Rodríguez, Dr. Mario Simental. M.C Carlos González, MIP Yesenia Alonso, a mis “servicios sociales” el Dr. Marco Antonio Román Montalvo, que llegó en un punto muy importante para apoyarme en momentos muy impactantes en mi vida, al Dr. Orlando Solís Coronado, por su responsabilidad y su inquietud de aprender. Pero sobre todo a **M.C Elsa Garza Treviño**, por ser una gran guía, maestra, amiga, por estar junto a mí en todo momento durante la realización de este proyecto, por enseñarme todo lo que se hasta ahora, y estoy segura que seguiremos adelante en esto, creando cosas nuevas, sobretodo siendo un gran equipo como hasta ahora.... ¡te admiro!

A la **UMAE #25 del IMSS**, al Dr. Ezequiel Herrera jefe del servicio de Cirugía Oncológica y sobre todo a la **Dra. Irma Sandra García**, finísima persona, agradezco enormemente el compromiso y la fé ciega para este proyecto, sin dejar de lado a su equipo de residentes, a la Dra. Evelin Cuevas, Dr. Antonio Palacios, y con especial mención y con todo el respeto que se merece al **Dr. José Luis Vázquez** le agradezco su tiempo, paciencia, aprendizaje y sobretodo su compromiso con su profesión y sus pacientes.

Al **Dr. Daniel Adame Coronel** por ser el primero en escucharme, apoyarme y estar al pendiente durante el tiempo que duró de residente de Cirugía General del HU, agradeceré por siempre su disposición, su capacidad de ser humano, una gran persona a la cual deseo enormemente todo lo bueno en esta vida.

A mis amigos que han soportado y entendido mis ausencias, por apoyarme, en especial a la **Dra. Blanca Álvarez**, por ser una persona muy especial en mi vida, por concederme conocer el valor de la amistad y del apoyo incondicional,

a pesar de nuestras diferencias, peleas, siempre estaremos pendiente una de la otra.

Al **M.C Kame Galán, M.C Alejandro Robles**, que Dios y la vida sin querer se confabularon para que seamos grandes amigos. A **Jorge Ortega** “mi hijo” por ser un gran ejemplo de vida.

A **Bioquímica Pregrado**, a todos y cada uno que forman este gran equipo de trabajo, a M.C Alma Rosa Cruz, M.C Dolores Esquivel, Nancy Venegas, Oscar García, David Rubio, Diego Medellín, Victoria Rincón, QCB. Luis Trujillo por su apoyo.

A la **M.E.S Blanca Alemán de Puente**, por estar al pendiente de mi, por sus consejos, también por creer en mí.

Es probable que no haya mencionado a muchas personas que directa o indirectamente han estado presente en este proyecto, sin embargo, no olvido su ayuda, su apoyo, sus buenos deseos, por lo que les agradezco el ser parte de esta gran experiencia, que espero genere frutos grandes en beneficio de la sociedad.

Gracias

ÍNDICE GENERAL

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	iii
ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	vi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	
1.1 Importancia epidemiológica del CCR	1
1.1.1. En el Mundo.....	1
1.1.2. En México.....	2
1.1.3. En la Frontera con Estados Unidos.....	2
1.1.4. En Nuevo León.....	2
1.2. Anatomía del sistema digestivo.....	3
1.3. Factores de riesgo para contraer CCR	3
1.3.1. Factores de riesgo no modificables.....	3
1.3.1.1. Sexo.....	4
1.3.1.2. Edad.....	4
1.3.1.3. Factores hereditarios y síndromes.....	4
1.3.1.3.1. Poliposis coli.....	4
1.3.1.3.2. CCR hereditario no asociado a poliposis.....	5
1.3.1.3.3. Enfermedad inflamatoria intestinal.....	5
1.3.2. Factores de riesgo modificables	6
1.3.2.1. Dieta.....	6
1.3.2.1.1. Dieta alta en grasas animales	6
1.3.2.1.2 Dieta alta en calorías e inactividad física	6
1.3.2.1.3. Dieta pobre en fibra.....	7
1.3.2.2. Tabaquismo.....	7
1.3.2.3. Alcoholismo.....	7
1.4. Cáncer del tracto gastrointestinal.....	7
1.5. Patogenia del CCR.....	8
1.5.1. Pólipos.....	8
1.5.2. Displasia de la mucosa colorrectal.....	8
1.6 Histopatología.....	9
1.6.1. Clasificación histopatológica del CCR.....	9
1.6.1.1. Pólipos.....	9
1.6.1.2. Adenocarcinomas colorrectales	9
1.6.1.3 Tumores carcinoides.....	10
1.6.1.4. Tumores del estroma gastrointestinal.....	10
1.6.1.5. Linfomas.....	10
1.6.1.6. Sarcomas.....	11

1.7. Clasificación por estadios del CCR.....	11
1.8. Cuadro clínico del CCR.....	14
1.9. Diagnóstico del CCR.....	14

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1. Diagnóstico de CCR en México.....	16
2.2. Tratamiento del CCR.....	16
2.3. Esquemas quimioterapéuticos usados para tratar CCR según sus estadios	17
2.4. Escala de Karnofsky (EK).....	19
2.5. Determinación de la sensibilidad a agentes quimioterapéuticos de células tumorales.....	20
2.5.1. ATP-CRA.....	21

CAPITULO 3. HIPÓTESIS.....

CAPITULO 4. JUSTIFICACIÓN.....

CAPÍTULO 5. OBJETIVOS

5.1. Objetivos generales.....	26
5.1.1. Fase 1.....	26
5.1.1.1. Objetivo 1.....	26
5.1.1.2. Objetivo 2.....	26
5.1.2. Fase 2.....	26
5.1.1.3. Objetivo 3.....	26
5.2. Objetivos particulares.....	27
5.2.1. Fase 1.....	27
5.2.1.1. Objetivo 1.....	27
5.2.1.2. Objetivo 2.....	27
5.2.1.3. Objetivo 3.....	27
5.2.2. Fase 2.....	27
5.2.1.1. Objetivo 4.....	27

CAPÍTULO 6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Clasificación de los estudios.....	28
6.2. Población de estudio	28
6.2.1. Criterios de inclusión.....	28
6.2.2. Criterios de exclusión.....	29
6.2.3. Criterios de eliminación.....	29
6.3. Método de reclutamiento.....	29
6.4. Diagnóstico.....	31
6.5. Tratamiento de pacientes.....	31
6.6. Características socio-demográficas, clínicas y factores de riesgo de la población blanco.....	33
6.7. Bioensayos de citotoxicidad.....	33
6.7.1. Obtención de muestras tumorales.....	33

6.7.2. Bioensayos	36
6.7.3. Determinación de la citotoxicidad de 5FUOL.....	37
6.8. Interpretación de los resultados con controles.....	39
6.9. Análisis estadístico.....	40
6.10. Aspectos éticos.....	41

CAPÍTULO 7 RESULTADOS

7.1. RESULTADOS DE DE LA FASE 1.....	42
7.1.1 Características socio-demográficas de la población de estudio.....	42
7.1.1.1 Instituciones participantes.....	42
7.1.1.2. Factores de riesgo.....	43
7.1.1.2.1. Factores de riesgo no modificables.....	43
7.1.1.2.1.1 Sexo	43
7.1.1.2.1.2. Edad.....	43
7.1.1.2.1.3. Antecedentes familiares de cáncer.....	44
7.1.1.2.2 Factores de riesgo modificables.....	44
7.1.1.2.2.1. Diabetes mellitus.....	44
7.1.1.2.2.2. Hipertensión arterial.....	45
7.1.1.2.2.3. Inflamación intestinal.....	45
7.1.1.2.2.4. Depresión.....	45
7.1.1.2.2.5. Consumo de fibra vegetal.....	45
7.1.1.2.2.6. Tabaquismo.....	45
7.1.1.2.2.7. Alcoholismo	46
7.1.1.2.2.8. Consumo de carnes rojas.....	46
7.1.1.2.2.9. Consumo de grasa animal.....	46
7.1.1.3. Hallazgos clínicos.....	47
7.1.1.3.1. Localización anatómica del CCR.....	47
7.1.1.3.2. Estadios.....	47
7.1.1.3.3. Metástasis.....	49
7.1.1.3.4. Estadio de salud inicial.....	49
7.1.1.3.5. Presencia de pólipos.....	52
7.1.1.4. Tratamiento.....	52
7.1.1.4.1. Radioterapia.....	52
7.1.1.4.2. Quimioterapia.....	52
7.1.1.4.3. Tratamientos alternativos utilizados espontáneamente por los pacientes.....	54
7.1.1.5. Sobrevida de los pacientes después de inicio de tratamiento.....	55
7.1.1.6. Correlación de la evolución de la salud de los pacientes con CCR con los factores clínicos y de riesgo.....	55
7.2. RESULTADOS DE LA FASE 2	
7.2.1. Sensibilidad o resistencia a 5FUOL de los cultivos primarios a 5FUOL.....	56

CAPÍTULO 8 DISCUSIÓN.....	58
CAPÍTULO 9 CONCLUSIONES.....	68
CAPITULO 10 PERSPECTIVAS.....	70
CAPÍTULO 11 ANEXOS.....	71
CAPÍTULO 12 REFERENCIAS	76

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINA
1	Formato historia clínica	30
2	Proceso de las muestras de CCR durante los bioensayos de citotoxicidad	38
3	Representación gráfica de placa de 96 pozos con distribución de las células de cultivo primario de CCR	39
4	Distribución de pacientes por institución de salud	42
5	Distribución de pacientes por sexo	43
6	Distribución de pacientes por edad	44
7	Distribución de pacientes por antecedente familiar de cáncer	45
8	Distribución de tumores primarios de CCR según su localización anatómica	47
9	Distribución de tumores primarios de CCR por su estadio tumoral	48
10	Distribución de pacientes por presencia de metástasis	50
11	Distribución de pacientes por valor en escala de karnofsky	51

12	Cambios en EK a 12 meses de tratamiento	53
13	Sobrevida de pacientes después del inicio del tratamiento	56
14	Sensibilidad de tumores CCR a 5FUOL	57

LISTADO DE TABLAS

TABLA	CONTENIDO	PÁGINA
1	Tratamiento recomendado por la American Cancer Society según el estadio del cáncer de colon y cáncer de recto.	18
2	Escala de Karnofsky	20
3	Tratamientos que recibieron los pacientes con diagnóstico de CCR	32
4	Factores de riesgo, variables clínicas y tipos de tratamiento	34
5	Frecuencia y codificación de la presencia de factores de riesgo modificables	46
6	Distribución de los adenocarcinomas primarios por su clasificación histopatológica	49
7	Tratamientos utilizados por los pacientes como adyuvantes de su tratamiento convencional	55

ABREVIATURAS

5FU	5-Fluorouracilo
5-FUOL	5-Fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina
A+A	Antibiótico más antimicótico
ACCR	Adenocarcinoma colorrectal
APC	Gen de la poliposis adenomatosa familiar
ATP	Adenosine triphosphate
ATP-CRA	Adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay
BFOL	5FU bolo + oxaliplatino + Ácido Folínico
C	Código
CCR	Cáncer colorrectal
CO ₂	Dióxido de carbono
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
EK	Escala de Karnofsky
FOLFOX	Quimioterapia a base de 5FU+leucovorina+oxaliplatino
HU	Hospital Universitario
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
LC	Letalidad Celular
LCT	Luminiscencia células tratadas

M/F-CCRr	Relación del número de pacientes del sexo masculino / número de pacientes del sexo femenino con diagnóstico de CCR
PLCST	Promedio luminiscencia células sin tratamiento
PMC	Porcentaje de muerte celular
Px	Pacientes
RHNM	Registro histopatológico de neoplasias malignas
SBF	Suero bovino fetal
TNM	(T) tumor primario (N) ganglios linfáticos (M) metástasis
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UMAЕ	Unidad Médica de Altas Especialidades
Vol	Volumen
XELODA	Quimioterapia Capecitabina
XELOX	Esquema quimioterapéutico a base de Capecitabina y Oxaliplatino

RESUMEN

M.C.P. Paulina Delgado González

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José E. González”

Candidato al grado de Doctorado en Medicina

Título. Estudio sociodemográfico y clínico de CCR en Nuevo León y análisis de la sensibilidad a medicamentos de primera línea en cultivos primarios de tumores colorrectales.

Introducción. En 2012, el cáncer colorrectal (CCR) ocupó el tercer lugar en incidencia mundial, con 1.36 millones de nuevos casos. México, reportó, en 2012, 8,651 nuevos casos. Sin embargo, no existen en México, datos epidemiológicos actualizados de CCR. El CCR se diagnostica usualmente en estadios avanzados (III-IV), en detrimento de la calidad y la extensión de la supervivencia de los pacientes. En casos avanzados de CCR se recomienda la remoción quirúrgica de los tumores primarios y quimioterapia con esquemas estandarizados. Uno de los más utilizados es el FOLFOX-6, en el que se administra 5-fluorouracilo, oxaliplatino y leucovorina. Se han realizado estudios *in vitro* de sensibilidad de células cancerosas a diversos medicamentos mediante el uso del ATP-CRA (*adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay*), con la finalidad de predecir la eficacia de dichos fármacos. Sin embargo, los ensayos *in vitro* de sensibilidad a medicamentos contra el cáncer, aún tienen una escasa aplicación clínica, fundamentalmente porque en varios estudios las pruebas respectivas se realizaron con cultivos primarios enriquecidos en células cancerosas, es decir se han eliminado la mayor parte de las células asociadas al tumor y estas células confieren resistencia a medicamentos contra el cáncer. De modo que el ATP-CRA aún necesita adaptaciones para su uso clínico y una evaluación exhaustiva de su sensibilidad y especificidad. Un prerrequisito para dicho desarrollo era realizar un análisis preliminar de la especificidad del ATP-CRA—habilidad para distinguir entre cultivos primarios de tumores de CCR sensibles y resistentes a medicamentos de primera línea contra este tipo de cáncer. **Objetivos.** Este estudio constó de dos fases. **Fase 1. Objetivo 1.** Describir los hallazgos clínicos y las características sociodemográficas del CCR en el Noreste de México y estimar la correlación de las variables sociodemográficas y clínicas con el deterioro en el desempeño físico de los pacientes, mediante la aplicación de la escala de Karnofsky. **Fase 2. Objetivo 2.** Implementar y hacer una evaluación preliminar de la confiabilidad del ATP-CRA para distinguir entre cultivos primarios sensibles y resistentes a los fármacos utilizados en FOLFOX-6 (5-fluorouracilo, oxaliplatino y leucovorina [5FUOL]). **Justificación sobre las fases 1 y 2.** La alta mortalidad y relativamente corta supervivencia de los pacientes en estadios avanzados requería un estudio epidemiológico para conocer las causas principales correlacionadas con el deterioro físico de los pacientes. Una de estas causas, reconocidas mundialmente, es la resistencia a fármacos de primera línea. Por ello el análisis de susceptibilidad a fármacos de primera línea contra el CCR es un prerrequisito para contar con un método que prediga el éxito o el fracaso del esquema quimioterapéutico elegido por el oncólogo. **Justificación sobre ambas fases. Material y Métodos de la fase I, objetivo 1.** Se analizaron los datos sociodemográficos y clínicos de 40 pacientes con diagnóstico de CCR tratados en el Hospital Universitario “Dr. José E. González” y en la Unidad Médica de Altas Especialidades No. 25 del IMSS. Para ello se construyó una base de datos con la información sociodemográfica y clínica de los pacientes participantes y la colectada durante 12 meses. Esto último se hizo para valorar cambios en el desempeño físico

de los pacientes, mediante la escala de Karnofsky. Los tumores primarios se extirparon quirúrgicamente y se les realizó un estudio anatómopatológico e histopatológico. **Material y métodos de la fase 2 objetivo 2.** Se obtuvieron muestras de los tumores de CCR de los pacientes participantes y con ellas se realizaron cultivos primarios; cuya sensibilidad a 5-fluoracilo, oxaliplatino y leucovorina—a concentraciones equivalentes a las máximas alcanzadas en plasma—se determinó mediante ATP-CRA. Se consideraron sensibles los cultivos que mostraron 30% o más de letalidad y resistentes, aquellos cultivos que mostraron una letalidad igual o menor al 30%. Para valorar la especificidad preliminar de ATP-CRA se incluyeron estándares de ATP. Como controles positivos se utilizaron cultivos de la línea de adenocarcinoma colorrectal COLO 320DM (sensible a 5FUOL). Mediante una prueba de Spearman se analizó la correlación entre todos los parámetros socio-demográficos y clínicos y el cambio en el desempeño físico de los pacientes a los 12 meses de iniciado el tratamiento. Para ello se aplicó la escala de Karnofsky. **Resultados de la fase 2 objetivo 1:** el 73% de los pacientes eran hombres y el 27% mujeres; el 57.5% de los pacientes tenía una edad de 50-69 años, el 17.5% era menor de 50 años y el 25% mayores de 69 años. El 52% de los tumores se localizó en el colon y el 48% en el recto. Todos los tumores fueron adenocarcinomas; al iniciar su tratamiento, el CCR del 65% de los pacientes estaban en estadios III o IV, el 35% en estadios tempranos (I-II). **Resultados de la fase 2. objetivo 2:** Los cultivos primarios de todos los tumores eran axénicos y viables al momento de realizar las evaluaciones. El 20% de los cultivos primarios de CCR resultó sensible y el 80% resistente a la mezcla de fármacos de XELOX-6. **Conclusiones:** 1) Se describieron los datos socio-demográficos del CCR en una población del CCR en Nuevo León, lo cual contribuye significativamente al conocimiento de la epidemiología del CCR en México y en el Norte de nuestro país. El estadio avanzado de CCR y la presencia de pólipos en CCR estadio III, se correlacionaron significativamente con cambios no favorables del desempeño físico de los pacientes 2) Los cultivos primarios de CCR son aptos para ser evaluados mediante ATP-CRA. Los resultados predecibles de los estándares usados en el ATP-CRA fueron los esperados. El ATP-CRA fue capaz de distinguir entre cultivos sensibles y resistentes. Puede ahora darse el siguiente paso para valorar la especificidad y sensibilidad en pacientes con CCR, y el poder de ATP-CRA para predecir el resultado clínico de la quimioterapia.

Dra Herminia Gpe Martínez Rodríguez

Directora de Tesis

Dr C Salvador Luis Said y Fernández

Co-Director de Tesis

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DEL CCR

1.1.1. En el mundo. El cáncer es una de las principales causas de muerte. Su incidencia ocupa el tercer lugar, debajo de la hipertensión arterial y la diabetes mellitus.

Entre los diferentes tipos de cáncer, en 2012, el cáncer colorrectal (CCR) fue el tercero más frecuente en el mundo, con aproximadamente 1.36 millones de nuevos casos y el cuarto más mortal, con 694,000 muertes¹

Las tasas más altas de incidencia de CCR se encuentran en Corea, Eslovaquia y Hungría, Estados Unidos, Europa Occidental, Australia y Nueva Zelanda. Corea, Eslovaquia y Hungría tienen la mayor prevalencia de CCR.

Globocan, un proyecto de la International Agency for Research on Cancer perteneciente a la Organización Mundial de la Salud (OMS), tiene la misión de estimar la incidencia, mortalidad y prevalencia del cáncer en el ámbito mundial. Globocan reporta que por edad, en ambos sexos el CCR se presenta a una edad media de 45 años. Eslovaquia es el país con más casos en hombres, con una edad media es de 61.6 años. En cambio, en Noruega, el sexo femenino ocupa el primer lugar en prevalencia de CCR con un promedio de edad de 35.8 años².

1.1.2. En México. Globocan registró, en 2012, 8,651 nuevos casos of CCR. Sin embargo, esta información no abarca completamente al país. En México no están disponibles estadísticas actualizadas sobre CCR. Los artículos publicados sobre la epidemiología del CCR son escasos y antiguos. Es por eso que, en México, se utiliza el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM) como la fuente más confiable de datos epidemiológicos sobre el cáncer.

Los oncólogos y patólogos notifican sistemáticamente al RHNM los casos nuevos de cáncer y los decesos por esta enfermedad. El reporte más reciente del RHNM se publicó en 2011³. De acuerdo con dicho reporte, en 2008, en México hubo 67,048 muertes debidas a tumores malignos; 4,031 de esas muertes se debieron a CCR. Por lo tanto, en 2008 la mortalidad por CCR representó 6.01% del total de muertes causadas por tumores malignos. Se estima que el CCR ocupa el décimo lugar entre las neoplasias en general y el segundo lugar dentro de las neoplasias del sistema gastrointestinal⁴

1.1.3. En la frontera con Estados Unidos ocurrieron en 2007, 798 muertes en los Estados que forman la frontera Norte de México. Esta cifra representa el 24% del total de muertes en México causadas por el CCR. La mayor parte de decesos ocurrieron en Chihuahua, Nuevo León y Baja California, con 166,150 casos y 135 muertes³.

1.1.4. En Nuevo León. En 2002 la tasa de mortalidad por CCR fue 2.6%. El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica en México reportó que en 2008 hubo una tasa de mortalidad de 3.4% en Nuevo León por cáncer de colon³. En

2005, el CCR ocupó el segundo lugar entre las neoplasias del tubo digestivo con 550 casos. Lo cual representó un incremento del 17% en incidencia del CCR durante la última década³.

1.2. ANATOMÍA DE SISTEMA DIGESTIVO

El sistema digestivo. Es el encargado de digerir alimentos y de absorber nutrientes y agua; está compuesto por la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el colon, el recto y el ano. El colon se encarga de absorber agua y sales de los alimentos y almacena la materia fecal. El colon consta de cuatro secciones: colon ascendente, colon transverso, colon descendente y colon sigmoide. El colon ascendente comienza con el ciego; que es el lugar de unión del intestino delgado con el colon. El colon transverso se extiende a través del cuerpo del lado derecho al izquierdo en el abdomen superior. El colon descendente continúa hacia abajo del lado izquierdo del abdomen y el colon sigmoide, que tiene forma de “s” se continúa con el recto y ano⁵.

1.3. FACTORES DE RIESGO PARA CONTRAER CCR

Los factores de riesgo del CCR pueden clasificarse en dos categorías, los no modificables y los modificables⁶

1.3.1. Factores de riesgo no modificables

Los factores de riesgo no modificables son aquellos que están determinados genéticamente y el individuo no puede hacer nada para modificarlos. Los

factores de riesgo no modificables más importantes son los siguientes: sexo, edad, factores hereditarios y síndrome de Lynch.

1.3.1.1. Sexo. En general, la incidencia de CCR es ligeramente mayor en hombres que en mujeres⁷

1.3.1.2. Edad. El CCR afecta preferentemente a la población de 50 años⁸ o más; pero existe un porcentaje, considerable y creciente, de individuos menores de 40 años con CCR.

1.3.1.3. Factores hereditarios y síndromes. Más del 25% de los pacientes con CCR tienen antecedentes familiares de la patología, sugiriendo una predisposición hereditaria. Algunos de los padecimientos hereditarios más importantes son la poliposis coli, el CCR hereditario no asociado a poliposis y enfermedad inflamatoria intestinal.

1.3.1.3.1. Poliposis coli. Esta enfermedad es conocida como poliposis familiar del colon. Es una condición rara, caracterizada por la presencia de miles de pólipos adenomatosos a lo largo del intestino grueso. La poliposis familiar del colon, es una enfermedad autosómica dominante. Los pólipos raramente se presentan antes de la pubertad y generalmente se hacen evidentes en pacientes con edades alrededor de los 25 años. Si los pólipos no son tratados quirúrgicamente, el CCR puede desarrollarse en estos pacientes antes de los 40 años. Este síndrome resulta de un defecto de la mucosa. El tratamiento es quirúrgico, mediante una colectomía total⁹.

1.3.1.3.2. CCR hereditario no asociado a poliposis. Este tipo de cáncer es conocido también como síndrome de Lynch. Se caracteriza por que lo padecen tres o más familiares. Además, uno o más de los casos de CCR es diagnosticado en algún miembro de la familia antes de que el paciente cumpla 50 años de edad. El síndrome de Lynch afecta por lo menos a dos generaciones; la edad media de aparición del adenocarcinoma es menor a 50 años. Los tumores que se localizan en la porción proximal del colon en el síndrome de Lynch tienen mejor pronóstico que los tumores esporádicos de los pacientes de la misma edad¹⁰.

1.3.1.3.3. Enfermedad inflamatoria intestinal. La denominación enfermedad inflamatoria intestinal, que se abrevia frecuentemente como EII, se emplea para referirse a una serie de problemas que afectan predominantemente al intestino, y que se caracterizan porque producen una inflamación crónica, que no tiende a la curación. La enfermedad inflamatoria intestinal agrupa a varias enfermedades; pero, sobre todo, a la enfermedad de Crohn y a la colitis ulcerosa¹¹. Además, algunas personas en las que no está claro si padecen una u otra de estas dos, se las diagnostica colitis indeterminada.

La etiología de la enfermedad inflamatoria intestinal no se conoce bien. El cáncer se desarrolla más comúnmente en pacientes con colitis ulcerativa que los que presentan colitis granulomatosa, el riesgo de CCR en estos pacientes es relativamente bajo durante los primeros 10 años de la enfermedad, teniendo más riesgo de presencia de la neoplasia en pacientes con colitis de más de 25 años de evolución⁸

1.3.2. Factores de riesgo modificables

Los factores de riesgo modificables son aquellos en los que los individuos incurren y que son susceptibles de evitarse o al menos de disminuirse, porque forman parte de su estilo de vida. La etiología del CCR, en la mayoría de las ocasiones, está relacionada con factores modificables. El CCR debido a factores ambientales modificables ocurre con más frecuencia en sociedades con niveles socioeconómicos altos y en ciudades desarrolladas. Algunos de los factores modificables son los siguientes: dieta, (rica en calorías, en carnes rojas y en grasa animal o en carnes procesadas o asadas al carbón y pobre en fibra), sedentarismo, tabaquismo y alcoholismo¹².

1.3.2.1. Dieta. La incidencia y la mortalidad del CCR están relacionadas con alto consumo de carnes rojas y grasas animales. Además, las carnes procesadas favorecen el desarrollo de microflora intestinal; la que, a su vez, incrementa la conversión de ácidos biliares normales en moléculas carcinogénicas¹².

1.3.2.1.1. Dieta alta en grasas animales también está asociada con un alto contenido de colesterol que está implicado en el desarrollo de adenomas colorrectales y carcinomas. Otra teoría relacionada con la dieta es la resistencia a la insulina¹³.

1.3.2.1.2. La Dieta alta en calorías e inactividad física ocasiona obesidad; las personas obesas desarrollan resistencia a la insulina; y por lo tanto, las personas que consumen excesivamente alimentos ricos en calorías y no hacen

ejercicio presentan niveles altos de insulina en sangre, aunado a concentraciones elevadas de IGF-I, que parece estimular la proliferación de la mucosa intestinal¹⁴.

1.3.2.1.3. Dieta pobre en fibra. El efecto preventivo de una dieta alta en fibra puede ser explicado por diversos mecanismos biológicos, entre ellos, aumento en la producción de materia fecal, disminución en el tiempo de tránsito intestinal, interferencia con la absorción de los factores que causan cáncer intestinal y disminución de la acidez intestinal¹⁵.

1.3.2.2. Tabaquismo. El fumar está ligado al desarrollo de adenomas colorrectales particularmente después de más de 35 años de usar tabaco. Los componentes químicos carcinogénicos del humo del tabaco como acetaldehído, benzopirenos, aminas aromáticas y N- nitrosaminas forman aductos uniéndose a moléculas de ADN que interrumpen la función normal del gen y su replicación¹⁶.

1.3.2.3. Alcoholismo. El acetaldehído es el metabolito primario del alcohol y ha demostrado dañar el ADN e interferir con la proliferación celular¹⁷

1.4. CÁNCER DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

Entre todas las estructuras del tracto gastrointestinal, el cáncer afecta con mayor frecuencia al estómago, seguido por colon y el recto. El cáncer del tracto

gastrointestinal muestra una progresión rápida y agresiva, y si no es detectado a tiempo ocasiona la muerte.

1.5. PATOGENIA DEL CCR

1.5.1. Pólipos. La mayoría de las neoplasias colorrectales se desarrollan a lo largo de varios años. El proceso de malignización se inicia con el crecimiento, en la mucosa intestinal, de una malformación que se conoce como pólipo. Los pólipos se consideran benignos en la mayoría de los casos. Existen tres tipos de pólipos: los adenomatosos, que pueden transformarse en cáncer, los pólipos inflamatorios y los pólipos hiperplásicos. Por lo general los pólipos hiperplásicos no son pre-cancerosos; sin embargo, se ha propuesto que éstos pueden ser signos de adenomas y de cáncer, sobre todo, cuando los pólipos hiperplásicos crecen en el colon ascendente.

1.5.2. Displasia de la mucosa colorrectal. La displasia es una afección precancerosa. Se identifica como un área del revestimiento del colon o del recto donde se observan células epiteliales anormales. Estas células anormales pueden convertirse en células cancerosas. La displasia se presenta con mayor frecuencia en pacientes con antecedentes de enfermedades como colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn de larga evolución¹⁸.

Una vez que los pólipos han aparecido las células malignas proliferan, invaden las capas subyacentes del intestino y posteriormente los ganglios linfáticos. Este estadio el CCR es típico y forma un tumor primario sólido, de

dimensiones variables. Dependiendo de la estirpe celular que lo forme será su clasificación histopatológica. La fase final del desarrollo de CCR consiste en la formación de metástasis, principalmente en el hígado¹⁹, pulmón²⁰ o páncreas²¹.

1.6. HISTOPATOLOGÍA

1.6.1. CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL CCR

De acuerdo con sus características histopatológicas, el CCR se clasifica en: adenocarcinomas, tumores carcinoides, tumores del estroma gastrointestinal, linfomas y sarcomas²².

1.6.1.1 Pólipos. Estas lesiones resultan de anomalías en la maduración o la arquitectura de la mucosa o de un proceso de inflamación. Los pólipos son crecimientos anormales de tejido que surgen de la capa interior o mucosa del intestino grueso (colon) y sobresalen al canal intestinal (luz). Algunos pólipos son planos (sésiles) y otros tienen un tallo (pedunculados). Los pólipos son uno de los problemas más comunes que afectan al colon y al recto, y se presentan en el 15 a 20% de la población adulta. Aunque la mayoría de los pólipos son benignos, se ha logrado establecer la relación de ciertos pólipos con el cáncer²². Se considera que los pólipos son las primeras lesiones que aparecen en el CCR²³

1.6.1.2. Adenocarcinomas colorrectales (ACCR). En el ámbito mundial, más del 95% de los tipos de CCR colorrectal son ACCR; los cuales se subdividen en

ACCR-adenomatoso, -papilar, -velloso, -tubular-velloso y -mucinoso. En los Estados Unidos de América, los ACCR se presentan en una frecuencia similar para personas con ascendencia caucásica (96.01%), sudafricana (93.65%) o hispana (94.02%)²⁴. Los ACCR se clasifican como diferenciados o no diferenciados. Los ACCR diferenciados forman estructuras glandulares bien definidas, conocidas como acinos; mientras que los ACCR no diferenciados presentan escasas estructuras glandulares. Cerca del 20% del ACCR corresponde a neoplasias con poco grado de diferenciación²⁵. El 70% de los ACCR son moderadamente diferenciados y se localizan con mayor frecuencia en el colon sigmoides (22%), seguida del recto (18%) y del ciego (17%)²⁴. El 15% de los adenocarcinomas son mucinosos^{26,27}.

1.6.1.3. Tumores carcinoides. Estos tumores se originan a partir de células especializadas productoras de serotonina denominadas células de Kulchitsky. Se encuentran en el íleon²⁸

1.6.1.4. Tumores del estroma gastrointestinal. Estos neoplasmas se originan de células especializadas denominadas células intersticiales de Cajal. Algunos tumores del estroma gastrointestinal son benignos y otros son malignos. Estos tumores suelen localizarse en cualquier parte del tracto digestivo²⁸

1.6.1.5 Linfomas. Los linfomas son neoplasias del sistema inmunológico que se forman generalmente en los ganglios linfáticos, pero se pueden presentar en colon, recto y otros órganos²⁹.

1.6.1.6 Sarcomas. Los sarcomas pueden iniciarse en los vasos sanguíneos, tejido muscular o conectivo de la pared intestinal. Ciertas afecciones hereditarias aumentan el riesgo de padecer sarcomas de tejidos blandos en colon, el Síndrome de Gardner, el cual es una enfermedad causada por defectos en el gen APC (poliposis adenomatosa familiar, por sus siglas en Inglés), los pacientes presentan un aumento en la presencia de pólipos, desarrollando alto riesgo de padecer cáncer en colon.³⁰

1.7. CLASIFICACIÓN POR ESTADIOS DEL CCR

El grado de extensión del tumor primario, la diseminación de células tumorales a ganglios linfáticos y la presencia de CCR en otros órganos, permite clasificar los tumores de CCR por estadios clínicos. Una de las clasificaciones más utilizadas actualmente es la TNM (tumor primario, nódulos linfáticos tomados, metástasis). Una de las características más importantes de la clasificación TNM consiste en la adopción de un criterio numérico para evaluar el grado de afectación ganglionar del cáncer³¹. Esta clasificación ayuda al médico a determinar un tratamiento efectivo para el paciente oncológico, y a emitir un pronóstico de sobrevida³². TNM consiste en clasificar al CCR en cinco estadios: 0, I, II, III y IV.

Estadio 0. Carcinoma in situ- Las células cancerosas se encuentran confinadas en la mucosa del intestino.

Estadio I. Las células cancerosas se encuentran en las capas intermedias del intestino; más no afectan a ganglios linfáticos.

Estadio II. Éste se subdivide en estadios IIA, IIB y IIC.

Estadio IIA. El cáncer se disemina a través de la capa muscular de la pared del colon a la serosa de la pared del colon.

Estadio IIB. El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon, pero aún no se disemina a los órganos cercanos.

Estadios IIC. El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon a órganos cercanos.

Estadio III. Este estadio se subdivide en IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio IIIA. El cáncer se disemina a través de la mucosa de la pared del colon a la submucosa y a la capa muscular de la pared del colon. El cáncer se disemina a por lo menos uno, pero no a más de tres ganglios linfáticos cercanos, o se formaron células cancerosas en los tejidos cercanos a los ganglios linfáticos. El cáncer se disemina a través de la mucosa de la pared del colon a la submucosa. El cáncer se disemina a cuatro, pero no a más de seis ganglios linfáticos cercanos.

Estadio IIIB. El cáncer se disemina a través de la capa muscular del colon a la serosa de la pared del colon o se disemina a través de la serosa, pero no a órganos cercanos. El cáncer se disemina a uno, pero no a más de tres ganglios linfáticos cercanos o se formaron células cancerosas en los tejidos cercanos a

los ganglios linfáticos. El cáncer se disemina a la capa muscular de la pared del colon o a la serosa de la pared del colon. El cáncer se disemina a por lo menos cuatro, pero no a más de seis ganglios linfáticos cercanos. El cáncer se disemina a través de la mucosa de la pared del colon a la submucosa y se puede diseminar a la capa muscular de la pared del colon. El cáncer se disemina a siete o más ganglios linfáticos cercanos.

Estadio IIIC. El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon, pero no se diseminó a órganos cercanos. El cáncer se disemina a por lo menos cuatro, pero no más de seis ganglios linfáticos cercanos. El cáncer se disemina a través de la capa muscular de la pared del colon a la serosa de la pared del colon o se disemina a través de la serosa, pero no se disemina a órganos cercanos. El cáncer se disemina a siete o más ganglios linfáticos cercanos. El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon y se disemina a órganos cercanos. El cáncer se disemina a uno o más ganglios linfáticos cercanos, o se formaron células cancerosas en los tejidos cercanos a los ganglios linfáticos.

Estadio IV. El cáncer se disemina a ganglios linfáticos cercanos y a órganos como hígado y pulmón.

Los estadios III y IV se consideran avanzados por las características de diseminación que presenta el CCR, teniendo poca sobrevida.

1.8. CUADRO CLÍNICO DEL CCR

En los primeros estadios del CCR no hay síntomas. En estadios avanzados los principales síntomas son hemorragia, dolor rectal y cambios en los hábitos de las evacuaciones. El cuadro clínico guarda relación con el tamaño y localización del tumor³³. Los tumores que se encuentran en el intestino grueso del lado derecho, a menudo son asintomáticos; pero se acompañan con hemorragia oculta en heces. Los tumores de ciego y colon ascendente rara vez se obstruyen al inicio, las alteraciones en los hábitos de evacuaciones con disminución en el calibre de las heces o estreñimiento progresivo y hematoquezia (sangre en las heces) son más comunes en tumores que se localizan en el lado izquierdo del intestino grueso. Los carcinomas de recto o ano, se manifiestan con rectorragia (pérdida de sangre fresca a través del ano, bien sea sola o mezclada con las heces), dolor perineal o cambio en las evacuaciones fecales. Otro signo muy importante que hace pensar en la presencia de CCR es la anemia ferropriva; la cual se detecta en estudios de laboratorio de rutina (biometría hemática)^{34,35}.

1.9 DIAGNÓSTICO DEL CCR

En países en vías de desarrollo, el CCR, por lo general, se detecta en estadios avanzados (III-IV) en contraste con países desarrollados donde se diagnostica en estadios tempranos. Esto, gracias a la cultura médica de sus poblaciones lo que permite iniciar un tratamiento específico de forma oportuna³⁶.

La anamnesis y el examen físico cuidadoso, aunados al uso selectivo de pruebas de laboratorio y estudios de imagen, facilitan el diagnóstico de CCR. Uno de los procedimientos más utilizados—por ser no-invasivo y por ser un procedimiento básico—es la detección de sangre oculta en heces (hemocult). Por otro lado, para valorar a pacientes con signos y síntomas muy sugestivos de CCR, el método preferente es la colonoscopia; la cual permite visualizar las lesiones tumorales. La colonoscopia es un método sensible, que permite detectar adenomas, tumores cancerosos pequeños y cáncer sincrónico. Además, la colonoscopia puede utilizarse para remover adenomas pequeños y para tomar biopsias de tumores desarrollados lo cual, a su vez permite realizar un diagnóstico histopatológico definitivo. Sin embargo, la colonoscopia es invasiva y costosa^{37;38}.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1. DIAGNÓSTICO DEL CCR EN MÉXICO

En México más del 70% de los casos de CCR se diagnostica en estadios avanzados (III o IV). En parte, esto se debe a que el CCR es asintomático en sus primeros estadios y en estadios avanzados, sus signos y síntomas se confunden con múltiples patologías como inflamación intestinal, gastroenteritis o constipación.

2.2. TRATAMIENTO DEL CCR

El tratamiento depende del tamaño del tumor primario y del estadio del CCR: si el tamaño del tumor primario lo permite, y el estadio del cáncer es temprano, el tratamiento de primera elección es la remoción quirúrgica de la lesión neoplásica. En cambio, si el tumor tiene un tamaño que no permita su extirpación es necesario realizar una hemicolotomía o resección del recto mediante una resección abdomino-perineal; y si los estadios tumorales son tardíos (III-IV) con metástasis presente (IV) debe iniciarse un esquema de quimioterapia, la radioterapia se utiliza con la finalidad de reducir el tamaño del tumor para poder programar en un futuro al paciente a un procedimiento quirúrgico.

La elección y sostenimiento del tratamiento quimioterapéutico dependerá del estado de salud del paciente, de la respuesta inmunológica frente a la neoplasia y de los efectos secundarios a corto y largo plazo de los agentes quimioterapéuticos³⁹.

En el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, el esquema que se utiliza con mayor frecuencia es el FOLFOX-6 modificado; en el cual se utiliza 5-Fluouracilo, (5-FU), oxaliplatino y leucovorina (5FUOL) con la siguiente posología: el día 1 se le aplica al paciente 85 mg/m² de oxaliplatino junto con 400 mg/m² durante dos horas de leucovorina y 400 mg/m² en bolo de 5-Fluouracilo seguido de 2400 mg/m² por 46 h, esto cada dos semanas, y el ciclo es dependiente de cada paciente

En la Unidad Médica de Altas Especialidades No. 25 (UMAE #25) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), institución de salud participante en este proyecto, el esquema utilizado consiste en el uso del FOLFOX, y también de tratamiento por vía oral llamado XELODA. El medicamento que se utiliza en el XELODA es capecitabina 1000 mg/m², esquema también utilizado en ocasiones en el HU, también la UMAE #25 aplica el esquema XELOX, que es la combinación de 130 mg de oxaliplatino/m² el día uno, más 1000 mg de capecitabina/m² del día 1 al 14, descansando 7 días y se repite el ciclo.

2.3. ESQUEMAS QUIMIOTERAPÉUTICOS USADOS PARA TRATAR EL CCR, SEGÚN SUS ESTADIOS

La Tabla 1 (pág. 18) muestra el tratamiento recomendado por la *American Cancer Society*⁴, según el estadio del cáncer de colon o cáncer de recto. En el estadio 0 sólo

Tabla1. Tratamiento del cáncer colorrectal recomendado por la *American Cancer Society* según el estadio del cáncer de colon y cáncer de recto⁴

Estadio	CÁNCER DE COLON	CÁNCER DE RECTO
0	Cirugía	Cirugía (Polipectomía)
II	<p>Cirugía</p> <p>Quimioterapia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si hay factores de recidiva 5FU+leucovorina XELODA (capecitabina) 	<p>Cirugía</p> <p>Quimioterapia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antes de la cirugía 5FU o XELODA • Después de la cirugía FOLFOX (5FU+leucovorina+oxaliplatino; 5FU+leucovorina o XELOX o XELODA (capecitabina) <p>Radioterapia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antes de la cirugía
III	<p>Cirugía más Quimioterapia XELOX (capecitabina+oxaliplatino) o FOLFOX (5FU+leucovorina+oxaliplatino) o 5FU-leucovorina o XELODA más Radioterapia</p>	<p>Quimioterapia: Antes y después de la cirugía, FOLFOX o 5FU+leucovorina o XELODA más Radioterapia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antes de la cirugía más Cirugía
IV	<p>Quimioterapia (Antes y después de cirugía)</p> <p>Cirugía</p> <p>Radioterapia¹ (Ayudar o prevenir los síntomas)</p>	<p>Existen tres situaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cirugía para remover la lesión y tumores distantes • Quimioterapia →Cirugía→ quimioterapia y radioterapia • Quimioterapia y radioterapia →cirugía→ quimioterapia

estos esquemas quimioterapéuticos los pacientes no tendrían ni siquiera la corta sobrevida característica del CCR en estadios avanzados (III-IV).

Se recomienda la extirpación quirúrgica de los pólipos, independientemente del sitio donde se haya localizado las lesiones cancerosas. La quimioterapia en

todos los casos consiste en aplicar FOLFOX, XELOX o XELODA más cirugía y radioterapia en estadio II de cáncer de recto y en cáncer de recto o de colon en estadios III y IV.

Los informes publicados sobre el porcentaje de éxitos o fracasos obtenidos con cada esquema de tratamiento, dependen de la susceptibilidad de las células cancerosas a la combinación de los fármacos utilizados, a la dosis y a la velocidad con la que éstos se metabolizan.⁴⁰

Los esquemas quimioterapéuticos estandarizados actuales ofrecen un efecto anticanceroso que es aceptable, aunque no siempre eficaz; y por otro lado, estos esquemas producen efectos colaterales graves. Sin embargo, la aplicación de estos tratamientos es, por ahora, éticamente correcta; porque sin estos esquemas quimioterapéuticos los pacientes no tendrían ni siquiera la corta sobrevida característica del CCR en estadios avanzados (III-IV).

2.4. ESCALA DE KARNOFSKY

La escala de Karnofsky⁴¹ (EK) es un instrumento para valorar la capacidad funcional del paciente oncológico. La EK evalúa, en porcentajes, la capacidad de los pacientes para realizar actividades cotidianas en el trabajo y en el hogar, también clasifica la severidad de signos y síntomas de la enfermedad. La Tabla 2 (pág. 20), muestra dicha escala. Una puntuación de 100 corresponde a un desempeño normal de los pacientes, los cuales están prácticamente

asintomáticos. La puntuación descendente en una escala de 10 puntos en 10 puntos hasta llegar al 0, que corresponde al paciente fallecido.

2.5. DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS DE CÉLULAS TUMORALES

Se han propuesto un gran número de opciones terapéuticas para tratar el CCR, sin embargo, la respuesta a los agentes antineoplásicos de primera línea o a los

Tabla 2. Escala de Karnofsky	
100	Normal no hay evidencia de enfermedad
90	Capaz de llevar a cabo actividad normal pero con signos o síntomas leves
80	Actividad normal con esfuerzo, algunos signos y síntomas de enfermedad
70	Capaz de cuidarse, pero incapaz de llevar a cabo actividad normal o trabajo activo
60	Requiere atención ocasional, pero es capaz de satisfacer la mayoría de sus necesidades
50	Necesita ayuda importante y asistencia médica frecuente
40	Incapaz, necesita ayuda y asistencia especial
30	Totalmente incapaz, necesita hospitalización y tratamiento de soporte activo
20	Muy gravemente enfermo, necesita tratamiento activo
10	Moribundo
0	Muerto

compuestos alternativos hacen necesario el desarrollo de métodos que puedan predecir la respuesta al tratamiento; por lo que es importante disponer de un bioensayo confiable y adaptado al uso clínico, utilizando cultivos primarios de

células tumorales del paciente, exponiéndolos a los agentes quimioterapéuticos y evaluar su sensibilidad, lo que puede permitir crear terapias individualizadas para obtener una mayor eficacia en el tratamiento, prolongar y mejorar la calidad de vida del paciente. Para ello se requiere que los cultivos primarios estén viables y en excelentes condiciones durante el tiempo que dure el ensayo, que no haya contaminaciones con microorganismos (que estén axénicos) y que las células cancerosas estén co-cultivadas con las células asociadas de tumor. Esto es porque las células asociadas al tumor le ayudan a las células cancerosas a sobrevivir y a resistir el efecto citotóxico de los medicamentos anti-cancerosos. Existen diversos métodos que permiten evaluar la sensibilidad de las células neoplásicas frente a los agentes quimioterapéuticos. Algunos de los más utilizados son la determinación de la exclusión de azul de tripano,⁴² la reducción de MTT⁴³ y la cuantificación intracelular de ATP por luminiscencia.⁴⁴

2.5.1 ATP-CRA. El método que nosotros empleamos en el presente estudio es el ATP-CRA (*adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay*) por ser muy sensible y específico. El ATP-CRA se basa en la medición de quimioluminiscencia, la cual es proporcional a la concentración intracelular de ATP por efecto del sistema luciferina-luciferasa^{44;45}. A su vez, la concentración de ATP intracelular es proporcional a la viabilidad de las células en los ensayos. Por otro lado, la viabilidad celular disminuye en función de la citotoxicidad de los fármacos. Las ventajas del ATP-CRA son las siguientes: se requiere una

cantidad pequeña de células de 2,000 a 20,000, lo cual ofrece una enorme ventaja en bioensayos donde se utilizan biopsias humanas⁴⁶. Este método se ha usado en ensayos de sensibilidad *ex vivo* de cultivos primarios de cáncer de ovario⁴⁷, pulmón⁴⁸ colon y recto⁴⁶ con resultados alentadores. En trabajos previos, los cultivos de células cancerosas se consideraron sensibles al efecto citotóxico de los agentes quimioterapéuticos ensayados, cuando la concentración intracelular de ATP disminuyó 30% con respecto a la de los testigos no tratados⁴⁸.

Un aspecto importante sobre el ATP-CRA consiste en que este método se ha utilizado con cultivos primarios enriquecidos en células cancerosas, sin embargo, es bien conocido que las células asociadas a tumor confieren resistencia a las células cancerosas y les ayudan a sobrevivir en circunstancias desfavorables para ellas. Entonces, la forma de realizar estos ensayos con cultivos primarios de tumor debía ser modificada.

CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS

1. Los principales indicadores sociodemográficos y clínicos de Nuevo León muestran diferencias con respecto a los del resto del país y del mundo.
2. Al menos uno de los parámetros sociodemográficos o clínicos está relacionado con el empeoramiento de la salud de los pacientes con CCR.
3. El ATP-CRA es apto para diferenciar entre cultivos primarios sensibles y resistentes a los fármacos utilizados en FOLFOX-6 que contienen todas las células de los tumores primarios y no preferentemente células cancerosas.

CAPÍTULO 4

JUSTIFICACIÓN

Fase 1.

1. **Sobre la epidemiología del CCR.** En México existen escasos reportes sobre la epidemiología del CCR, éstos son antiguos y no cubren integralmente al territorio nacional. En Nuevo León no existe literatura reciente sobre las principales variables sociodemográficas y clínicas del CCR. Entonces, fue necesario realizar un estudio epidemiológico en Nuevo León, que contribuyera al conocimiento de este problema en el ámbito nacional y aportara datos actuales en nuestro Estado sobre la epidemiología del CCR.
2. La importancia de los factores de riesgo del CCR es bien conocida. Sin embargo, son escasos los estudios que se han realizado para conocer la correlación entre cada uno de estos factores sobre los cambios no favorables en el desempeño físico de los pacientes. Lo cual permitirá establecer una estrategia racional para buscar un modo de disminuir esta influencia no deseada. En México, este es el primer estudio que se ha realizado con este objetivo.

Fase 2.

- 3. Sobre la determinación *ex vivo* de la citotoxicidad de fármacos para el tratamiento del CCR.** La alta mortalidad y relativamente corta supervivencia de los pacientes en estadios avanzados en Nuevo León requería un estudio epidemiológico y clínico para conocer las causas principales correlacionadas con el deterioro físico de los pacientes. Una causa principal del pronóstico desfavorable de los casos de CCR avanzados es la resistencia a fármacos. Por ello, el análisis *ex vivo* de susceptibilidad a fármacos de primera línea contra el CCR es un prerrequisito para contar con un método que prediga el éxito o el fracaso del esquema quimioterapéutico elegido por el oncólogo. Entonces se requiere implementar un método que permita conocer, con anticipación la condición de sensibilidad o de resistencia a la combinación de fármacos de primera línea. Nosotros hemos iniciado este proceso implementando el ATP-CRA, con una adecuación importante: utilizar cultivos primarios completos, conteniendo las células cancerosas y las células asociadas al tumor, porque estas células influyen decisivamente en la resistencia a fármacos contra el CCR y a favor de la supervivencia de las células cancerosas bajo condiciones de estrés.

CAPÍTULO 5

OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS GENERALES

5.1.1. Fase 1.

5.1.1.1. *Objetivo 1.* Describir los hallazgos clínicos y las características sociodemográficas del CCR en el Noreste de México

5.1.1.2. *Objetivo 2.* Estimar la correlación de las variables sociodemográficas y clínicas con el deterioro en el desempeño físico de los pacientes, mediante la aplicación de la EK.

Fase 2.

5.1.1.3. *Objetivo 3.* Implementar y hacer una evaluación preliminar de confiabilidad del ATP-CRA para distinguir entre cultivos sensibles y resistentes a 5FUOL.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

5.2.1. Fase 1

5.2.1.1. *Objetivo 1.* Conocer las principales características sociodemográficas y clínicas actuales del CCR en Nuevo León.

5.2.1.2. *Objetivo 2.* Identificar las similitudes y diferencias de las principales características epidemiológicas del CCR de nuestra localidad con respecto a otras regiones del mundo.

5.2.1.3. *Objetivo 3.* Identificar los factores de riesgo que se correlacionen con los casos de CCR que no hayan respondido a su esquema quimioterapéutico o que hayan empeorado a pesar de haber recibido dichos tratamientos.

5.2.2. Fase 2

5.2.1.1. *Objetivo 4.* Hacer una evaluación preliminar de la habilidad del ATP-CRA para distinguir entre cultivos primarios resistentes y sensibles al 5FUOL y demostrar precisión de los resultados comparados con estándares adecuados.

CAPÍTULO 6

MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS

El estudio epidemiológico y clínico de nuestra población fue prospectivo, descriptivo, transversal y comparativo. El análisis preliminar de la confiabilidad del ATP-CRA para distinguir entre cultivos primarios de tumores intestinales de CCR y determinar la precisión de resultados con respecto a estándares adecuados fue un estudio piloto y experimental.

6.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

En un periodo de 20 meses, se reclutaron para este estudio a todos los pacientes con diagnóstico de CCR en estadios I, II, III ó IV que solicitaron atención médica en el Centro Universitario contra el Cáncer del Hospital Universitario “José Eleuterio González” o en la Unidad de Altas Especialidades No. 25 (UMAE 25) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Se reunieron 40 pacientes participantes, entre ambas instituciones.

6.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los participantes eran mayores de 18 años, de sexo masculino o femenino, con una EK \geq 60 y que hubieran firmado la carta de consentimiento informado para participar en el presente estudio.

6.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Mujeres embarazadas, pacientes que no desearon participar o que no cumplieron con los criterios de inclusión

6.2.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Pacientes que se retiraron del estudio, después de así haberlo manifestado a los investigadores o que no respondieron a las entrevistas durante el seguimiento.

6.3. MÉTODO DE RECLUTAMIENTO

En el orden en que los pacientes se presentaron a solicitar atención médica, se invitó a participar en el presente estudio a todas las personas que cumplieron con los criterios de inclusión. En su oportunidad, se explicó a cada paciente que para su diagnóstico o tratamiento era necesario tomar una biopsia o remover por cirugía el tumor primario completo. Se le explicaron a los pacientes los objetivos de este estudio y se les informó que en caso de participar, esto sería de manera voluntaria y que su colaboración consistiría en donar el tejido tumoral, acceder a utilizar los datos colectados en sus respectivas historias clínicas, responder a las preguntas contenidas en el cuestionario mostrado en la Fig.1 (pág. 28) y contestar, de manera personal o telefónicamente las preguntas de seguimiento durante el tiempo que fuese necesario, posterior a su cirugía e inicio de su tratamiento quimioterapéutico.

<p>DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR</p> <p>HISTORIAL CLÍNICO DE PACIENTE</p> <p>Agosto 2011 Rev 001</p>	<p>Fecha(día/mes/año): / /</p> <p>Nombre: _____</p> <p>Edad: _____ Sexo: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M</p> <p>Peso : _____ Talla: _____</p> <p style="text-align: right;">FOLIO: _____</p>
--	--

Hábitos del Paciente

Tabaquismo Si No <5 cigarrillos/día 1cajetilla/día >1cajetilla/día

Alcoholismo Si No <5 medidas/semana 5-10medidas/semana >10medidas/semana

Consumo de carnes rojas <5 veces/semana 5-15 veces/semana >15 veces/semana

Consumo de fibra <5 veces/semana 5-15 veces/semana >15 veces/semana

Alimentos ricos en grasas Si No Poco Moderado Abundante Muy abundante

Depresión Si No Tratamiento psicotrópicos: _____

Antecedentes del Paciente

<p>Polipos rectales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>VIH <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Hepatitis <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Autoinmunidad <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="radio"/> Lupus <input type="radio"/> Artritis <input type="radio"/> Enf. de Crohn</p> <p><input type="radio"/> Esclerosis <input type="radio"/> Psoriasis <input type="radio"/> Otra Enf. Autoinmune: _____</p>	<p>Inflamación crónica de intestinos <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Cáncer colorrectal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Otro tipo de cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Cual: _____</p> <p>Otra enfermedad : _____</p>
--	---

Antecedentes Familiares Directos

<p>Hipertensión <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Diabetes: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Polipos rectales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Cáncer colorrectal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p> <p>Otro tipo de cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No</p>	<p>Familiar / Edad: _____</p> <p>Familiar / Edad: _____</p> <p>Familiar / Edad: _____</p> <p>Familiar / Edad: _____</p> <p>Tipo: _____</p> <p>Familiar / Edad: _____</p>
---	--

Datos de Clínicos

Diagnóstico _____

Localización _____

Metástasis Si No Lugar: _____

Índice de Karnofsky _____

Figura 1. Formato de historia clínica con el que se colectaron los datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes participantes en el presente proyecto

6.4. DIAGNÓSTICO

Los pacientes de la población de estudio fueron diagnosticados en los servicios de Gastroenterología del Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León (HU, UANL) y de la UMAE 25 del IMSS. Se detectó su CCR mediante colonoscopia, durante la cual se tomó una biopsia de su lesión principal. La biopsia fue analizada, clasificada y estadificada por los especialistas del servicio de Anatomía Patológica de la UMAE 25 o del HU, de acuerdo con la adscripción de los pacientes. A todos los pacientes se les removi6 quir6rgicamente el tumor principal—y en su caso, los p6lipos—, como parte de su tratamiento. Las muestras de tejido tumoral—de desecho—se utilizaron para realizar los estudios de sensibilidad a los mismos f6rmacos que recibid6 cada uno de los pacientes durante su quimioterapia.

6.5. TRATAMIENTO DE LOS PACIENTES

Posterior al diagn6stico, se inici6 el manejo de los pacientes por parte de los m6dicos onc6logos y cirujanos onc6logos, en los servicios de cirug6a general y cirug6a oncol6gica de la UMAE 25 o del HU. A los pacientes diagnosticados con c6ncer de recto, se les aplic6 radioterapia para disminuir el tama6o del tumor, previo a la extirpaci6n del tumor. El 37% de nuestros pacientes recibid6 radioterapia y el 63% no. En los casos en los que los pacientes refirieron haber tomado tratamientos alternativos, se incluy6 en su historia cl6nica, estos datos se consideraron en los an6lisis estad6sticos.

En la Tabla 3 se observan los esquemas quimioterap6uticos y de radioterapia administrados a los pacientes.

Tabla 3. Tratamientos que recibieron los pacientes con CCR		
Paciente ¹	Radioterapia	Quimioterapia
1	No Indicada	FOLFOX 6
2	25 sesiones	5FU
3	No indicada	FOLFOX 6
16	No indicada	5FU+Leucovorina
17	25 sesiones	5FU+Leucovorina
30	No indicada	FOLFOX 6
4	No indicada	Capecitabina
7	25 sesiones	Capecitabina
21	25 sesiones	Capecitabina
24	No indicado	Capecitabina
27	25 sesiones	Capecitabina
29	No indicada	Capecitabina
34	No indicada	5FU+Capecitabina
35	25 sesiones	Capecitabina
36	No indicada	Capecitabina
37	No indicada	Capecitabina
38	No indicada	Capecitabina
39	25 sesiones	Capecitabina
8	25 sesiones	Todos estos pacientes recibieron Capecitabina +oxaliplatino
9	25 sesiones	
10	25 sesiones	
11	25 sesiones	
12	25 sesiones	
13	No indicada	
19	No indicada	
31	No indicada	
18	Indicada	Se desconoce, No datos en expediente
33	Indicada	
40	Indicada	
5	No Radioterapia	No quimioterapia
6		
20		
28		
32		
14	Defunciones	Capecitabina / 2 ciclos
22		Muerte por causas externas al CCR
23		Muerte por causas externas al CCR
26		FOLFOX
15	25 sesiones	Capecitabina+irinotecan 5FU en bolo+Oxaliplatino+acido folinico
25	No indicada	Oxaliplatino+capecitabina+azituximab

¹Los números de esa columna corresponden a cada paciente participantes y siguen el orden en el que se enroló cada uno de ellos

6.6. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS Y FACTORES DE RIESGO DE LA POBLACIÓN BLANCO

La Tabla 4 (Pág.34) muestra los factores de riesgo, las variables clínicas y los tipos de tratamiento. La frecuencia de estas variables se reporta en la sección de resultados de este documento. Se colectaron estos datos con el objeto de compararlas con el último reporte del análisis epidemiológico del CCR³ y con la situación anual mundial. Además, cada una de las variables de la tabla 4 se codificaron como dígitos y se les aplicó la prueba de correlación de Spearman, con respecto al cambio que hubo entre el grado inicial de la EK y a los 12 meses de iniciado el tratamiento convencional.

6.7. BIOENSAYOS DE CITOTOXICIDAD

6.7.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS TUMORALES

Una vez que el cirujano obtuvo el tumor o la biopsia de CCR, se trasladó inmediatamente la pieza quirúrgica al Servicio de Anatomía Patológica correspondiente a cada institución de salud participante. Ahí, los patólogos sometieron la pieza al proceso habitual, que consiste en lavarla, describirla, tomarle fotografías y hacer cortes histológicos. De cada pieza anatómopatológica se nos proporcionó una muestra de al menos 1 × 1 cm. Las muestras se transportaron, en fresco, en tubos Falcon (Corning incorporated, NY, USA) de 50 mL de capacidad, con tapón de rosca. Inmediatamente después de obtenidas, las muestras se llevaron al laboratorio de Terapia Celular del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL. Los tubos conteniendo las muestras tumorales se colocaron para

Tabla 4. Factores de riesgo, variables clínicas y tipos de tratamiento

Factores de riesgo
Edad ²
Sexo
Antecedentes de cáncer familiar ³
Diabetes mellitus ³
Hipertensión arterial ³
Inflamación intestinal ³
Depresión ³
Consumo de fibra vegetal ⁴
Tabaquismo ⁵
Alcoholismo ⁵
Consumo de carnes rojas ⁶
Consumo de grasa animal ⁶
Hallazgos clínicos
Estadio del CCR ⁷
Grado inicial en la escala de Karnofsky ⁸
Localización del tumor principal ⁹
Grado en la escala de Karnofsky 12 meses después de la extirpación del tumor principal ¹⁰
Cambio en la escala de Karnofsky ¹¹
Presencia de pólipos ¹²
Tratamiento
Tipo de quimioterapia ¹³
Radioterapia ¹⁴
Uso de remedios de la medicina tradicional combinado con el tratamiento convencional ¹⁵

¹Se codificaron todas las variables con valores digitales (como se describe) y se analizaron aplicando la prueba de correlación de Spearman. La significancia estadística fue = 0.05. Una correlación significativa indica que la variable influyó positiva o negativamente en la evolución de la salud del grupo analizado (cambio en la escala de Karnofsky, 12 meses después de haber iniciado el tratamiento).

²Rango de 30 a 100 años de edad, dividido en estratos de 10 años.

³Presente (2) o ausente (1); ⁴Consumo de fibra vegetal; ⁵Tabaquismo: ≤ 5 cigarrillos/día(1), 20 cigarrillos/día (2) o >20 cigarrillos/día (3), No consumo(4); ⁵Alcoholismo: < 5 medidas/semana (1), 5-10 medidas/semana (2) >10 medidas/semana (una medida equivale a una lata de cerveza) (3), No consumo de alcohol (4); ⁶Consumo de carnes rojas <5 veces/semana(1), 5-15 veces/semana (2), > 15 veces/semana (3), No consumo de carnes rojas (4); Consumo de grasas animal: Poco(1), Moderado(2), Abundante(3), Muy abundante(4), No consumo de grasas(5); ⁷Estadios 0,I, II, III o IV; ⁸La escala de Karnofsky indica el estado de salud de los pacientes. El rango que abarca esta escala es de 0 a 100, estratificada de 10 en diez grados; ⁹Localización anatómica donde se encuentra la neoplasia, colon o recto.

¹⁰Evaluación con la escala de Karnofsky, 12 meses después de la extirpación del tumor principal; ¹¹Valor obtenido restando el valor inicial de la escala de Karnofsky de la evaluación en la escala de Karnofsky a los 12 meses de la extirpación del tumor inicial; ¹²Presencia de pólipos, además de la del tumor principal; ¹³ Esquema anti-CCR aplicado a los pacientes: FOLFOX6 (5-fluorouracilo, oxaliplatino y leucovorina), XELOX (capecitabina más oxaliplatino) XELIRI (irinotecan más capecitabina), XELODA capecitabina u oxaliplatino, o nada. ¹⁴Número de pacientes que recibieron radioterapia combinada con quimioterapia y número de pacientes que no recibieron radioterapia; ¹⁵Número de pacientes que usaron algún tipo de medicina alternativa (jugo verde, guanábana, avena, bicarbonato o nada)

su transporte en recipientes de poliuretano, con tapa, conteniendo hielo. Inmediatamente después, una parte de cada muestra se procesó para realizar los bioensayos de sensibilidad a los fármacos utilizados en el FOLFOX (5-FU, oxaliplatino y leucovorina (5-FUOL) o en el XELOX (oxaliplatino y capecitabina), el resto se preservó en nitrógeno líquido para posteriores ensayos. Las muestras se lavaron tres veces con solución salina fisiológica estéril, y se descontaminaron, sumergiéndolas en etanol al 70% por 1 min y se lavaron tres veces con solución amortiguadora de fosfatos, pH 7.4 (PBS [Sigma Aldrich, Saint Louis MO. USA]) adicionada con 50µg/mL de gentamicina (GIBCO®/INVITROGEN Grand Island NY, USA) y 0.25µg/mL de anfotericina B/Fungizone (GIBCO). Cada muestra se cortó en trozos menores de 1-mm por lado, en condiciones de esterilidad y se disgregaron las células enzimáticamente. Para ello, los fragmentos se colocaron en un volumen de colagenasa tipo I (GIBCO) al 0.04% en medio de cultivo RPMI (GIBCO), se sometieron a agitación mecánica utilizando un agitador magnético (CIMAREC Barnstead Thermolyne, Dubuque, Iowa USA), durante 2 h a 37°C . Las células se separaron del material no digerido mediante filtración, utilizando filtros de 40-µm, de nylon, estériles (Corning, NY USA). Las células se lavaron tres veces, suspendiéndolas en 20-mL de PBS y centrifugándolas a 900 × g por 10 min. El pellet celular se resuspendió en 1 Vol. de medio de cultivo IMDM (Gibco, Grand Island NY, USA) adicionado con 10% de SBF Corning/CellGro Mediatech Inc. Herndon VA, USA] 50-µg de gentamicina/mL y 0.25-µg de anfotericina B

(Fungizone)/mL. Se contaron las células viables en una cámara de Neubauer. Para contabilizar las células viables se utilizó la técnica de exclusión de Tripan Azul. Se ajustó la concentración de células viables a 3.35×10^5 células/mL.

6.7.2. BIOENSAYOS

Para realizar los bioensayos de citotoxicidad nos basamos en el método de ATP-CRA descrito por Huh JW et al.⁴⁶ Se utilizaron para los bioensayos microplacas de ultrabaja adherencia con 96 pozos, de fondo redondo (Corning). En la Fig. 2 (Pág. 37) se presenta un esquema del procedimiento que seguimos para realizar los bioensayos, desde el proceso de las muestras tumorales hasta la lectura de la quimioluminiscencia: en cada uno de los pozos centrales (los pozos de las orillas que se llenaron con agua) se colocaron 60- μ L de la suspensión celular (2.0×10^4 células/por pozo). A tres de los pozos inoculados con las células se les agregaron 60- μ L de **5FUOL**: 5-FU 10 μ g/mL, Acofut 250mg/5mL, Accord Farma, México) oxaliplatino (2.9 μ g/mL Zolaxat 50mg/10mL, PISA, México) y leucovoina (0.5 μ g/mL, Innefol 50mg/4mL, PISA, México). En cada placa se incluyeron los siguientes controles: 1) la línea celular de CCR COLO 320 (COL-220.I™ Manassas, VA 20110, USA); 2) 105 pg y 280 pg de ATP (Promega® Madison WI, USA); 3) células tumorales no expuestas a 5FUOL, 4) tratadas con 60 μ L de etanol al 70%. Estas preparaciones se incubaron en atmósfera de CO₂ al 5%, a 37°C por 48h y se determinó su quimioluminiscencia a través de un luminómetro (Cytation 3 imaging reader, Biotek®, USA) La Fig. 3 (pág. 38) esquematiza la distribución de las mezclas de ensayo arriba descritas.

En todos los casos se determinó la concentración de ATP siguiendo las instrucciones del fabricante del kit *Cell Titter Glo® Luminescent Cell Viability Assay* (Promega® Madison WI, USA) que utilizamos para realizar los bioensayos de citotoxicidad. Brevemente en una placa blanca de luminiscencia, se mezclaron 100 µL de cada extracto celular resultado de los bioensayos, con 100 µL del reactivo *Cell Titter Glo®*. Las preparaciones se agitaron manualmente por 2 min a temperatura ambiente para inducir la lisis celular, se reincubaron por 10 min, para estabilizar la señal de luminiscencia y se tomaron las lecturas en un luminómetro (Cytation|3 imaging reader, Biotek®, USA), el cual realizó la lectura de cada uno de los pozos que contenía el grupo celular del cultivo primario por triplicado con o sin tratamiento y los controles antes mencionados midiendo la cantidad de ATP intracelular, la detección se basa en el uso de la reacción de luciferasa para medir la concentración de ATP de las células viables, por lo tanto la cantidad de ATP celular se correlaciona con la viabilidad celular. Los resultados se reportan como unidades relativas de luz.

6.7.3. DETERMINACIÓN DE CITOTOXICIDAD DE 5FUOL

Los resultados de luminiscencia de los bioensayos de ATP-CRA se convirtieron en porcentaje de muerte celular mediante la siguiente ecuación:

PMC = Porcentaje de muerte celular

LCT = Luminiscencia del sobrenadante de las células tratadas, equivalente a la concentración de ATP intracelular

$$PMC = \left[1 - \frac{LCT}{PLCST} \right] \times 100$$

PLCST = Promedio de la luminiscencia del sobrenadante de los controles no tratados, equivalente al 100% de la concentración intracelular de ATP promedio de la luminiscencia de células sin tratamiento (células viables)



Figura 2. Procesamiento de las muestras de CCR durante los bioensayos de citotoxicidad. Los números de cada gráfico indican cada uno de los pasos que se siguieron hasta obtener los resultados de quimioluminiscencia relativa—con respecto a los controles no tratados de cada uno de los cultivos de interés. El procedimiento consistió en disgregar las células de los tejidos tumorales, ya lavados y descontaminados, cultivar todas las células—sin separar a las tumorales de las asociadas. Estas células se cultivaron en presencia de 5FUOL o sus controles y se determinó la quimioluminiscencia relativa de los bioensayos de interés con respecto a los controles o estándares. Se realizaron los bioensayos con el kit *Cell Titer Glo® Luminescent Cell Viability Assay* (Promega)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Línea Celular colo 320 Quimioterapia	Línea Celular colo 320 Medio	ATP 105pg	ATP 280 pg	Cel. Tumorales Etanol		
C		Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Línea Celular colo 320 Quimioterapia	Línea Celular colo 320 Medio	ATP 105pg	ATP 280 pg	Cel. Tumorales Etanol		
D		Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales c/ Quimioterapia	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Cel. Tumorales No tratadas Medio	Línea Celular colo 320 Quimioterapia	Línea Celular colo 320 Medio	ATP 105pg	ATP 280 pg	Cel. Tumorales Etanol		
E												
F												
G												
H												

Figura 3. Representación gráfica de una placa de 96 pozos de ultra baja adherencia, en la que se muestra la distribución de las células del cultivo primario de CCR del paciente, en las columnas 2 y 3 células tumorales expuestas a 5FUOL por triplicado, columnas 4 y 5 células tumorales sin tratamiento con medio IMDM suplementado con SBF 10% con antibiótico y antimicótico, columna 6 línea celular colo 320 utilizada como control interno expuesta a 5FUOL, columna 7 línea celular Colo 320 sin tratamiento, columnas 8 y 9 ATP a concentraciones de 105 pg y 280 pg y en la columna 10 células tumorales expuestas a etanol al 70% utilizadas también como control, la periferia de la placa es ocupada por agua estéril. Se utilizaron en todos los casos tres pozos por muestra (2×10^5 células/pozo)

6.8. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CON LOS CONTROLES

Los valores determinados en los pozos con 280 pg de ATP debieron ser mayores que los obtenidos con 105 pg de ATP. Resultados diferentes fueron causa de desecho del bioensayo, por sospecha de contaminación con bacterias u hongos, un número inadecuado de células o un coeficiente de variación (CV) mayor a 30. Por otro lado, cuando los valores de quimioluminiscencia de los cultivos primarios no tratados fueron menores que los estándares de 105 pg de ATP, consideramos que la viabilidad de las células de ese paciente en particular era insuficiente. En estos casos se descartaron los datos colectados y se repitió el procedimiento. Los cultivos primarios incubados en presencia de etanol al 70% se usaron como controles de letalidad.

6.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Por ser éste un proyecto piloto, para el tamaño de la muestra se decidió incluir todos los pacientes con diagnóstico de CCR de las instituciones participantes dentro de un periodo de 20 meses. Sin embargo, tomamos en cuenta que en el área metropolitana de Monterrey vive el 80% de los habitantes del Estado de Nuevo León y que el 20% de los casos anuales de CCR son atendidos por las instituciones participantes en este estudio, el Hospital Universitario “Dr. José E. González” (HU) el cual atiende al año aproximadamente 60 casos y la Unidad Médica de Altas Especialidades UMAE #25 el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Es muy importante mencionar que solamente se incluyeron los pacientes que se sometieron a extirpación quirúrgica de los tumores en el Hospital Universitario o la UMAE25. De estos, un porcentaje importante de las muestras era insuficiente o, por otras razones, no apta para ser procesada para el bioensayo de ATP-CRA. Sin embargo, el número de pacientes analizado es representativo de lo que está ocurriendo en Nuevo León, con respecto a la descripción sociodemográfica y clínica de ACCR y para haber evaluado, en forma preliminar la confiabilidad del ATP-CRA. En el análisis sociodemográfico y clínico del CCR sólo se empleó una estadística descriptiva. En tanto que en el análisis de correlación entre los parámetros sociodemográficos y clínicos se utilizó la prueba de Spearman, considerando una correlación positiva con una $p \leq 0.05$.

6.10. ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio fue autorizado por el Comité de Ética e Investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José E. González” (reg. No. BI114-004) y por la Comisión de Ética de la Coordinación de Salud del IMSS (R-2010-785-075).

CAPÍTULO 7

RESULTADOS

7.1. RESULTADOS DE LA FASE I

7.1.1. CARACTERÍSTICAS SOCIO-DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

7.1.1.1. INSTITUCIONES PARTICIPANTES

En total, se enroló para este estudio a 40 participantes. El 60% de ellos (24 pacientes) fueron atendidos en la UMAE 25 del IMSS y el 40% (16 pacientes) en el HU de la UANL (Fig. 4).

Institución de Salud

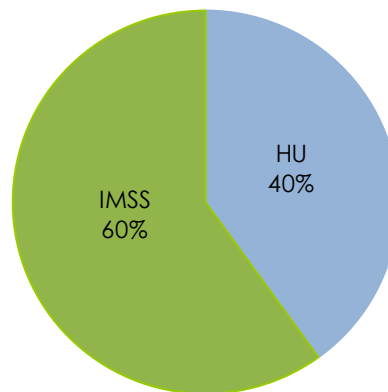


Figura 4. Distribución de los participantes según unidad de atención médica. El 60% de los pacientes (24/40) fueron atendidos en la UMAE 25 y el 40% (16/40) en el Hospital Universitario de la UANL.

7.1.1.2. FACTORES DE RIESGO

7.1.1.2.1. FACTORES DE RIESGO NO MODIFICABLES

7.1.1.2.1.1. Sexo. La figura 5 muestra que 11 de los 40 pacientes eran mujeres (27.5%) y 29 eran hombres (72.5%)

7.1.1.2.1.2. Edad. La figura 6 (pág. 44) muestra que la edad de los pacientes con CCR se distribuyó en una forma normal; con una mediana de 60 y un promedio de 61 años con una desviación estándar (DE) de 61 ± 12.2 . La mayor frecuencia se observó entre los pacientes con una edad de 50-69 años (57.5%; 33/40). Sin embargo, siete del total, (17.5%) eran menores de 50 años, y 10 (25%) eran mayores de 69 años. El paciente más joven de nuestro grupo tenía 35 años y el mayor, 86 años de edad.

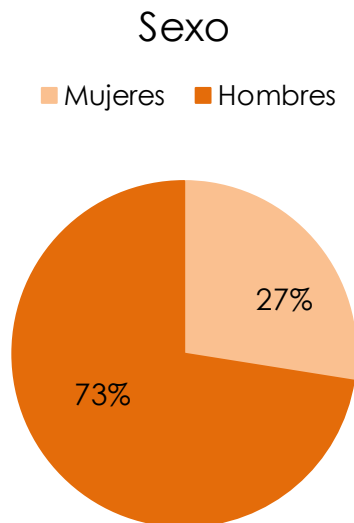


Figura 5. Distribución por sexo de los pacientes participantes en este estudio (73%) eran hombres y (27%) eran mujeres.

7.1.1.2.1.3. Antecedentes familiares de cáncer. En la Fig. 7 (pág. 45) se muestra que el 40% de los pacientes cuenta con antecedentes familiares de cáncer.

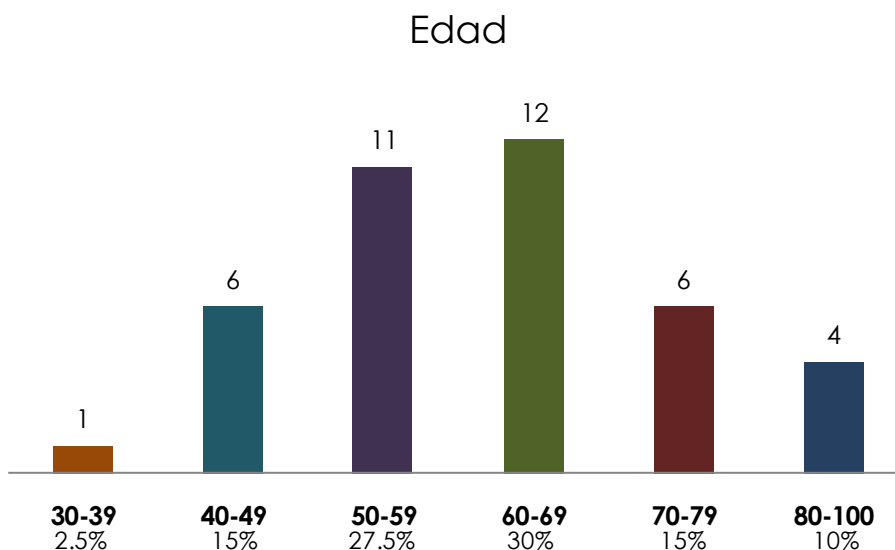


Figura 6. Edad de los pacientes con CCR que conformaron nuestro grupo de estudio. La mayor parte de ellos tenían una edad entre 50 y 69 años de edad. Sin embargo, una proporción considerable de pacientes tenía una edad menor a 50 o mayor a 69 años.

7.1.1.2.2. FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES

La Tabla 5 (pág.46) muestra las frecuencias y la codificación de los factores de riesgo susceptibles de ser modificados en favor de la salud de los pacientes.

7.1.1.2.2.1. Diabetes mellitus. Nueve pacientes eran diabéticos tipo 2 y 31 no lo eran.

7.1.1.2.2.2. Hipertensión arterial. Diez pacientes eran hipertensos y 30 no.

7.1.1.2.2.3. Inflamación intestinal. Once pacientes presentaron inflamación intestinal crónica.

7.1.1.2.2.4. Depresión. Sólo dos pacientes presentaron depresión.

7.1.1.2.2.5. Consumo de fibra vegetal. Veinte pacientes refirieron comer menos de cinco verduras o frutas a la semana y otros 20, 5 a 10 verduras o frutas a la semana.

7.1.1.2.2.6. Tabaquismo. Diecisiete pacientes fumaban de 0 a 5 cigarrillos al día, 4, 20 cigarrillos diarios y 2, más de 20 cigarrillos diariamente.

Antecedentes Cáncer Familiar

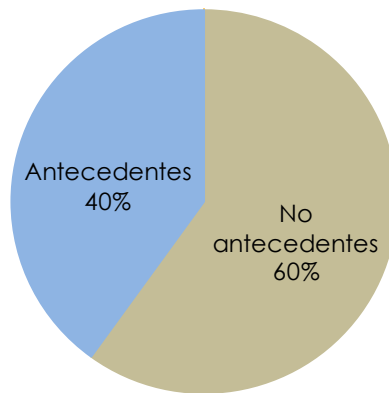


Figura 7. Distribución del grupo analizado según antecedentes familiares. 16 de los 40 pacientes, tenían antecedentes de cáncer familiar.

Tabla 5. Frecuencia y codificación de la presencia de los factores de riesgo modificables

Factor de riesgo	Código				
	C1	C2	C3	C4	C5
	Frecuencia (% con respecto a 40 pacientes)				
Diabetes mellitus II ¹	77.5	22.5			
Hipertensión arterial ¹	70.0	30.0			
Inflamación intestinal ¹	72.5	27.5			
Depresión ¹	95.0	5.0			
Consumo de fibra vegetal ²	50.0	50.0			
Tabaquismo ³	42.5	10.0	5.0		
Alcoholismo ⁴	42.5	32.5	22.5	2.5	
Consumo de carnes rojas ⁵	5.0	75.0	22.5		
Consumo de grasa animal ⁶	25.0	40.0	30.0	5.0	

¹Condición analizada ausente, código (C1) y presente, (C2)

²Consumo de fibra vegetal. En forma de frutas o verduras. Bajo consumo, menos de 5 veces a la semana (C1); consumo regular, 5 a 10 veces a la semana (C2)

³Tabaquismo (consumo diario de cigarrillos): 0-5 (C1), 20 (C2), más de 20 (C3).

⁴Alcoholismo consumo a la semana (una medida equivalente a una cerveza): 0 (C1); cinco o menos (C2); 6 a 10 (C3); más de 10 (C4).

⁵Consumo semanal de carnes rojas y grasa animal (equivalente a 250 g por ración): No consumía (C1), 1-5 raciones (C2); 5-15 raciones (C3).

⁶Consumo semanal de alimentos con grasa animal (25 g por porción). No consumía (C1), Consumía 1 a cinco porciones (C2); 6 a 10 porciones (C3), más de 10 porciones (C4)

7.1.1.2.7. Alcoholismo. 17 de nuestros pacientes refirieron que ellos no beben alcohol, 13 consumían el equivalente a cinco cervezas o menos a la semana, 9 consumían de 5 a 10 cervezas y 1 paciente consumía más de 10 a la semana.

7.1.1.2.8. Consumo de carnes rojas. Un paciente no consumía carnes rojas, 30, consumían carnes rojas 1-5 veces por semana y 9, de 5-15 veces.

7.1.1.2.9. Consumo de grasa animal. 10 pacientes no consumían grasa animal, 16, consumían 125 g a la semana, 12, 175 g y 2 consumían más de 175 g a la semana.

7.1.1.3. HALLAZGOS CLÍNICOS

7.1.1.3.1. Localización anatómica del CCR. La Fig. 8 muestra que la localización anatómica del tumor primario de CCR fue mayor en el recto (52%, 21/40 casos) que en el colon (48%, 19/40 casos).

Localización Anatómica

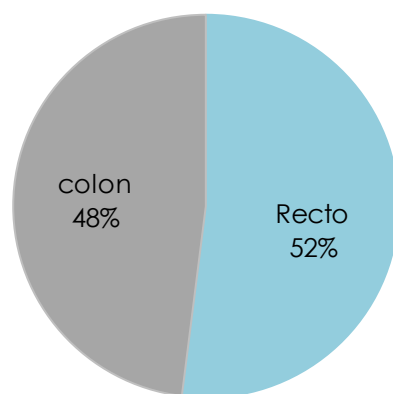


Figura 8. Distribución de los tumores primarios de CCR según su localización anatómica. La localización anatómica de los tumores primarios de CCR fue mayor en el recto (52%) que en el colon (48%)

7.1.1.3.2. Estadios. La Fig.9 (Pág. 48) muestra la distribución del estadio inicial del CCR. La mayor parte de los casos (65%) estaban en estadios avanzados (37% y 28% de éstos estaban en estadios III y IV, respectivamente). Sin embargo, una considerable proporción (35%) estaban en estadios tempranos, (25% en estadio II y 10% en estadio I). Ningún paciente solicitó asistencia médica estando en estadio 0.

La Tabla 6 (Pág. 49) muestra la clasificación histopatológica de los tumores primarios de CCR y la frecuencia de cada tipo de neoplasia. Todos los tumores eran adenocarcinomas colorrectales (ACCR). Más de la mitad de éstos eran moderadamente diferenciados de la variedad intestinal. El resto de los ACCR (42.5%) se clasificaron como mucinosos, pobremente diferenciados, de

Estadio Tumoral

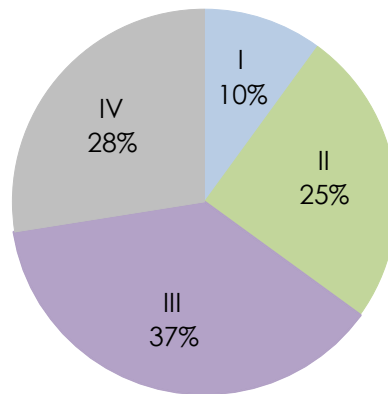


Figura 9. Distribución inicial por estadios del CCR. Los números romanos indican el estadio del CCR y los números arábigos corresponden a la frecuencia. La mayoría de los pacientes llegaron a su primera consulta con su cáncer en estadios avanzados (III ó IV).

la variedad de recto, intramucoso bien diferenciado, intestinal muco-productor, de colon, de la variedad intestinal escasamente diferenciado o infiltrante moderadamente diferenciado. El rango de proporciones de esos casos con

respecto al grupo de estudio completo fue desde 2.5% (solamente un tumor) hasta 15% (seis tumores).

7.1.1.3.3 Metástasis. La Fig. 10 (pág. 50) muestra que se detectaron metástasis en el 25% de los casos de CCR. De éstos, 1 caso/órgano (2.5%) se identificó en el hígado, vesícula seminal, hueso y pulmones y vejiga, respectivamente. En dos casos se identificaron metástasis en los pulmones y en cuatro casos (10%) en hígado y pulmones. En los restantes 30 casos (75%) no se observaron metástasis.

Tabla 6. Distribución de los adenocarcinomas colorrectales primarios por su clasificación histopatológica

Tipo de adenocarcinoma	Frecuencia (%)
Moderadamente diferenciado, variedad intestinal	24 (60)
De colon	6 (15)
Mucinoso	3 (7.5)
De recto	3 (7.5)
Intramucoso	1 (2.5)
Intestinal mucoprodutor	1 (2.5)
Poco diferenciado, variedad intestinal	2 (5)

7.1.1.3.4. ESTADO DE SALUD INICIAL

La Fig. 11 (pág.51) muestra una estimación de la calidad inicial de vida de nuestros pacientes; expresada como grado en la EK, antes de la extirpación del tumor primario e inmediatamente antes de iniciarles su tratamiento (datos basales). Los datos basales muestran que la mayor parte de los pacientes (34/40 pacientes (85%) iniciaron su tratamiento estando en un estado de salud, desde aceptable hasta excelente (1 paciente calificó con 100 puntos en la EK

(2.5 %): 18 pacientes (45%) con 90 puntos en la EK y 15 (37.5%) con 80-puntos en la EK. Por otro lado, cinco pacientes llegaron en un estado de salud regular (EK-70) y uno en un estado malo (EK-40).

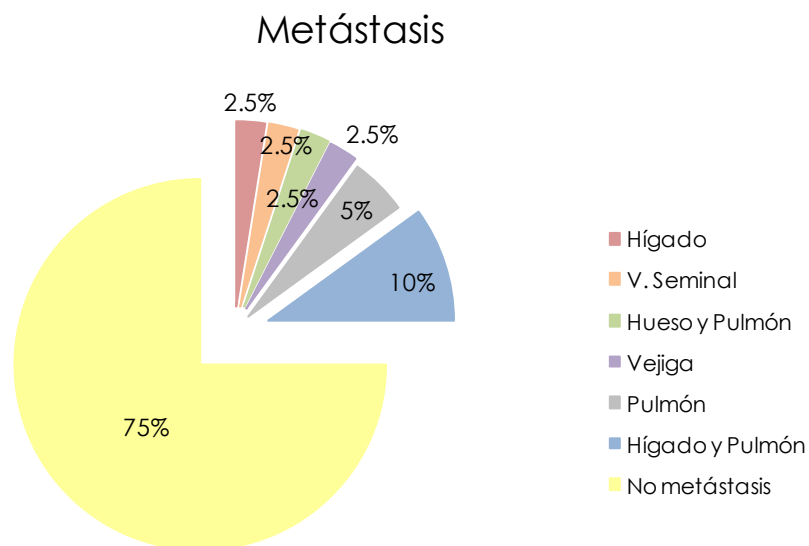


Figura 10. Distribución del CCR según la presencia de metástasis y su localización. El 75% de los casos no presentaron metástasis. El 25% restante presentó metástasis en hígado, pulmones y vejiga, hueso y vesícula seminal (2.5% de los casos en cada localización), Pulmones (5% de los casos) y, el más frecuente, hígado y pulmón 10% de los casos)

Debido a que en el momento de realizar el corte de los datos aquí presentados, sólo 26 (65%) pacientes habían completado 12 meses de haber estado en tratamiento, en la gráfica de la Fig. 12 (pág. 53) se presenta un compendio de los cambios en la salud solamente en este grupo de pacientes. La Figura 12 A (pág.53) muestra una gráfica de barras representando el grado basal en la EK de cada uno de los pacientes y su grado en la EK a los 12

meses de tratamiento. Por otro lado, la Fig. 12 B representa los cambios en la EK, indicando si la salud de cada uno de los pacientes mejoró o no, 12 meses después de haber extirpado su tumor primario y haber iniciado su tratamiento. De los 26 pacientes observados. La salud de 11 pacientes (42%) mejoró entre 10 y 20 grados de la EK. Por otro lado, 15 pacientes (37.5%) no respondieron al tratamiento: En siete pacientes no se observaron cambios en la EK y en 8 la EK empeoró entre 10 y 90 grados (señalados en la gráfica como valores negativos)

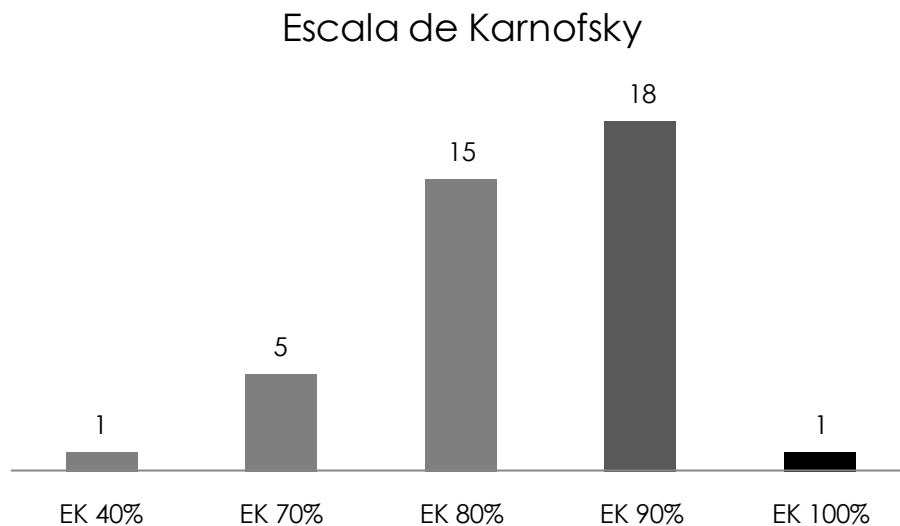


Figura. 11. Distribución por grados en la Escala de Karnofsky (EK-) de los adenocarcinomas colorrectales en la primera visita de los pacientes con el oncólogo. Los porcentajes indican la proporción de pacientes que tenían alguno de los grados en la EK indicados en la gráfica. La mayor parte de ellos llegaron en un buen estado de salud (EK-80-90). Sin embargo, una proporción importante de ellos llegaron en un estado pobre o malo (EK-40-70).

Entre los pacientes que empeoraron hubo cuatro (15 %) que ya habían fallecido en el momento de analizar los datos aquí presentados. Dos de esos

pacientes (8%) murieron dentro de la primera semana después de la cirugía oncológica.

7.1.1.3.5. PRESENCIA DE PÓLIPOS.

Se encontró la presencia de pólipos en el 10% de los pacientes, 5% en estadio IV y 5% en estadio III.

7.1.1.4. TRATAMIENTO

7.1.1.4.1. Radioterapia. 15 pacientes (37.5%) requirieron radioterapia para disminuir el tamaño del tumor previo procedimiento quirúrgico, el recto fue el sitio de lesión en 13 de estos pacientes, y en 2 pacientes el sitio fue colon, en 25 pacientes (62.5%) no se requirió el uso de radioterapia

7.1.1.4.2. Quimioterapia. El 7.5% de los pacientes recibieron el esquema FOLFOX 6 (5FU+Oxaliplatino+Leucovorina), 2.5% recibió solamente 5-Fluouracilo como agente quimioterapéutico, mientras que al 5% se le indicó la mezcla de 5FU+leucovorina.

La mayoría de los pacientes, representado con el 25%, recibió el esquema XELODA, el cual se compone de capecitabina vía oral, 2.5% de los pacientes recibieron 5FU+capecitabina, en el 20% de los pacientes fue indicado el esquema XELOX compuesto por capecitabina y oxaliplatino. Un paciente recibió dos esquemas de quimioterapia: capecitabina+irinotecan y BFOL (5FU

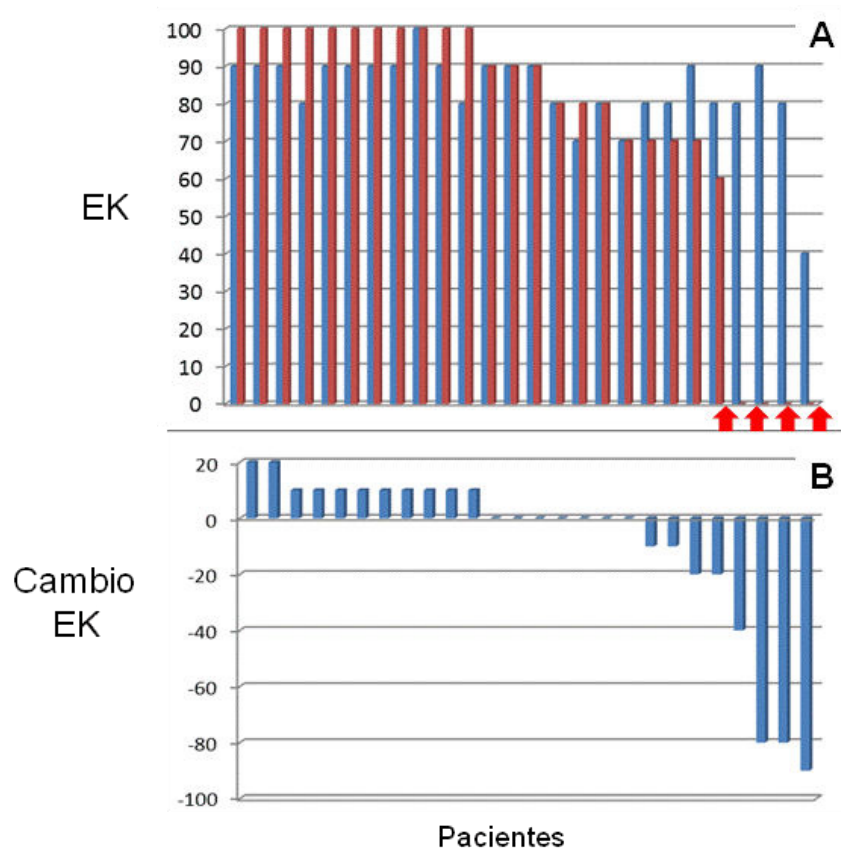


Figura 12. Cambios en la salud de 26 pacientes que completaron su periodo de observación a los 12 meses de haberse iniciado su tratamiento. El recuadro A, muestra el estado de salud de los pacientes (EK). Las barras azules corresponden al estado basal de los pacientes, antes de la cirugía e iniciado su tratamiento anti-CCR. Las barras rojas representan el estado de salud de estos mismos pacientes, 12 meses después de la cirugía y el inicio del tratamiento: El recuadro B, indica el cambio de salud de estos pacientes, de acuerdo con la EK. Las barras con valores positivos indican mejoría y las barras con valores de 0 o negativos indican que esos pacientes no reaccionaron positivamente al tratamiento.

en bolo + oxaliplatino + ácido folínico), al igual, sólo un paciente recibió oxaliplatino+capecitabina+azituximab.

El HU utiliza el esquema FOLFOX 6, al igual que el esquema XELODA, la UMAE #25 del IMSS prescribe otros tratamientos como XELODA, XELOX y 5FU + leucovorina.

7.1.1.4.3. Tratamientos alternativos utilizados espontáneamente por los pacientes. La Tabla 7 (pág.55) muestra el número y porcentaje de los pacientes que tomaron, o no, tratamientos alternativos adicionados al tratamiento prescrito por su médico oncólogo. También describe los tratamientos alternativos que tomaron los pacientes y el porcentaje de ellos que lo hizo, según el tratamiento alternativo tomado. En la Tabla 7 se observa que el 67% (27 pacientes) de nuestro grupo de estudio no utilizó tratamientos alternativos durante un período de 12 meses después de iniciado su tratamiento y el 33% (13) sí utilizó diferentes tratamientos, además del tratamiento prescrito por su médico oncólogo. La mayor parte de los pacientes que recurrieron a tratamientos adicionales a su tratamiento (17%) tomó una mezcla de guanábana (*Annona muricata*), té de salvia (*Salvia officinalis*), piña (*Ananas comosus*), kiwi (*Actinidia deliciosa*) y ecozul—veneno del escorpión azul cubano *Rhopalurus junceus*—; el 3% tomó avena (*Avena sativa*) con manzana (*Malus domestica*) y licuado de chicha (diversos cereales).

Tabla 7. Tratamientos utilizados por los pacientes como adyuvantes de su tratamiento convencional		
Tratamiento alternativo	Número de pacientes	Porcentaje
Ningún tratamiento	27	67
Guanábana, té de salvia, piña, kiwi y ecozul	7	17
Avena con manzana y licuado de chicha	1	3
Jugo verde (licuado de sávila, brócoli y guanábana)	4	10
Bicarbonato de sodio en ayunas	1	3

7.1.1.5. Sobrevida de los pacientes después de iniciado su tratamiento.

La Fig. 13 (pág.56) muestra la sobrevida de los pacientes hasta el momento de analizar nuestros datos. Seis pacientes (15%) habían tenido una sobrevida de más de 20 meses, 22 pacientes (55%) de 12 meses o más (incluyendo a los que han tenido más de 20 meses de sobrevida. Catorce pacientes (35%) todavía no completaban los 12 meses de observación y 4 pacientes (10%) habían fallecido. Dos de ellos en la primera semana después de su cirugía.

7.1.1.6. CORRELACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE LA SALUD DE LOS PACIENTES CON CCR CON LOS FACTORES CLÍNICOS Y DE RIESGO

Teniendo en cuenta solamente a los 26 pacientes que completaron 12 meses de seguimiento, encontramos que la evolución de su salud, medida como la diferencia en valores en la EK que tenía cada paciente a los 12 meses después de la cirugía, menos los valores en la EK en su primera visita al oncólogo, encontramos una dependencia y una correlación estadísticamente significativa ($p = 0.013$ y 0.036 , respectivamente) entre el estadio del CCR (I, II, III o IV). Interesantemente, la presencia de pólipos en pacientes que estaban en el estadio III del CCR también correlacionó con una evolución desfavorable de

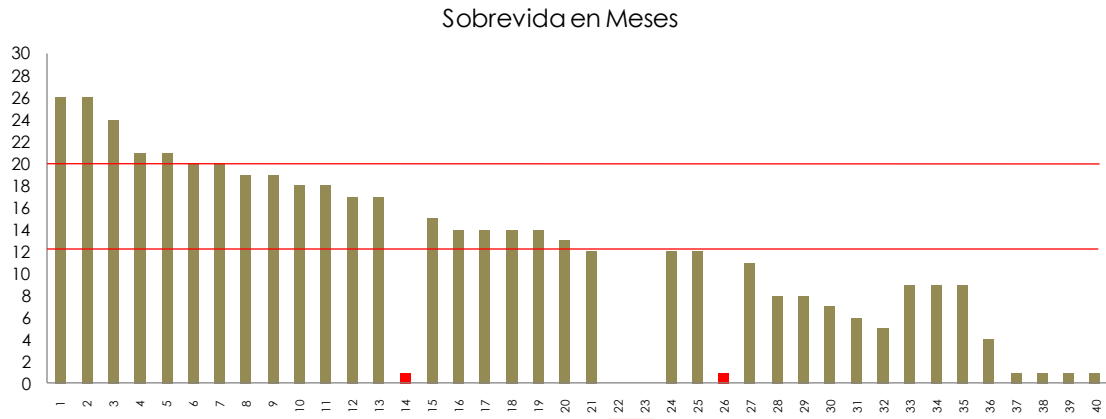


Figura 13. Sobrevida de los pacientes, una vez iniciado el tratamiento. Las líneas horizontales rojas son los puntos de corte para analizar los resultados. Doce meses es el límite señalado por la literatura como el promedio de expectativa de vida de los pacientes y 20 meses de sobrevida muestra un posible nuevo rango de sobrevida (20 o más meses). Sin embargo, nosotros registramos 4 fallecimientos, todos en un tiempo muy corto después de haber iniciado el tratamiento anti-CCR.

la salud de dichos pacientes ($p = 0.020$). Por otro lado, ningún otro factor, clínico, de riesgo o tratamiento mostró correlación alguna con la evolución del cáncer de nuestro grupo de estudio ($p > 0.05$). En otras palabras, mientras más avanzado estaba el CCR antes de la cirugía e iniciado el tratamiento, peor fue la evolución de la salud de los pacientes.

7.2 RESULTADOS DE LA FASE 2.

7.2.1. SENSIBILIDAD O RESISTENCIA DE LOS CULTIVOS PRIMARIOS A 5FUOL

La Fig. 14 muestra los resultados que obtuvimos sobre sensibilidad o resistencia a 5FUOL utilizando nuestro método experimental ATP-CRA modificado para su uso clínico. De acuerdo con los controles que nosotros incluimos en cada microplaca, todos los bioensayos que realizamos fueron aceptables. Los límites máximos de quimioluminiscencia (equivalente 280 pg) y

mínimo (105 pg) de ATP no fueron rebasados por nuestros cultivos experimentales. Ocho de los 40 cultivos (20%) resultaron sensibles a 5FUOL y 32 resultaron resistentes (80%). Entre éstos 15 (37.5%) mostraron una resistencia media (10-30% de citotoxicidad) y 17 (42.5%) una gran resistencia (citotoxicidad $\leq 9\%$)

Sensibilidad de Tumores Colorrectales a 5FUOL

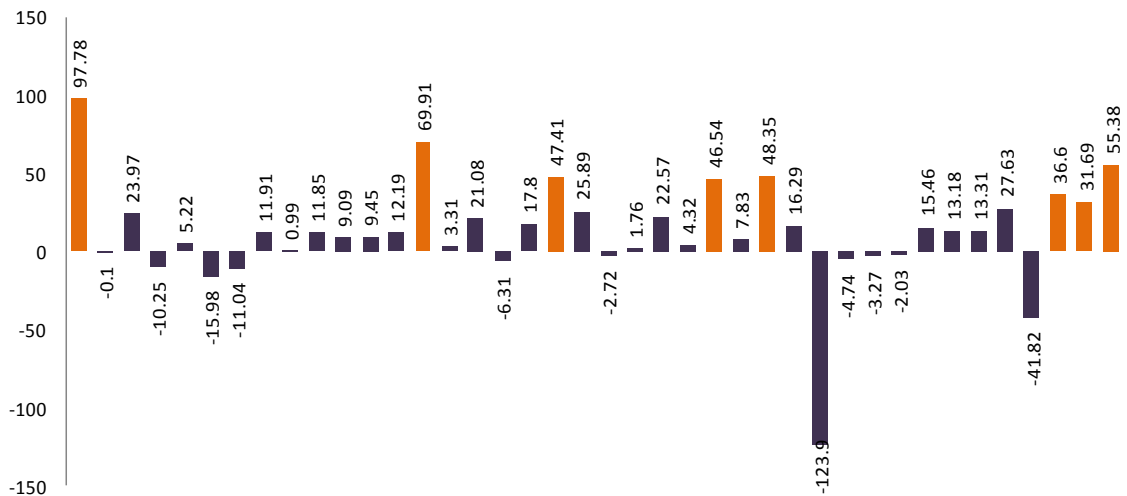


Figura 14. Resultados de sensibilidad o resistencia de cultivos Primarios de CCR a 5FUOL, 8 cultivos sensibles con LC>30%, 32 cultivos resistentes LC<30%

CAPÍTULO 8

DISCUSIÓN

Este estudio ha mostrado los factores de riesgo y los hallazgos clínicos del CCR en una región del noreste de México, los hallazgos son representativos conforme a las características epidemiológicas actuales del CCR en Nuevo León, el tamaño de muestra del grupo fue el equivalente al 14.4% del total de CCR registrados entre 2012 y 2014, en la Unidad Médica de Altas Especialidades # 25 del IMSS, institución que asiste el 73.3% de la población del estado⁵² y en el Hospital Universitario “Dr. José E. González”, el cual también recibe a la población referida de otras instituciones de salud del estado. Como nuestros resultados son representativos de la epidemiología del CCR en el noreste de México, es importante comparar las características epidemiológicas de esta región con otras áreas del país y a nivel mundial.

Factores de Riesgo

De acuerdo con Haggard y Boushey⁵³ diversos factores de riesgo están asociados con la incidencia de CCR. Estos se dividen en factores de riesgo no modificables, que incluyen edad y factores genéticos, y factores de riesgo modificables, que se incluyen en el estilo de vida.

Factores de riesgo no modificables

Sexo. Mundialmente el número de pacientes masculinos con diagnóstico de CCR es mayor que en el sexo femenino (relación M/F- CCRr es 1.38) esto quiere decir que 1.38 pacientes masculinos por cada femenino presenta CCR (datos calculados del reporte del Globocan 2002)⁵⁴

Además, el número de pacientes de sexo masculino, respecto al número de pacientes de sexo femenino con diagnóstico de CCR es diferente de una región a otra. La M/F-CCRr es notoriamente mayor en Asia que en Europa, Estados Unidos o Jalisco.

Dentro del continente asiático, la relación es mayor en India que en Japón, aún dentro de un mismo continente las diferencias son notables, por ejemplo, en India, la relación en Mumbai (2.09) es diferente a lo que presenta Kashmir (1.47)⁵⁵

Similar a lo que se presenta en otras regiones hay una M/F-CCRr desigual en diferentes regiones de México; por ejemplo, en Jalisco la M/F-CCRr es cercana a 1.0 y de 2.57 en Nuevo León, de acuerdo a nuestros datos actuales, este rango es mayor que en otras áreas reportadas y casi el doble que el promedio mundial. A pesar de esto, Mumbai presenta mayor cantidad de pacientes masculinos que femeninos, con diagnóstico de CCR que Japón. India reportó una de las más bajas incidencias en CCR y Japón una de las 15 incidencias más altas a nivel mundial⁵⁶

Edad. En diferentes regiones del mundo, el rango de registro de edad de pacientes con CCR comprende de 15-86 años, no obstante, de 0-15 años el

riesgo es bajo y se incrementa con la edad. En el mundo, más del 90% de CCR es diagnosticado en pacientes mayores de 50 años⁵⁷. En el Reino Unido, 95% de los pacientes detectados con CCR se encuentran alrededor de los 50 años de edad o más, y el 43% de los pacientes se encuentran alrededor de 75 años o más⁵⁸. El promedio de edad al momento del diagnóstico en los Estados Unidos es de 72 años y en Japón de 63.2 años⁵⁹.

En India, 87.3% de los pacientes se encuentran en los 41 años o más, al momento del diagnóstico sólo el 17.7% son ≤ 40 años, la edad media fue de 58.4 y el rango entre los 23-85 años⁶⁰

En Jalisco, México, el rango de edad es de 23 a 86 años, con un promedio de 51.2 años para los hombres y 55.6 para mujeres; 23.15% de los pacientes son menores de 40 años⁶¹. Nuestros resultados demuestran que el 97.5% de los pacientes con CCR tienen ≥ 40 años y el 82% ≥ 50 años, esto sugiere fuertemente que, en el Noreste de México, una fracción importante de nuestra población desarrolla CCR 10 años antes que el promedio de la población mundial. Jóvenes en la tercera década de su vida ya están desarrollando CCR.

Antecedentes Familiares de Cáncer. El CCR se puede presentar en un grupo familiar aún y cuando no está definido como un síndrome genético, la historia de CCR en un familiar de primera línea (padres, hermanos) eleva el riesgo de desarrollar CCR 1.8-8.0. Fuchs y cols. reportan que la historia familiar de CCR está asociada con un incremento de riesgo para desarrollar enfermedad especialmente en pacientes jóvenes⁶². En un estudio reciente, Bonblj y cols. encontraron un riesgo relativo de CCR entre familiares de

pacientes con adenocarcinoma de 2.36 (95% de intervalo de confianza 1.54-3.60)⁶³. Nosotros encontramos una alta proporción de pacientes con antecedentes familiares de CCR, los cuales no fueron de poliposis adenomatosa familiar.

Antecedentes de enfermedad Inflamatoria Intestinal. El riesgo relativo de CCR en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal ha sido estimada entre 4 y 20⁶⁴. Un tercio de nuestro grupo refirió padecer enfermedad inflamatoria intestinal

Factores de riesgo modificables

Tabaquismo y alcoholismo. La asociación entre el consumo de tabaco y cáncer de pulmón está bien establecida, pero el tabaquismo también es extremadamente dañino para colon y recto, la evidencia demuestra que el 12% de muertes por CCR son atribuibles al tabaquismo⁶⁵. Junto con el tabaquismo, el consumo regular de alcohol puede asociarse con un incremento en el riesgo de desarrollar CCR, existe una interacción entre ambos, el tabaco puede inducir mutaciones específicas en el DNA que son reparadas de una manera menos eficiente en presencia de alcohol⁴⁰, más de la mitad de nuestros pacientes (57.5%) fumaron o consumieron alcohol de una forma moderada a severa.

Otros factores de riesgo bien reconocidos de CCR son los siguientes:

Inflamación intestinal, consumo pobre de fibra vegetal y consumo alto y regular de carnes rojas y grasa animal⁵⁴, todos estos factores de riesgo fueron presentados en nuestro grupo, la mitad de los pacientes consumieron una

cantidad baja a moderada de fibra vegetal y casi todos los pacientes consumieron carnes rojas y grasa vegetal de una manera moderada (75%) o excesiva (22.5%) y cerca de un tercio de nuestro grupo presentó inflamación intestinal⁵⁴. En otras palabras, todos nuestros pacientes tenían uno o más factores de riesgos reconocidos, lo que puede explicar, al menos parcialmente, el desarrollo del CCR.

Hallazgos clínicos

Nuestros hallazgos clínicos fueron los siguientes: La proporción de tumores colorrectales fue ligeramente mayor (6%) en recto que en colon. La mayoría de los tumores (65%) fueron diagnosticados en estadios avanzados. El 25% desarrolló metástasis. El diagnóstico histopatológico de todos los tumores fueron adenocarcinomas: La localización anatómica de los tumores primarios en nuestra población fue claramente diferente a Europa, Estados Unidos, Asia o Noreste de México donde predominan en colon; mientras que en nuestro estudio prevalece en recto, como el más afectado por la neoplasia.

Todo lo anterior confirmó nuestra primera hipótesis “Los principales indicadores sociodemográficos y clínicos de Nuevo León muestran diferencias con respecto a los del resto del país y del mundo.”

En Europa, Estados Unidos, Asia (Japón) existe una alta proporción de pacientes (10.1–29%) que buscan ayuda médica, presentándose el diagnóstico de CCR en estadios avanzados (IV). La población de Europa y del Oeste de México deja avanzar el CCR en un gran porcentaje: un 25% de nuestro grupo

se presentó en estadio IV, como en el oeste de México y ligeramente (3.6%) menos que en Europa; es importante que en Europa como en otras partes de mundo se presenta una gran variación de las características epidemiológicas del CCR⁶⁶. Sin embargo, estas comparaciones son parciales y estudios como el nuestro, contribuyen para llenar numerosos y grandes vacíos en el conocimiento epidemiológico alrededor del mundo.

Supervivencia

De acuerdo al Cancer Research UK⁶⁷, un año después del diagnóstico de CCR, el promedio de supervivencia de todos los estadios de CCR es de 75.5% (77% en hombres y 74% en mujeres). A un año del diagnóstico, el rango de supervivencia de CCR metastásico y del estadio III, es de 36.5% y del 88% respectivamente. Considerando la sobrevida por sexos, a un año del diagnóstico, en el estadio IV, la sobrevida es de 40% en hombres y del 33% en mujeres; y en el estadio III es del 89% en hombres y del 87% mujeres (Cancer Research UK).⁶⁷ Considerando todos los estadios de CCR, nosotros registramos 9.1% más sobrevivientes estando en estadio IV y 7% menos sobrevivientes en el estadio III que lo reportado por Cancer Research UK.

Cambios en el desempeño de los pacientes

Usando la EK, identificamos tres sub-grupos de pacientes: aquellos que mejoraron su desempeño después de la extirpación quirúrgica y durante los 12 meses de tratamiento, los que no respondieron al tratamiento y los que

empeoraron a pesar del tratamiento. Lo anterior sugiere fuertemente que en un número considerable de pacientes (57.7%) sus neoplasias fueron resistentes a la quimioterapia. Por otro lado, considerando solamente los estadios avanzados, y 12 meses después iniciado el tratamiento, el 50% de nuestros pacientes con CCR respondió a FOLFOX⁶⁸, el cual es usado en el Hospital Universitario de la UANL o a XELOX⁶⁹, que se usa en la UMAE25.

Correlación de los cambios en el desempeño físico a 12 meses del diagnóstico y los parámetros sociodemográficos y clínicos

Hay un consenso en cuanto a la relación entre factores de riesgo y CCR⁵⁴, sin embargo, no existe información acerca de la correlación de factores de riesgo o características clínicas del CCR con la progresión del CCR, excepto los estadios en que se encontraba el CCR. Analizamos, mediante la prueba estadística de Spearman, la correlación entre cada uno de los parámetros sociodemográficos y clínicos, identificados en el presente estudio, con los cambios en la EK a 12 meses de iniciado el tratamiento. Utilizamos la EK como una medida del progreso del CCR durante un periodo de 12 meses, no encontramos correlación significativa con la progresión del CCR con ningún factor de riesgo, este hecho sugiere que una vez establecido el CCR, los factores de riesgo no ejercen un efecto medible en la progresión del CCR utilizando nuestros métodos de investigación. En cuanto a los hallazgos clínicos, encontramos una correlación significativa en el cambio en la EK y el estadio del CCR, obteniendo el peor desempeño en pacientes que iniciaron su

tratamiento en estadios III o IV y en aquellos que presentaron pólipos acompañando los tumores primarios en pacientes en estadio III. Una evolución no favorable del CCR en estadios avanzados es completamente conocida. Lo que es interesante, fue la presencia de pólipos en la misma región del intestino donde se encuentra el tumor primario, este hecho sugiere que la presencia de pólipos en cáncer avanzado podría ser un factor de mal pronóstico, lo anterior en concordancia con los hallazgos de Bruing y cols⁷¹, que también encontraron pólipos adenomatosos y adenocarcinomas en el mismo sitio de la pieza anatómica resecada y propusieron que los pólipos son intermedio entre mucosa normal y adenocarcinoma, además los pólipos contienen a menudo adenocarcinomas en su estructura, acerca de este hecho Nivatvongs y cols. destacaron que el factor de riesgo más significativo para la metástasis a nódulos linfáticos en pacientes con carcinoma invasivo es la invasión del pólipo en submucosa de la pared intestinal⁷². De acuerdo con lo anterior, desecharon la primera parte de nuestra hipótesis número 2: *“Al menos uno de los parámetros **sociodemográficos** está relacionado con el empeoramiento de la salud de los pacientes con CCR”*; pero se sostiene la segunda parte de dicha hipótesis *“Al menos uno de los parámetros **clínicos** está relacionado con el empeoramiento de la salud de los pacientes con CCR.”*

Evaluación preliminar de la confiabilidad del ATP-CRA para distinguir entre cultivos sensibles y resistentes a 5FUOL

El ATP-CRA produjo los resultados esperados con los estándares de ATP y con la línea COLO 320DM, la cual nosotros habíamos determinado previamente

que es sensible a 5-FU. Por otro lado, encontramos que el 80% de los cultivos primarios de CCR fue resistente a la 5-FUOL y que el 20% de nuestros cultivos primarios de CCR fue sensible a 5FUOL. Estos resultados muestran que ATP-CRA, con la modificación que nosotros hicimos para adecuar dicho bioensayo a su aplicación clínica es capaz de distinguir entre cultivos primarios de CCR, sensibles y resistentes y de producir resultados predecibles, utilizando estándares. Con estos resultados confirmamos nuestra hipótesis número 3: *“El ATP-CRA es apto para diferenciar entre cultivos primarios sensibles y resistentes a los fármacos utilizados en FOLFOX-6”*. Nosotros estamos considerando que los cultivos primarios totales contienen todas las células de los tumores primarios y no preferentemente células cancerosas, como se hace en el método original.⁴⁶

Tomando en consideración los resultados, en conjunto, de las fases 1 y 2 de este estudio, sabemos ahora que los estadios avanzados de CCR, II y IV requieren un cuidado personalizado para aumentar el desempeño físico de los pacientes y que es factible utilizar el ATP-CRA para analizar la sensibilidad o resistencia al esquema quimioterapéutico que se ofrezca a los pacientes. El siguiente paso en el camino de disponer de un método personalizado para predecir el valor predictivo del éxito o fracaso de un esquema terapéutico del ATP-CRA deberá consistir en realizar un estudio minucioso de los factores que intervienen en el éxito de los esquemas para tratar el cáncer. Para ello será necesario lo siguiente; 1) analizar la conveniencia y factibilidad de implementar esquemas personalizados, en vez de los esquemas estandarizados que se

utilizan actualmente. 2) Incrementar sensiblemente el número de pacientes participantes. 3) Tomar muy en cuenta los resultados de sensibilidad del bioensayo con ATP-CRA, ensayando específicamente las mezclas de fármacos que se utilizarán en cada paciente. Además, es muy importante considerar en el análisis, otras variables que deben influir en los resultados favorables finales, tales como la edad, el estado de desempeño físico de los pacientes al iniciar su tratamiento, la presencia de pólipos coexistiendo con los tumores primarios, el estado psíquico de los pacientes, su alimentación, el apoyo moral de los familiares, si se aplica o no la radioterapia y el uso de medicina alternativa. Por otro lado, es muy conveniente explorar el uso de medicamentos que no son de primera línea contra el CCR, pero que ya han probado su eficacia en el tratamiento de otros tipos de cáncer.

CAPÍTULO 9

CONCLUSIONES

- 1) El presente estudio llena vacíos en el conocimiento epidemiológico del CCR en México y en el mundo.
- 2) Los factores de riesgo y hallazgos clínicos que encontramos en la población del Noreste de México no son idénticos a los descritos en otras regiones del mundo y difieren aun en otras regiones del país, pero se encuentran dentro de los parámetros mundiales.
- 3) Una considerable y creciente proporción de pacientes con CCR es más joven de 50 años, incluso están en la tercera década de su vida.
- 4) La correlación entre el estadio de CCR con el avance de la neoplasia está acorde con el consenso de que entre más avanzado se encuentre el CCR, peor será el pronóstico.
- 5) La coexistencia de pólipos y adenocarcinomas parece ser un marcador de mala evolución del CCR.
- 6) El ATP-CRA para valorar la sensibilidad o resistencia a medicamentos contra el CCR parece ser una buena alternativa como predictor del éxito de un esquema terapéutico, sin embargo, al parecer existen varios otros

factores que influyen decisivamente en la extensión y calidad de supervivencia de los pacientes que inician su tratamiento en estadios avanzados.

- 7) Es muy importante educar a la población para que se realice exámenes periódicos en busca de indicios de CCR, el cual tiene un muy buen pronóstico en estadios tempranos. Esta vigilancia debe implementarse incluso entre personas con edades entre 20 y 50 años.

CAPÍTULO 10

PERSPECTIVAS

- 1) Incrementar sensiblemente el número de pacientes participantes.
- 2) Aprovechar la sensibilidad y especificidad del ATP-CRA para determinar la dependencia o correlación de la respuesta clínica a los esquemas más utilizados en nuestras instituciones de salud.
- 3) Determinar la eficacia y seguridad para tratar el cáncer colorrectal en estadios III y IV con medicamentos alternativos.
- 4) Además de la sensibilidad de los cultivos primarios de CCR a las mezclas de fármacos que componen los esquemas quimioterapéuticos, identificar otros parámetros que influyen en la extensión y calidad de sobrevivencia de los pacientes con CCR en estadios III y IV.
- 5) Comparar los resultados entre esquemas individualizados, tomando en cuenta los puntos 1-3 con los resultados de los esquemas estandarizados.

CAPÍTULO 11

ANEXOS



**FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA
PARTICIPAR EN UN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN
CLINICA PARTICIPANTES MAYORES DE 18 AÑOS**



Nombre del estudio: Análisis in vitro de la sensibilidad de tumores colorrectales a la quimioterapia.

Número de registro: B111-004

Expedido por el Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la UANL.

Justificación: El cáncer de colon ocupa el segundo lugar entre las neoplasias malignas del tracto gastrointestinal y tiene una alta incidencia en el Norte de la República. Actualmente se presenta en pacientes menores de 50 años, en los cuales la enfermedad es mucho más agresiva que en personas de mayor edad. El diagnóstico en México se realiza cuando el CCR ha alcanzado estadios de evolución avanzados (II, III ó IV) y se receta a los pacientes medicamentos que ya han probado su eficacia en grupos de pacientes de muchos países (esquemas quimioterapéuticos estandarizados), pero que no se sabe con seguridad si van a ser eficaces con un paciente en particular, porque una combinación de medicamentos puede ser buena para controlar el cáncer de un paciente, pero no para controlar el cáncer de otro paciente, porque sus tumores son resistentes a uno más de los medicamentos que está recibiendo. Lo que sí se sabe es que casi todos los medicamentos que se usan combinados para tratar el cáncer pueden causar serios daños a la salud de las personas a las que se los están dando. Entonces los pacientes sufren el efecto dañino de su cáncer y también el de su tratamiento (quimioterapia). La gran mayoría, si no todos los pacientes en estas condiciones mueren poco después de haber empezado su quimioterapia. Entonces, **este proyecto se justifica** porque es muy importante que los investigadores busquen maneras de que las quimioterapias sean mejores para tratar el cáncer y que les produzcan menos molestias e incapacidad a los pacientes (buena calidad de vida). Una de las mejores maneras para lograr estos beneficios es darle a cada paciente un tratamiento que se sepa que va a poder atacar a su cáncer (quimioterapia personalizada). Pero lograr eso se necesita primero hacer un estudio para encontrar un método que permita saber con oportunidad si el grupo de medicamentos que el médico piensa utilizar para tratar un cáncer realmente va a poder controlarlo y alargar la sobrevida del paciente con una buena calidad de vida.

El objetivo del estudio es evaluar el poder del ATP-CRA-adequado-para-uso-clínico para predecir la eficacia de esquemas quimioterapéuticos estandarizados en pacientes con adenocarcinoma de CCR en estadios III ó IV.

Procedimientos. Los pacientes que participarán en este proyecto lo harán en forma libre y voluntaria y podrán retirarse del estudio con el simple hecho de así manifestarlo a su médico. Esto de ninguna manera será motivo para que el paciente deje de recibir la mejor atención que sea posible otorgarle. Se ha invitado a cada uno de los 50 pacientes que participarán en el presente proyecto porque padecen cáncer colorrectal en un estadio avanzado y deben someterse a cirugía para que los médicos obtengan una biopsia de su tumor para confirmar el

diagnóstico o para quitarles el tumor como una terapia necesaria para controlar su cáncer. Luego recibirán un tratamiento con medicamentos contra el cáncer (quimioterapia) y asistirán a varias consultas con su médico oncólogo para su control. La participación de cada uno de los pacientes en el presente proyecto será de hasta 20 meses a partir del día en que inicie su quimioterapia, la participación de cada paciente consistirá exclusivamente en otorgar su consentimiento, firmando el presente documento, para que se utilice una parte de la biopsia o del tumor y para utilizar sus datos clínicos y personales para realizar los análisis de los resultados necesarios, pero de por ningún motivo se revelará su identidad y en todo momento se respetará su dignidad.

El procedimiento que se seguirá durante el proyecto al que usted ha sido invitado consiste en hacer crecer en el laboratorio las células que forman el tumor o la biopsia de cada paciente y darle a esas células los medicamentos que cada paciente va a recibir durante su quimioterapia. El propósito de ese estudio es saber si esas medicinas son capaces de matar a las células del tumor, estando éstas afuera de su cuerpo. Después de que el paciente haya tomado su quimioterapia y hayan pasado 11.7 meses, a partir de que esta persona recibió sus primeros medicamentos, los investigadores que trabajaron con las células y los doctores que estuvieron dándole la quimioterapia a los pacientes que participan en este estudio se van a reunir para comparar los resultados que cada quien obtuvo. Si las células cultivadas y tratadas en el laboratorio se murieron con los medicamentos que recibió el paciente, y el paciente está todavía vivo, entonces podrá decirse que hubo congruencia entre los resultados del laboratorio y la forma en la que respondió el paciente. De igual manera habrá congruencia si los investigadores observan que las células de un paciente no se murieron y el paciente murió antes de que se cumplieran los 11.7 meses. Si hay congruencia entre los resultados del laboratorio y la forma en la que reaccionó, cuando menos al 80% de los pacientes, se podrá concluir que el método del laboratorio que vamos a probar en este proyecto puede decirle al doctor, por anticipado, si el tratamiento que piensa utilizar va a poder controlar el tumor de su paciente, antes de que él empiece su tratamiento. Pero si la congruencia entre los resultados del laboratorio y la forma en la que reaccionaron los pacientes a su quimioterapia es menor al 80%, se podrá saber que el método que nos interesa probar no sirve para predecir el resultado de la quimioterapia. El método que deseamos probar y adaptar para usarlo de la manera en la que antes explicamos se llama ATP-CRA y consiste en medir la cantidad de una sustancia que producen las células cuando están vivas y que utilizan como fuente de energía. Ese compuesto se llama trifosfato de adenosina (ATP). Si las células se mueren o se intoxican por efecto de los medicamentos que se usan para la quimioterapia del cáncer la cantidad de ATP disminuye. Entonces, si las células dejan de producir ATP después de ponerles los medicamentos que los pacientes recibirán sabremos que ese medicamento o combinación de medicamentos las mata y podríamos esperar que también maten a la mayor parte de las células del tumor durante la quimioterapia. **Las contribuciones científicas del proyecto** consisten en 1) hacer todo lo que sea necesario para que el ATP-CRA sirva para predecir el efecto de la quimioterapia y 2) Hacer un análisis matemático para saber con exactitud si el ATPCRA adaptado para usarse a favor de los pacientes verdaderamente los puede ayudar a ellos y a los médicos, prediciendo la eficacia de la quimioterapia. **Posibles riesgos y molestias:** Mi participación en este proyecto no pondrá en riesgo mi salud ni mi dignidad más de lo que implican mis estudios de laboratorio y mi quimioterapia, porque los doctores usarán los tejidos que sobren después de haber hecho los estudios de patología que yo necesito hacerme para que los médicos puedan darle seguimiento a mi enfermedad, o tomarán el tumor que el cirujano me quite porque así conviene a mi salud. El único riesgo que yo correré es que estoy autorizando a los investigadores para que utilicen mis datos clínicos para su estudio.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: Este proyecto solo producirá conocimientos valiosos sobre un método y un enfoque de tratamiento del cáncer completamente nuevo en México. Eso quiere decir que la contribución de los participantes será altruista. Sin embargo independientemente de éste protocolo, el médico tratante se compromete desde ahora a ofrecer al paciente la mejor alternativa de tratamiento; si éste fuera diferente a la quimioterapia que va a iniciar, el cambio se tuviese que hacer durante los 20 meses de observación, y el paciente saldrá del proyecto sin ningún prejuicio para él. Fuera de lo anterior

los participantes, no recibirán ningún beneficio directo del estudio, pero habrán contribuido para que en el futuro los pacientes con CCR tengan una mejor oportunidad de alargar su sobrevivida con una buena calidad de vida. El éxito de este proyecto sentará las bases para probar el mismo método con otros tipos de cáncer y sobre todo para probar la bondad de los tratamientos personalizados basados en la evidencia de los bioensayos. Mejores esquemas quimioterapéuticos para el tratamiento de diversos tipos de cáncer—con medicamentos más eficaces— abre la posibilidad de ofrecer a los pacientes una mejor calidad de vida, y una sobrevivida más larga. Se le ahorraría la necesidad de gastar en medicamentos de alto costo de dudosa eficacia.

Información sobre resultados y alternativas: Los doctores me explicaron que los resultados que ellos obtengan al comparar el método ATP-CRA con la forma en la que yo reaccione con la quimioterapia nos será suficiente para que ellos tengan una conclusión que sea válida sobre el poder del método ATP-CRA para predecir si una combinación de medicamentos contra el cáncer será buena o mala para el paciente que la recibirá. Si es mi voluntad, los doctores me dirán cual fue el resultado de las pruebas de laboratorio con el método ATP-CRA y cuál es el estado de mi padecimiento, una vez que hayan transcurrido 11.7 meses de iniciada mi quimioterapia.

Participación o retiro: También se me ha dado la certeza de que en el caso de que yo decida no participar, desde el principio del estudio o en cualquier otro momento, podré hacerlo sin ninguna explicación y solo bastará externar mi voluntad. A pesar de mi decisión de salir del estudio, yo seguiré teniendo la misma atención excelente que los doctores otorgan a todos sus pacientes.

Privacidad y confidencialidad: Se me han dado absoluta seguridad de que no divulgarán mi identidad de ninguna forma posible y que en todo momento respetarán mi dignidad.

Colección de material biológico Autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Beneficios al término del estudio: Informe sobre los resultados del estudio *ex vivo*, si el participante lo solicita.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio, los pacientes que se estén atendiendo en el Hospital Universitario de la Facultad de Medicina de la UANL podrán dirigirse con la Dra. Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez (Investigador Responsable) Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina, UANL. Tel: 8329 40 00 ext.-2581

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en la Ave. Francisco I. Madero esquina con Eduardo Aguirre Pequeño.

Nombre, firma del participante
Y fecha

Testigo 1

Nombre, Firma de quien obtiene el
consentimiento y fecha

Testigo 2

Nombre, dirección, relación
fecha y firma

Nombre, dirección, relación
fecha y firma

Monterrey, Nuevo León



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
(ADULTOS)



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS
DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: Detección Individualizada *in vitro* de la sensibilidad de tumores colorrectales a la quimioterapia.

Lugar y fecha: _____

Número de registro: R-2012-785-075

Justificación: El hecho de que el cáncer de colon en México por estadísticas ocupa el segundo lugar entre las neoplasias malignas y que actualmente se presente en pacientes menores de 50 años nos hace pensar que es necesario realizar diagnósticos tempranos y poder otorgar al paciente un tratamiento antitumoral eficaz centrándonos principalmente en la respuesta ante la quimioterapia, es por lo que se desarrollará el método ATP-CRA que tiene como objetivo medir la viabilidad de las células por la cantidad de ATP que produzcan dándonos una visión de que fármacos son los ideales para cada paciente y así aminorar los efectos colaterales que actualmente se presentan, es un método no utilizado aun en México, pero se tiene el antecedente que ha sido útil en pacientes con cáncer de pulmón, estómago y mamá en países como Korea con un alto rango de efectividad y con múltiples ventajas como el requerir un tamaño de muestra pequeño, que permite que no sea un proceso traumático para el paciente. Se espera que con este método se pueda dar un tratamiento más personalizado al paciente, implementando nuevas técnicas y así mejorar la calidad de vida.

Objetivo del estudio: El primer objetivo será probar un método nuevo de laboratorio, que se llama ATP-CRA. Esto para saber si las células que están formando mi tumor (malignas) se mueren o no con las medicinas que el oncólogo me va a aplicar durante mi quimioterapia. El método ATP-CRA consiste en separar las células que están produciendo mi tumor, cultivarlas en el laboratorio y ponerles la misma combinación de medicamentos que yo voy a recibir. Luego, los doctores van a esperar un año. Mientras, yo ya habré recibido la quimioterapia. Después, los doctores que trabajaron con mi tumor en el laboratorio van a comparar sus resultados con la opinión que tenga mi oncólogo sobre el resultado de mi quimioterapia. Y si resulta que las mis células del tumor se murieron en el laboratorio por efecto de los mismos medicamentos que yo recibí, y a mí me fue bien con mi tratamiento, los investigadores sabrán que su nuevo método ATP-CRA sí sirve para predecir cómo les va a ir a los pacientes en el futuro, cuando reciban alguna combinación de medicinas para su quimioterapia. Los doctores me explicaron que los resultados que ellos obtengan al comparar el método ATP-CRA con la forma en la que yo reaccione con la quimioterapia nos será suficiente para que ellos tengan una conclusión que sea válida sobre el poder del método ATP-CCR para predecir si una combinación de medicamentos contra el cáncer será bueno o malo para el paciente que la recibirá. Por eso, junto conmigo van a participar otras personas que también tienen cáncer colorrectal en estado avanzado. No importará cual sea su edad o su sexo. Y van a analizar los resultados que obtengan con todos nosotros, aplicando métodos matemáticos. El segundo objetivo va a consistir en investigar si hay otros medicamentos que los médicos no hayan considerado hasta ahora para tratar el cáncer colorrectal y que sean efectivos. De nuevo, los doctores en el laboratorio van a usar su método ATP-CCR y las células que no se hayan utilizado para el primer objetivo para hacer estos experimentos. Y lo que van a hacer es lo mismo que ya me explicaron para el primer objetivo, pero en lugar de usar la combinación de

medicinas que se usan normalmente para tratar a los pacientes con cáncer colorrectal, van a probar, por separado, una serie de otros medicamentos. Si los investigadores encuentran otros medicamentos que maten células de tumores colorrectales, en un futuro podrían probarlos en pacientes a los que le vaya mal con los medicamentos clásicos.

Procedimientos: Biopsia de tejido tumoral de cáncer colorrectal.

Posibles riesgos y molestias: Mi participación en este proyecto no pondrá en riesgo mi salud ni mi dignidad más de lo que implican mis estudios de laboratorio y mi quimioterapia, porque los doctores usarán los tejidos que sobren después de haber hecho los estudios de patología que yo necesito hacerme para que los médicos puedan darle seguimiento a mi enfermedad, o tomarán el tumor que el cirujano me quite porque así conviene a mi salud. El único riesgo que yo correré es que estoy autorizando a los investigadores para que utilicen mis datos clínicos para su estudio.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: Los doctores me explicaron que yo no voy a obtener ningún beneficio al participar en este estudio. Por eso, ellos me pidieron que yo participe en una forma altruista. Es decir, en beneficio de personas que sufran del mismo tipo de cáncer que yo, y que podrían beneficiarse en el futuro con lo que aprendan los doctores con este estudio.

Información sobre resultados y alternativas: Los doctores me explicaron que los resultados que ellos obtengan al comparar el método ATP-CRA con la forma en la que yo reaccione con la quimioterapia nos será suficiente para que ellos tengan una conclusión que sea válida sobre el poder del método ATP-CCR para predecir si una combinación de medicamentos contra el cáncer será bueno o malo para el paciente que la recibirá. Si es mi voluntad, los doctores me dirán cual fue el resultado de las pruebas de laboratorio con el método ATP-CRA y cuál es el estado de mi padecimiento.

Participación o retiro: También se me ha dado la certeza de que en el caso de que yo decida no participar, desde el principio del estudio o en cualquier otro momento, podré hacerlo sin ninguna explicación y solo bastará externar mi voluntad. A pesar de mi decisión de salir del estudio, yo seguiré teniendo la misma atención excelente que los doctores otorgan a todos sus pacientes.

Privacidad y confidencialidad: Se me han dado absoluta seguridad de que no divulgarán mi identidad de ninguna forma posible y que en todo momento respetarán mi dignidad.

En caso de colección de material biológico (si aplica):

- No autoriza que se tome la muestra.
- Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes: (Si aplica)_____.

Beneficios al término del estudio:_____.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse con la Dra. Herminia Gpe.Martinez Rodriguez(investigador responsable), Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, UANL Tel.8329-40-00 ext.4173-74

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B " de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: conise@cis.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Testigo 1

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

CAPÍTULO 12

REFERENCIAS

- 1.- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136: E359–E386.
- 2.- World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan Atlas. Globocan 2012.
- 3.- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Secretaría de Salud y Gobierno Federal. Perfil Epidemiológico de los Tumores Malignos en México, 2011; pp 1-197.
- 4.- American Cancer Society. Infographics colorectal cáncer, 2011
- 5.- Moore KL, Dalley II AF. Anatomía con orientación clínica. 5ta edición. Panamericana; 2008; capítulo 2: 277-279
- 6.- Tárraga-López P, Solera- Albero J, Rodriguez-Montes JA. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clin Med Insights: Gastroenterol* 2014; 7:33-46
- 7.-Belmontes-Montes C, Cosme-Reyes C. Tratamiento del cáncer de colon y seguimiento. *Gastroenterol Mex* 2007; 72:122-125

- 8.- Goldman L. Cecil Tratado de Medicina Interna 24^a edición, Vol 1. Elsevier 2013. Capítulo 199:1284
- 9.- McPhee SJ, Papadakis MA. Gastrointestinal Disorders. Current Medical Diagnosis and Treatment, McGrawHill; 2008, chapter 14: 473-565
- 10.- Lu JY, Sheng JQ. Advances in the study of lynch syndrome in China. World J Gastroenterol 2015; 22:6861-6871
- 11.- Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. The Lancet 2007; 369 (9573): 1627–40.
- 12.-Joshi AD, Kim A, Lewinger JP, et al. Meat intake, cooking methods, dietary carcinogens, and colorectal cancer risk: findings from the colorectal cancer family registry. Cancer Medicine 2015; 4(6):936-952.
- 13.-Jarosz M, Sekula W, Rychlik E. Trends in dietary patterns, alcohol intake, tobacco smoking, and colorectal cancer in Polish population in 1960-2008. BioMed Research International 2013; Article ID 183204, 10 pages.
- 14.- Marchand LL, Wilkens LR, Kolonel LN, et al. Associations of sedentary lifestyle, obesity, smoking, alcohol use, and diabetes with the risk of colorectal cancer. Cancer Research 1997; 57:4787-4794
- 15.- Lupton JR, Turner ND. Potential protective mechanisms of wheat bran fiber. AM J Med 1999;106:24S-27S
- 16.- Jensen K, Afroze S, Munshi MK, Guerrier M, Glaser SS. Mechanisms for nicotine in the development and progression of gastrointestinal cancers. Transl Gastrointest Cancer 2012;1:81-87

17.- Boffetta P, Hashibe M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol.* 2006;7:149-156

18.-Robbins and Cotran, Kumar-Vinaym A.A, Nelson F. *Tracto gastrointestinal. Patología estructural y funcional*, Elsevier 2010

19.- Murtaza Kasi P, Thanarajasingam G, Finnes H, Villasboas JC, Hubbard BJ, and Grothey A. Chemotherapy in the Setting of Severe Liver Dysfunction áncernts with Metastatic Colorectal Cancer. *Case Reports in Oncological Medicine* 2015; Article ID 420159

20.- De Souza A, Pelham-Daly K, Yoo J, Wasif-Saif m. Safety and efficacy of Combined Yttrium 90 Resin Radioembolization with Aflibercept and FOLFIRI in a Patient with Metastatic Colorectal Cancer. *Case Reports in Oncological Medicine* 2015, Article ID 461823

21.- Meyer A, Behrend M. Pancreatic head resection for invasive colon cancer – apropos of a case. *Anticancer Research* 2007; 27: 1733-1736.

22.-Failli A, Consolono R, Legitimo A, Spisni R, Castagna M, Romanini A, et al. The challenge of culturing human colorectal tumor cells: establishment of a cell culture model by comparison of different methodological approaches. *Tumori* 2009;95:343.347

23.- Tong J, Wang Y, Chang B. Associations between tumor markers and risk of colorectal polyp recurrence in Chinese people. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(4):6397-6405.

- 24.- Stewart SL, Wike JM, Kato I, Lewis DR, Michaud F. A population based study of colorectal cancer histology in the United States, 1998-2001. *Cancer* 2006; 107:1128-1141
- 25.- Deans GT, Patterson CC, Parks TG, Spence RA, Heatley M, Moorehead RJ, et al. Colorectal carcinoma: importance of clinical and pathological factors in survival. *Ann R Coll Surg Engl* 1994;76: 59-64
- 26.- Cappell MS: The pathophysiology clinical presentation and diagnosis of colon cancer and adenomatous polyps. *Med Clin North Am* 2005; 89:1-42
- 27.- Kanazawa T, Watanabe T, Kazama S, Tada T, Koketsu S, Nagawa H. Poorly differentiated adenocarcinoma and mucinous carcinoma of the colon and rectum show higher rates of loss of heterozygosity and loss of E-cadherin expression due to methylation of promoter region. *Int J cancer* 2002;102:225-229
- 28.- Reynolds I, Healy P, Mcnamara DA. Malignant tumours of the small intestine. *The Surgeon* 2014; 12: 263-270
- 29.- San-Wook Seo, Seung-Hwa Lee, Duck-Joo Lee, et al. Colonic mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma indentified by chromoendoscopy. *World J Gastroenterol* 2014; 20(48): 18487-18494.
- 30.- American Cáncer Sociaty Infographics colorectal cáncer 2014
- 31.- Rodríguez Santiago JM, Sasako M , Osorio J. TNM 7.a edición 2009 (UICC/AJCC) y Clasificación Japonesa 2010 en Cáncer Gástrico. Hacia la simplicidad y estandarización en el manejo del cáncer gástrico, *Cir esp.* 2011; 89(5):275–281.

- 32.- Belov L, Zhou J, Christopherson RI. Cell surface markers in colorectal cancer prognosis. *Int J Mol Sci* 2010;12:78-113
- 33.-Longo D, Fauci A, Kasper D, et al. Harrison's principles of Internal Medicine 18th edition. Mc Graw Hill 2011, vol 1
- 34.- Fedewa SA, Cullati S, Bouchardy C, et al. Colorectal cancer screening in Switzerland: Cross-Sectional Trends (2007-2012) in socioeconomic disparities. *Plos one* 2015: 1-14
- 35.-Nakama H, Zhang B, Fattah A, et al. Colorectal cancer in iron deficiency anemia with a positive result on immunochemical fecal occult blood. *Int J Colorectal Dis* 2000; 15:271-274
- 36.- Yancik R, Wesley MN, Ries LA, et al. Comorbidity and age as predictors of risk for early mortality of male and female colon carcinoma patients: a population-based study. *Cancer* 1998; 82:2123-2134
- 37.- Habermann JK, Bader FG, Franke C, et al. From de genome to the proteome biomarkers in colorectal cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2008; 393:93-104
- 38.- Tanaka T, Tanaka M, Tanaka T et al. Biomarkers for colorectal cancer. *Int J Mol Sci* 2010; 11:3209-3225
- 39.-Rajagopal PS, Nipp RD, Selvaggi KJ. Chemotherapy for advanced cancers. *Ann Palliat Med* 2014;3(3):203-228

- 40.- Yang SY, Sales KM, Fuller BJ, et al. Inducing Apoptosis of human colon cancer cells by an IGF-I D domain analogue peptide. *Mol Cancer* 2008;7:17
- 41.- Karnofsky DA, Abelmann WH, Craver LF, Burchenal JH. The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. *Cancer* 1948: 634-656
- 42.-Toner LE, Vrhovac R, Smith EA, et al. The schedule-dependent effects of the novel antifolate Pralatrexate and Gemcitabine are superior to Methotrexate and Cytarabine in models of human non-hodkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2006;12(3): 924-932
- 43.- Alley MC, Scudiero DA, Monks A, et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer research* 1998; 48: 589-601
- 44.- Kim HA, Yom CK, Moon BI, et al. The use of an in vitro adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay to predict chemotherapeutic response in breast cancer. *Breast* 2008;17:19-26
- 45.- Park S, Woo Y, Kim H, et al. In vitro adenosine triphosphate based chemotherapy response assay in gastric cancer. *J Gastric Cancer* 2010;10:155-161
- 46.- Huh JW, Park YA, Lee KY, Sohn SK: Heterogeneity of adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay in colorectal cancer-secondary publication. *Yonsei Med J* 2009; 50:697-703

47.- Konecny G, Chrons C, Pegram M, et al. Correlation of drug response with ATP tumorchemosensitivity of uveal and cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2001; 11:601-609

48.- Moon YW, Choi SH, Kim YT, et al. Adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay (ATP-CRA) guided platinum-based 2-drug chemotherapy for unresectable non-small-cell lung cancer. *Cancer* 2007;109:1829-1835

49.- Goldberg JA, Kerr DJ, Watson DG, et al. The pharmacokinetics of 5-fluorouracil administered by arterial infusion in advanced colorectal hepatic metastases. *Br. J. Cancer* 1990; 61:913-915

50.- Anderson JH, Kerr DJ, Setanoians A, et al. A pharmacokinetic comparison of intravenous versus intra-arterial folinic acid. *Br. J. Cancer* 1992; 65: 133-135

51.-Reigner B, Blesch K, Weidekamm E. Clinical pharmacokinetics of capecitabine. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40(2):85-104

52.- Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI). Censos de población y vivienda 2010. Derecho-habiente y uso de servicios de salud. Porcentaje de población derechohabiente y su distribución según institución por cada entidad federativa. 2010.

53.- Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: Incidence, Mortality, Survival, and risk factors. *Clinics in colon and rectal surgery.* 2009;22:191-197

54.- Parkin M, Bray F, J. Ferlay, Pisani P. *Global Cancer Statistics, 2002.* *Cancer J Clin* 2005;55: 74-108.

55.- Rasool MT, Lone MM, Wani ML , Afroz F, Zaffar S, Mohib-ul Haq M. Cancer in Kashmir, India: Burden and pattern of disease. J Cancer Res Ther 2012; 8(2): 243-246

56.- Boyle P, Langman JS. ABC of colorectal cancer Epidemiology. BMJ. 2000; 321:805-808

57.- Cancer. Net Colorectal Cancer: Risk Factors and Prevention; 1-5
<http://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/risk-factors-and-prevention>.

58.- Cancer Research UK. Let's beat cancer sooner. Bowel cancer incidence statistics.2015
<http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/bowel/incidence/#By2>

59.- Kitajima K, Fujimori T, Fujii S, Takeda J, Ohkura Y, Kumamoto T, Ishiguro S, et al. Correlations between lymph node metastasis and depth of submucosal invasion in submucosal invasive colorectal carcinoma: a Japanese collaborative study. J Gastroenterol 2004; 39:534–543

60.- Peedikayil MC , Nair P, Seenana SM, Radhakrishnan L Sadasivan S, Naryanan VA, et al. Colorectal cancer distribution in 220 Indian patients undergoing colonoscopy. Indian J Gastroenterol 2009; 28(6):212–215

61.- Márquez-Villalobos FO, Ambríz-González G, Romo-Sandoval VH, et al. Predictores Clínicos de Etapificación del cáncer colorrectal. Cir Ciruj 2008;76:311-315

62.- Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. N Engl J Med 1994; 331:1669-1674

- 63.- Bonelli L, Martines H, Conio M, Bruzzi P, Aste H. Family history of colorectal cancer as a risk factor for benign and malignant tumors of the large bowel. A case-control study. *Int J Cancer* 1988;41:513-517
- 64.- Janout V, Kollarova H. Epidemiology of colorectal cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacku Olomouc Czech Repub* 2001;145:5–10
- 65.- Zisman AL, Nickolov A, Brand RE, Gorchow A, Roy HK. Associations between the age at diagnosis and location of colorectal cancer and the use of alcohol and tobacco: implications for screening. *Arch Intern Med* 2006;166(6):629–634.
- 66.- Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. *Ca Cancer J Clin* 2009;59:366–378.
- 67.- Cancer Research UK. Let's beat cancer sooner. Bowel cancer survival statistics.
<http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/bowel/survival/bowel-cancer-survival-statistics>
- 68.-Chen Q, Xia HW, Ge XJ, Zhang YC, Tang QL, Bi F. Serum miR-19a predicts resistance to FOLFOX chemotherapy in advanced colorectal cancer cases. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14 (12): 7421-7426.
- 69.- Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337-345.

70.- Tzovaras AA, Karagiannis A, Margari C, Barla G, Ardavanis A. Effective Panitumumab treatment in patients with heavily pre-treated metastatic colorectal cancer: A case series. *Anticancer Res* 2011; 31: 1033-1038

71.-Bruin PA, Griffioen G, Verspaget HW, Verheijen JH, Lamers CB. Plasminogen activators and tumor development in the human colon: activity levels in normal mucosa, adenomatous polyps, and adenocarcinomas. *Cancer Res* 1987;47: 4654-4657

72.- Nivatvongs S, Rojanasakul A, Reiman HM, Dozois RR, Wolff BG, Pemberton JH, Beart RW Jr, Jacques LF. The risk of lymph node metastasis in colorectal polyps with invasive adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1991;34:323-328