

CÁNCER COLORRECTAL: MARCADORES DE PRONÓSTICO Y ORIENTACIÓN TERAPÉUTICA

Anna Colomer Valero y Manuel Guix Pericas

BIOPAT. Biopatología Molecular, S.L., Grup Assistència, Barcelona

INTRODUCCIÓN

El adenocarcinoma colorrectal constituye, hoy en día, una de las primeras causas de muerte por neoplasia maligna, siendo su incidencia especialmente alta en las poblaciones más desarrolladas desde el punto de vista socioeconómico. En la última década se ha incrementado notablemente su detección en estadios incipientes, así como el diagnóstico de lesiones precursoras.

El pronóstico de los pacientes con cáncer colorrectal está estrechamente relacionado con el grado de penetración del tumor en la pared intestinal, la afectación de ganglios linfáticos regionales y la presencia de metástasis a distancia. Puesto que la mayoría de recidivas postquirúrgicas suceden dentro de los 4 años subsiguientes, el intervalo de 5 años sin enfermedad parece un indicador fiable de curación. La probabilidad de supervivencia tras este intervalo se relaciona, pues, con el estadio tumoral. En términos generales, se considera que los enfermos en estadio II, con tumores que infiltran la pared cólica sin afectación ganglionar, presentan una sobrevida a los 5 años del 70-80%, mientras que en los de estadio III, con infiltración y metástasis ganglionares, la sobrevida se reduce al 30-40%. El pronóstico basado en la extensión a ganglios regionales empeora, también, dependiendo del número afectado, diferenciándose el grupo de pacientes con extensión de 1 a 3 ganglios de aquellos en los que se afectan 4 o más (66% frente a 37% de sobrevida a 5 años). Otros factores de mal pronóstico son la penetración del tumor a través de la pared intestinal hasta la grasa pericólica, la mala diferenciación histológica, la perforación o adherencia del tumor a órganos adyacentes y la invasión de venas.

La necesidad de identificar, por una parte, el grupo de pacientes de alto riesgo que cursará con recidiva postquirúrgica o progresión de la enfermedad –susceptible por tanto de beneficiarse de tratamientos complementarios–, unida a la de seleccionar el tipo de terapia adyuvante que requieren los sujetos con enfermedad avanzada, obliga a disponer de marcadores capaces de predecir la evolución de la enfermedad y la

respuesta al tratamiento. En los últimos años han sido constantes las aportaciones en la literatura de nuevos marcadores moleculares, cuya utilidad clínica en las distintas neoplasias ha sido discutida a partir de trabajos experimentales y estudios clínicos. Pero son minoritarios aquellos que se pueden considerar bien caracterizados o validados con finalidad pronóstica. En general, para establecer la utilidad de un marcador deben tenerse en cuenta tanto los aspectos técnicos como los clínicos. La técnica empleada debe ser suficientemente robusta, es decir, sensible, específica y reproducible, y los resultados deben ser fácilmente interpretables y tener significación clínica. Para ello es necesario contar con estudios clínicos que incluyan el seguimiento de pacientes, la metodología superponible y los resultados significativos. El procedimiento debe identificar grupos de pacientes con probabilidades de recurrencia, mortalidad o respuesta al tratamiento significativamente distintas, con independencia de otros factores.

Finalmente, cabe enfatizar la necesidad de unificación metodológica, tanto en estudios de investigación como en aplicaciones asistenciales, y considerar, además de la sensibilidad y la especificidad, la facilidad de aplicación y otras limitaciones de las técnicas de elección. Las técnicas de patología molecular –incluidas la inmunohistoquímica y el análisis mutacional–, requieren personal cualificado con amplia experiencia, conocimiento de una metodología compleja, sistemas rigurosos de validación de procesos, y control de calidad sistemático, que garanticen resultados fiables. No hay que olvidar que las discrepancias entre algunos trabajos de investigación son atribuibles a diferencias metodológicas y, que en la práctica asistencial, los errores de laboratorio se traducen en errores terapéuticos.

Este tema se centra en los marcadores de pronóstico más importantes y mejor estudiados en cáncer colorrectal, susceptibles de formar parte del hipotético panel de pronóstico capaz de predecir la evolución clínica de la neoplasia (Tabla 1).

Marcador	Estrategia	Técnica	Utilidad clínica
Actividad proliferativa	índice de proliferación expresión de proteína Ki-67 (MIB-1)	citometría estática o de flujo IHQ	pronóstico
p53	expresión de proteína p53 mutaciones del gen <i>TP53</i>	IHQ PCR-SSCP y secuenciación	pronóstico orientación terapéutica diagnóstico diferencial*
Cromosoma 18q	expresión de proteína DCC pérdida alélica de 18q	IHQ PCR-PAGE o análisis automático	pronóstico
TS	expresión de proteína TS expresión del gen <i>TS</i> (mRNA)	IHQ RT-PCR cuantitativa	orientación terapéutica
Inestabilidad genómica	inestabilidad de microsatélites	PCR-PAGE o análisis automático	cribado de riesgo hereditario HNPCC**

Tabla 1. Panel de los marcadores de pronóstico del cáncer colorrectal. (*) Metástasis de tumor primario conocido versus segunda neoplasia. (**) Permite la selección de un subgrupo de tumores de tipo hereditario no asociado a poliposis (HNPCC). IHQ: inmunohistoquímica; PCR: reacción en cadena por la polimerasa; SSCP, análisis de movilidad en gel; PAGE: electroforesis en geles de poliacrilamida; RT: transcriptasa inversa.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER COLORRECTAL

Los indicios disponibles permiten afirmar que la gran mayoría de cánceres de colon surgen de pólipos neoplásicos preexistentes. Sin embargo, el riesgo de desarrollar un adenocarcinoma no se debe a la presencia de pólipos en sí, sino a la probabilidad de que éstos se transformen. La progresión tumoral es un proceso multifásico que requiere años o, incluso, décadas hasta completarse. Es lógico pensar, pues, que existan una serie de mecanismos moleculares asociados a la progresión morfológica de cada neoplasia. En los últimos años se han producido importantes avances en el conocimiento de dichos mecanismos, fruto del análisis de los dos tipos fundamentales de cáncer de colon y recto heredofamiliares: la **poliposis cólica familiar** (PCF) y el **síndrome de Lynch** o **cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis** (HNPCC). Para cada uno de ellos se ha postulado un modelo de progresión tumoral distinto, respondiendo entre ambos al desarrollo de la mayoría de los carcinomas esporádicos.

Modelo de progresión del síndrome hereditario de poliposis cólica familiar

Este modelo responde al desarrollo de cáncer sobre un pólipo, y en él están implicados dos tipos de genes: los protooncogenes y los genes

supresores tumorales. Las mutaciones en estos genes confieren a las células portadoras ventajas proliferativas que contribuyen a la adquisición del fenotipo maligno. En concreto, las mutaciones involucradas en esta vía de progresión son responsables de la activación de un oncogén dominante (*c-K-ras*), y de la inactivación de diversos genes supresores (*APC*, *DCC* y *TP53*, como mínimo), eventos que comportan la alteración progresiva de los mecanismos reguladores del crecimiento y la diferenciación celulares. También siguen esta vía, además de los tumores del síndrome hereditario poliposis cólica familiar, el 80% de carcinomas esporádicos (Figura 1).

Modelo de progresión del síndrome hereditario del cáncer colorrectal no asociado a poliposis (síndrome de Lynch)

Más recientemente, y aparte del modelo de progresión de la poliposis cólica familiar, se ha propuesto un nuevo mecanismo de progresión para el cáncer colorrectal, caracterizado por la alteración de los mecanismos de reparación de los errores de replicación del DNA, que dan lugar a inestabilidad genética progresiva. A este modelo se acogerían los síndromes hereditarios de carcinoma no asociado a poliposis, y casi el resto –aproximadamente un 15%– de los carcinomas colorrectales esporádicos.

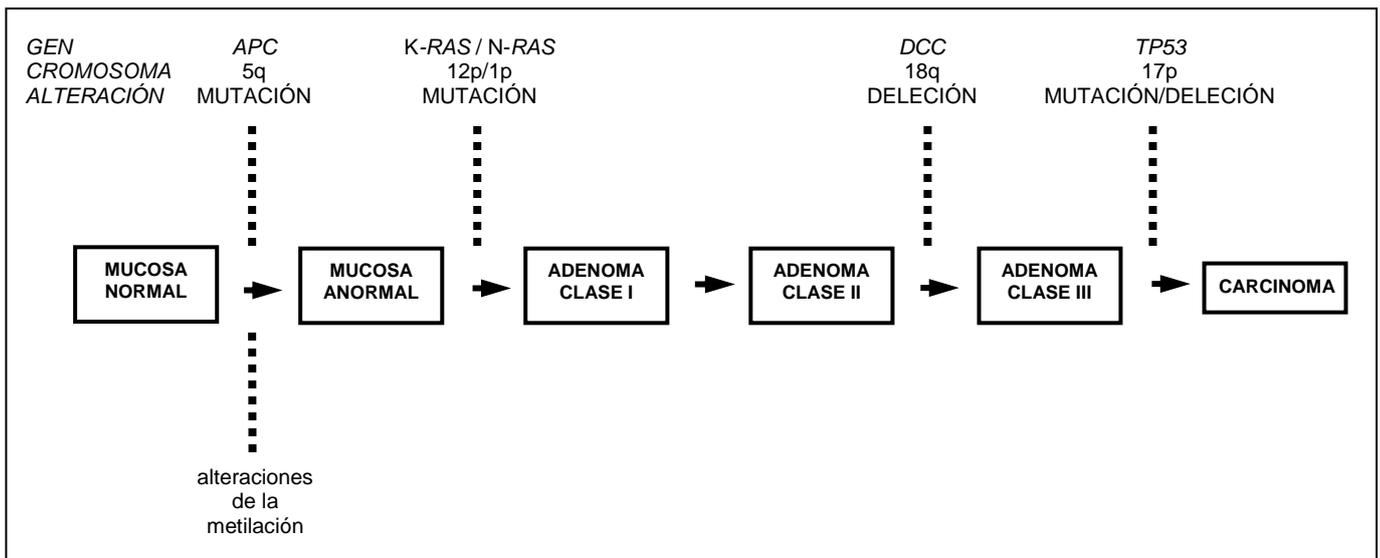


Figura 1. Esquema de progresión de las alteraciones genéticas que desencadenan el adenocarcinoma colorrectal de tipo poliposis cólica familiar (según Hamilton).

La inestabilidad genética, descrita en la mayoría de neoplasias humanas, refleja la susceptibilidad y tendencia que las células tumorales tienen para adquirir múltiples alteraciones. Este mecanismo constituye la base de la heterogeneidad tumoral y de la naturaleza multifásica de la carcinogénesis. Se han descrito diversos tipos de inestabilidad: 1) las grandes aberraciones cromosómicas, incluyendo aneuploidía, traslocaciones y deleciones, 2) el desequilibrio alélico, representado por amplificaciones y deleciones génicas, y 3) la inestabilidad de secuencias microsatélite, que pone de manifiesto la existencia de errores en la replicación del DNA.

MARCADORES SUSCEPTIBLES DE FORMAR PARTE DEL PANEL DEL CÁNCER COLORRECTAL

Actividad proliferativa: índice de proliferación y Ki-67

La búsqueda de sistemas adecuados para determinar la actividad proliferativa tumoral ha proporcionado distintos métodos que han permitido establecer su importancia como marcador de pronóstico y su relación con otros parámetros clínico-patológicos. De los métodos clásicos utilizados inicialmente –incluyendo el conteo mitótico microscópico con su limitación inherente de subjetividad, y el marcaje experimental con timidina tritiada y bromodeoxiuridina–, se ha pasado a técnicas citométricas. Éstas permiten expresar el índice proliferativo como porcentaje de células tumorales con contenido de DNA correspondiente a fase S de

síntesis del ciclo celular. La citometría estática, o de análisis de imagen, consigue determinar parámetros ópticos de células tratadas con tinción de Feulgen, específica para DNA. Estos parámetros, reconvertidos en parámetros informáticos, se procesan matemáticamente para la obtención de histogramas e índices de proliferación. Ello permite seleccionar y evaluar únicamente células tumorales, desechando las células no neoplásicas acompañantes, lo que se traduce en la posibilidad de obtener resultados de muestras con escasa representación tumoral. El inconveniente de este tipo de análisis radica en la lentitud del proceso de evaluación.

La citometría de flujo registra y mide la fluorescencia propia de los ácidos nucleicos reforzada con fluorocromos. Es un método de mayor precisión y rapidez que el análisis de imagen, pero requiere mayor volumen de muestra, no permitiendo, además, discriminar entre células tumorales y acompañantes. En estos casos, la superposición de poblaciones celulares en los histogramas o la contaminación por células diploides normales dificultan o impiden la obtención de resultados.

La aproximación inmunohistoquímica al estado proliferativo se basa en el marcaje pasivo con anticuerpos específicos contra proteínas que intervienen en el ciclo celular. De todas ellas, la de mayor impacto es la Ki-67, antígeno nuclear humano de naturaleza no histónica, presente en todas las células con actividad proliferativa y ausente en las que no lo están. Su síntesis se inicia en la fase G₁ del ciclo celular y aumenta durante la fase S, alcanzando máxima expresión al final de la misma según unos autores, o en las

fases G₂/M según otros. La limitación que suponía la imposibilidad de aplicar la técnica a tejidos no congelados se resolvió a partir de 1993 con la aparición de un nuevo anticuerpo monoclonal, el MIB-1, capaz de detectar Ki-67 en tejido fijado en formol tamponado e incluido en parafina, con especificidad comprobada y reactividad superponible al anticuerpo utilizado hasta el momento. Desde su aparición, el MIB-1 se ha convertido en una herramienta de gran utilidad práctica, permitiendo efectuar numerosos estudios retrospectivos.

El índice de expresión de Ki-67 en la neoplasia colorrectal es variable, considerándose las positivities iguales o superiores al 20% indicativas de alta actividad proliferativa y de consiguiente mal pronóstico.

p53

La pérdida alélica de la región 17p13 es uno de los fenómenos genéticos más frecuentes en el carcinoma de colon y recto. Sucede en el 70-80% de casos, pero sólo en el 10-30% de adenomas, lo que sugiere que esta alteración está relacionada con la transición de adenoma a carcinoma y, por tanto, incide de forma tardía en el proceso de carcinogénesis colorrectal. La región susceptible de delección contiene el gen supresor *TP53*, el estudio mutacional del cual demuestra la presencia de mutaciones puntuales en el alelo concomitante.

El gen *TP53*, formado por 11 exones, codifica una fosoproteína nuclear de 53.000 g/mol del mismo nombre capaz de formar homodímeros que, a su vez, dan lugar a tetrámeros que se unen a secuencias específicas de DNA bicatenario. Su función está relacionada con la inhibición de la progresión del ciclo celular en fase G₁ y con el fenómeno de muerte celular programada, conocido como apoptosis. Las mutaciones puntuales del gen *TP53* comportan la alteración de la proteína p53 nativa, que al unirse a la proteína normal codificada por el alelo no mutado, la inactivan. Este efecto, denominado negativo-dominante, confiere a la clona celular derivada una ventaja proliferativa, permitiendo que tumores que crecían hasta entonces a expensas de un cúmulo de alteraciones genéticas, eludan la parada del ciclo celular y el fenómeno de apoptosis. Otras veces la p53 actúa como verdadero supresor, pues la mutación puntual se acompaña de la pérdida del alelo concomitante y, en este caso, el tumor se origina por falta de función supresora del crecimiento celular.

El estado de p53 puede abordarse desde distintas estrategias, aunque la mayoría de estudios han sido realizados mediante inmunohistoquímica, con un umbral de positividad del 10% de núcleos inmunoreactivos. La utilización de anticuerpos monoclonales contra la p53 pone de manifiesto el acúmulo de proteína alterada a nivel del núcleo. La detección es posible porque la p53 mutada se estabiliza en el núcleo celular entre 4-12 horas cuando la proteína nativa habitualmente permanece en él durante sólo 15-20 minutos. Otra aproximación al estado de p53 consiste en el estudio mutacional de su gen, que ha sido posible gracias al desarrollo de técnicas moleculares como la reacción en cadena por la polimerasa, seguida de análisis de movilidad en gel y secuenciación. La combinación de estas tres técnicas permite identificar todo tipo de mutaciones (Figura 2). En el 90% de casos, esta alteración se produce en 90 de los 393 codones que se requieren para la síntesis de la proteína (exones 5-8), lo que facilita un análisis por sí mismo complejo.

La inmunohistoquímica tiene como ventajas la mayor rapidez y el menor coste, y el hecho de ser una técnica morfológica que constituye un aliciente más para el clínico. Sin embargo, aunque la correlación de los resultados obtenidos por inmunohistoquímica y por técnicas moleculares es buena, el ajuste no es perfecto. La inmunohistoquímica no puede detectar la acumulación de productos resultantes de mutaciones sin sentido, inserciones/delecciones intragénicas o alteraciones de la pauta de lectura, proteínas truncadas responsables de hasta un 10% de falsos negativos. Por otra parte, existen tumores que pueden presentar sobreexpresión de p53 en ausencia de mutaciones en el gen. La experiencia de BIOPAT basada en un estudio comparativo del estado del gen *TP53* mediante técnicas de inmunohistoquímica y técnicas moleculares (exones 4-8) en un grupo de 100 adenocarcinomas colorrectales primarios, demuestra que el 35% de los casos con resultado negativo por inmunohistoquímica (inmunopositividad <10%) presenta mutaciones sin sentido u otras alteraciones, que conducen a la falta de expresión de la proteína. Estos resultados evidencian que la inmunohistoquímica, por sí misma, no predice el estado del gen *TP53* en el adenocarcinoma colorrectal, especialmente en los casos negativos.

Región del cromosoma 18q

Aunque los primeros estudios citogenéticos que pusieron de manifiesto la existencia de delecciones en el cromosoma 18q en cáncer de colon datan de 1985, no fue hasta 1988 cuando se detectó la pér-

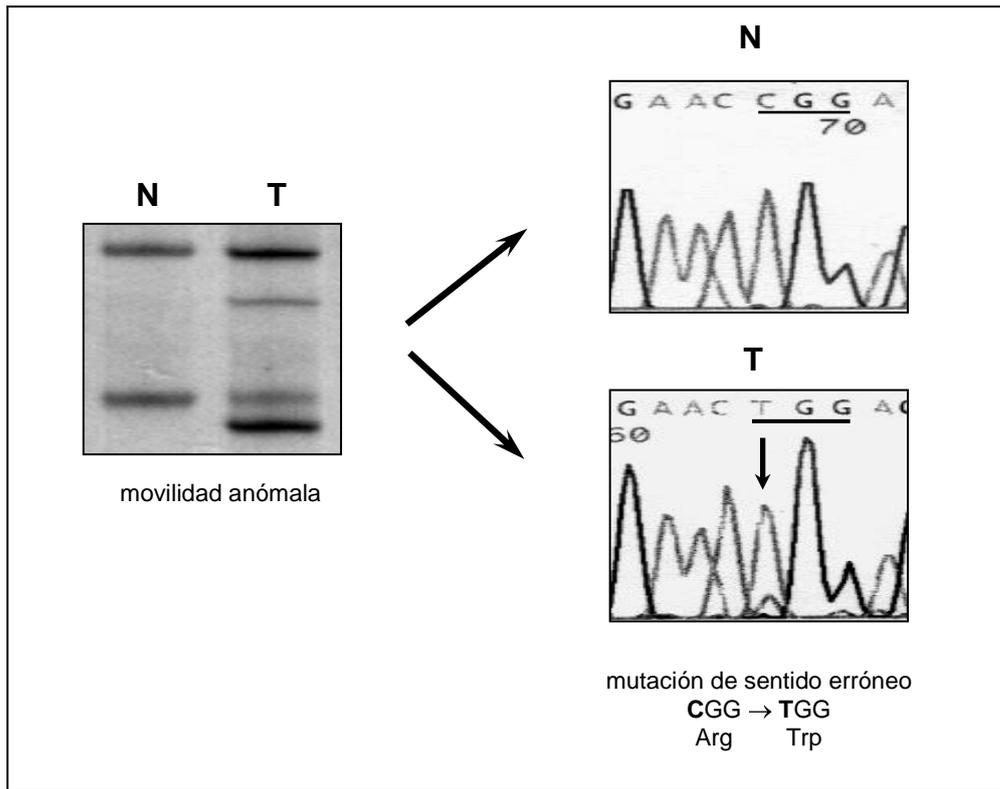


Figura 2. Ejemplo de detección de alteraciones del gen *TP53*. La técnica de análisis de movilidad en gel revela que los fragmentos amplificados del exón 7, procedentes de tejido normal (N) y tumoral (T) del mismo paciente, tienen distinta movilidad electroforética. La sospecha de mutación se confirma mediante secuenciación directa del fragmento tumoral, identificándose la sustitución de un nucleótido del codón 248 en uno de los alelos del gen *TP53*.

da alélica en esta región en un 73% de carcinomas colorrectales, frente al 11% de los adenomas y el 43% de los mismos con áreas de microinvasión, que se sugirió que la alteración de dicha región era un hecho tardío en la progresión de la neoplasia colorrectal. Los estudios de la zona cromosómica delecionada de estos tumores han llevado a la identificación del gen *DCC* (*deleted in colorectal carcinoma*), cuya pérdida alélica se asocia a una disminución de su expresión. A pesar de la controversia surgida al inicio en cuanto a si esta pérdida estaba o no relacionada con una conducta más agresiva de los carcinomas en estadio II, las últimas tendencias se decantan en este sentido.

La proteína que codifica el gen *DCC*, del mismo nombre, tiene 190.000 g/mol de masa molar y homología con las glucoproteínas de la superficie celular, y en particular, con la molécula de adhesión neuronal N-CAM. Se hipotetiza que su ausencia en tumores conlleva a la pérdida del contacto célula-célula, lo que propicia la aparición de metástasis. Desgraciadamente, la magnitud del gen y la complejidad de su estructura dificultan enormemente el abordaje del estudio mutacional.

El estudio de pérdidas alélicas en el cromosoma 18q se realiza mediante la detección de pérdida de heterocigosidad de marcadores de dicha región, comparando la presencia de los mismos en tejido normal frente al tumoral del mismo paciente. Los marcadores más frecuentemente estudiados son las secuencias microsatélite, que permiten su amplificación mediante reacción en cadena por la polimerasa y posterior análisis electroforético utilizando geles de acrilamida no desnaturizantes y tinción argéntica (Figura 3A) o, más recientemente, capilares para equipos especialmente diseñados. Entre las ventajas que esta metodología proporciona frente a la antigua técnica de transferencia southern cabe destacar la posibilidad de efectuar estudios retrospectivos en material fijado e incluido en parafina, el elevado grado de informatividad que caracteriza los microsatélites por ser altamente polimórficos, y la posibilidad de reemplazar los isótopos por fluoróforos como sistema de marcaje de los cebadores.

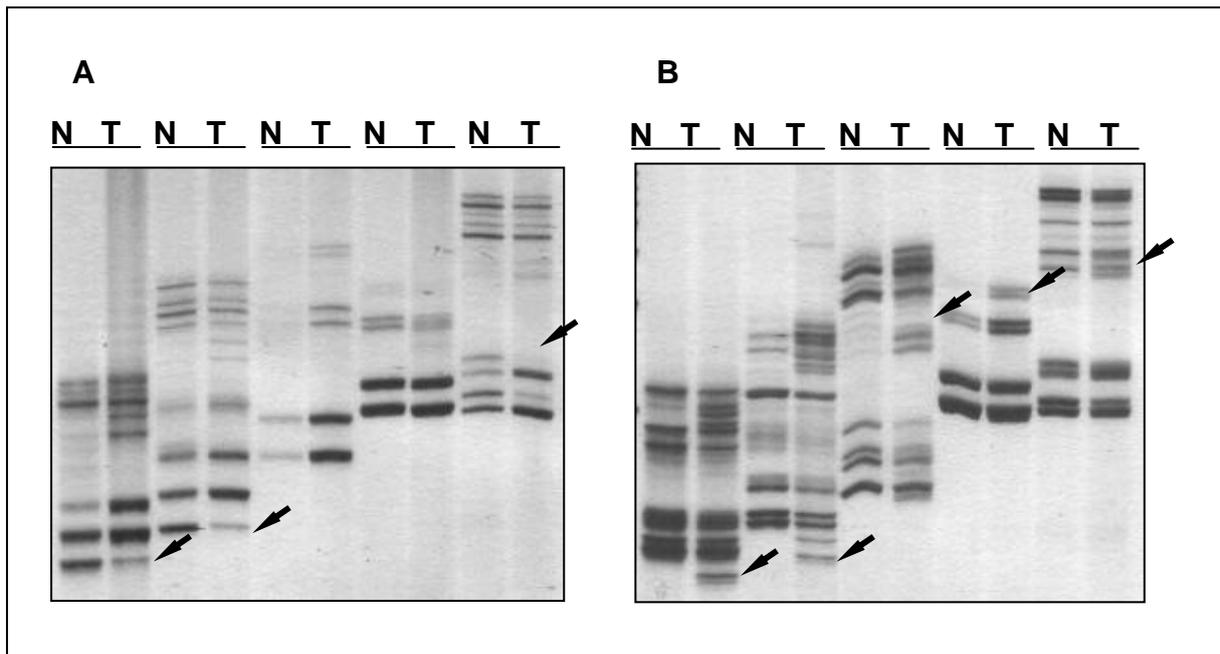


Figura 3. Electroforesis en gel de poliacrilamida de productos de la reacción en cadena por la polimerasa. **(A)** Ejemplo de detección de pérdida alélica en el cromosoma 18q: al menos en 3 de los 5 microsatélites estudiados se pone de manifiesto la pérdida de heterociguidad, apreciándose una disminución de la intensidad de alguna de las bandas procedentes del tejido tumoral (T) frente al correspondiente normal (N). **(B)** Ejemplo de detección de inestabilidad de microsatélites: en este caso, los 5 microsatélites analizados en el tumor (T) presentan un patrón inestable por adquisición de bandas respecto al patrón no tumoral del mismo sujeto (N) (las flechas señalan las bandas susceptibles de anomalía).

Timidilato-sintasa

La timidilato-sintasa es una enzima imprescindible en la síntesis de DNA, ya que constituye el único aporte de timidilato celular. Es una molécula con actividad máxima en estadios avanzados de la fase G1 y al principio de la fase S del ciclo celular, y su actividad es mayor en las células que proliferan rápidamente frente a las que no se dividen. Se ha descrito que la timidilato-sintasa es capaz de mediar el efecto citotóxico de algunos agentes quimioterápicos, y en especial la del 5-fluorouracilo, el más frecuentemente empleado en el tratamiento adyuvante postquirúrgico de la neoplasia colorrectal. El 5-fluorouracilo es un inhibidor competitivo de la timidilato-sintasa que regula negativamente la producción de timidilato y, por ello, reduce la síntesis de DNA. Sin embargo, el aumento de la expresión de timidilato-sintasa debido a amplificación génica se ha relacionado con la resistencia a dicho tratamiento.

En este sentido, la estima de la cantidad de timidilato-sintasa presente en un determinado tumor puede predecir la respuesta al agente en cuestión. El método utilizado inicialmente para determinar la expresión de la timidilato-sintasa fue la reacción en cadena por la polimerasa de transcriptasa inversa cuantitativa (RT-PCR), con la

limitación que suponía la disponibilidad de material congelado procedente de resección. Recientemente, se han desarrollado anticuerpos monoclonales que pueden utilizarse para detectar la timidilato-sintasa de manera específica mediante inmunohistoquímica, pudiéndose aplicar al estudio de tejido fijado en formol tamponado e incluido en parafina. La valoración, de tipo semicuantitativo, se realiza tras contar el número de células tumorales que presenta tinción citoplasmática, y los resultados se expresan en porcentaje de células inmunoreactivas.

Inestabilidad de microsatélites

Los microsatélites son pequeñas ordenaciones de nucleótidos dispuestos en tándem, unidades de repetición (entre 1-5 pares de bases) distribuidas a lo largo del genoma. A menudo son polimórficos, existiendo diversas formas alélicas para un mismo locus en función del número de unidades de repetición que los constituyan. Característicamente, la tasa basal de mutación de los microsatélites polimórficos es superior a la tasa media de todas las secuencias de DNA, y se dice que los tumores que presentan alteraciones de la longitud de los mismos son de tipo inestable y poseen fenotipo RER+ (*replication error*).

En estudios recientes se ha demostrado que la inestabilidad de microsatélites se detecta en no menos del 90% de los pacientes con cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis, y en el 15% de los tumores esporádicos, que comparten la misma vía de progresión. Su causa es la alteración de los genes de reparación de errores (*MMR*), ya que se ha determinado que el 90% de las familias con síndrome hereditario del cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis, presenta mutaciones en línea germinal de los mismos (el 50% en el gen *hMSH2*, el 30% en *hMLH1* y sólo el 10% repartido entre los genes *hPML1* y *hPML2*). Los productos de estos genes son factores que reconocen y colaboran en la escisión de los nucleótidos incorporados erróneamente durante el proceso de síntesis de DNA por polimerasas específicas.

Sin embargo, la manifestación del fenotipo RER+ en los tumores requiere la pérdida de funcionalidad del alelo no mutado concomitante, suceso considerado como el primer evento del proceso de carcinogénesis colorrectal de tipo hereditario no asociada a poliposis. La inestabilidad es, pues, consecuencia de la inactivación de las dos copias de alguno de los genes de reparación de errores, y se adquiere por la falta de reparación de pequeños errores cometidos durante el proceso de síntesis del DNA, fenómeno conocido con el nombre de *slippage*.

La determinación de la inestabilidad debe realizarse únicamente en aquellos pacientes con sospecha clínica de enfermedad hereditaria (criterios de Amsterdam). En el protocolo de estudio deben incluirse varios microsatélites, que tras su amplificación mediante reacción en cadena por la polimerasa pueden ser analizados de diversas formas. La más sencilla consiste en una visualización por electroforesis en geles de acrilamida desnaturalizantes (Figura 3B), pero recientemente se han desarrollado soportes informáticos que, acordes a analizadores genéticos, permiten el análisis semiautomático, mucho más fiable. La limitación de esta metodología reside en la elección del panel de microsatélites, que debe cumplir con los requisitos de fácil amplificación, fácil interpretación y elevadas sensibilidad y especificidad. Por ello, es aconsejable acogerse a lo recomendado por las instituciones reconocidas con autoridad en la materia (*American Joint Commission on Cancer, International Collaborative Group on HNPCC, y HNPCC Cancer Study Group in Germany*).

UTILIDAD CLÍNICA

Marcadores con valor pronóstico: Ki-67, p53 y cromosoma 18q

En general, tanto en el carcinoma colorrectal como en otras neoplasias, el alto índice proliferativo se asocia a una mayor agresividad biológica. De todos los métodos descritos para su determinación, la expresión del antígeno Ki-67 por inmunohistoquímica parece ser la estrategia que goza de mayor aceptación. Además de su utilidad como marcador de proliferación celular, se ha constatado que el Ki-67 tiene verdadero valor pronóstico. Todos estos datos apuntan al MIB-1 como uno de los marcadores digno de formar parte del panel de pronóstico del cáncer colorrectal, pues proporciona información valiosa para el seguimiento clínico.

Algunos autores han atribuido a la p53 un papel relevante como factor pronóstico en el carcinoma colorrectal. Se ha llegado incluso a sugerir que la mutación de *TP53* en pacientes en estadio II y III es, por sí misma, el factor de riesgo más importante asociado a una menor supervivencia: la presencia de mutación incrementaría el riesgo de mortalidad entre 2,82 y 2,39 veces en pacientes en estadio II y III, respectivamente.

También hay estudios en los que se demuestra que la pérdida alélica del cromosoma 18q es un marcador de pronóstico importante en los pacientes con cáncer colorrectal en estadio II. Los sujetos en este estadio cuyos tumores preservan ambos alelos presentan una supervivencia a 5 años del 93%, mientras que la de los pacientes con tumores en los que se detecta pérdida alélica ésta es tan sólo del 54%, y similar a la de los pacientes en estadio III. La ausencia de *DCC* identifica, pues, un subgrupo de pacientes con lesiones que se comportan como cánceres de estadio III. Por ello es menester desarrollar protocolos fiables que permitan conocer el estado de la región cromosómica 18q, y seleccionar de este modo los pacientes con deleciones, candidatos a beneficiarse de la terapia adyuvante postquirúrgica.

Marcadores con valor predictivo de respuesta a terapia oncológica: p53 y timidilato-sintasa

Los tratamientos basados en la administración de quimioterapia y/o radioterapia han causado un impacto profundo en el manejo del cáncer colorrectal. Generalmente, se admite que la acción citotóxica de los agentes anti-neoplásicos provoca daños en el DNA de las células con elevada actividad proliferativa, lo cual lleva a la

inducción del fenómeno de muerte celular programada. Existe, sin embargo, una proporción no despreciable de tumores refractaria a estos agentes, probablemente debido a la persistencia de células tumorales que escapan al proceso apoptótico.

En el caso concreto de la neoplasia colorrectal, existe un porcentaje de casos que fracasan a la terapia sistémica postquirúrgica más frecuentemente empleada, la administración de 5-fluorouracilo. Aunque sabemos que no existe un solo mecanismo específico generador de resistencia, la disminución de la quimiosensibilidad que presentan los tumores con mutaciones en el gen *TP53* parece un factor importante a tener en cuenta, y se relaciona con el papel modulador que la p53 ejerce en alguna de las vías de apoptosis. En este sentido podemos afirmar que la determinación del estado de p53 puede contribuir al éxito del tratamiento adyuvante, permitiendo una selección de la terapia más apropiada en cada caso.

La timidilato-sintasa se emplea como diana de agentes quimioterápicos que inhiben su actividad. Pero se ha observado que la amplificación del gen que la codifica, y la consiguiente sobreexpresión, generan resistencia al 5-fluorouracilo. Por ello, el conocimiento del nivel de expresión de esta enzima contribuye, una vez más, a la mejora de la respuesta tumoral a la terapia postquirúrgica. Los sujetos cuyos tumores sobreexpresan timidilato-sintasa son candidatos al tratamiento con agentes citotóxicos alternativos. Por una parte, la administración de leucovorin (ácido fólico) parece potenciar la capacidad de inhibición del 5-fluorouracilo en estos pacientes, mientras que el irinotecan (CPT-11) estaría especialmente indicado en los casos que cursan con metástasis

refractarias.

Otras aplicaciones clínicas: p53 e inestabilidad de microsatélites

Como se ha explicado, por el hecho de desempeñar un papel crucial en la regulación del ciclo celular, la alteración de *TP53* confiere a las células tumorales en general ventajas proliferativas. De este modo, las clonas con mutación en dicho gen están destinadas a perpetuarse. Aprovechando la fidelidad de mutación característica que poseen los tumores que derivan de estas clonas, puede utilizarse ésta como marcador para clasificar tumores secundarios como recurrencias/metástasis o nuevos primarios.

Desde el punto de vista histológico, la biopsia de un tumor de colon de un sujeto con cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis y la de un tumor esporádico son prácticamente indistinguibles. Sería necesario secuenciar los genes de reparación de errores en busca de mutaciones, y hallarlas, para poder sugerir un origen tumoral hereditario. Puesto que la mayoría de los sujetos cuyos tumores poseen mutación en alguno de estos genes presentan fenotipo RER+, la ausencia del mismo puede utilizarse como un indicador de neoplasia esporádica. Recientemente, algunos autores han apuntado que los tumores esporádicos de etiología similar a la del cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis, tienen un comportamiento menos agresivo frente a los que siguen la vía de progresión de la poliposis cólica familiar. El fenómeno podría explicarse por el hecho de que estos tumores suelen tener una menor incidencia de mutación de *TP53*.

BIBLIOGRAFÍA

Gorlick R, Bertino JR. Drug resistance in colon cancer. *Semin Oncol* 1999;26:606-611.

Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558-561.

Hamilton SR. Molecular genetics of colorectal carcinoma. *Cancer* 1992;70:1216-1221.

Jernvall P, Makinen MJ, Karttunen TJ, Makela J, Vihko P. Loss of heterozygosity at 18q21 is indicative of recurrence and therefore poor prognosis in a subset of colorectal cancers. *Br J Cancer* 1999;79:903-908.

Marchetti E, Querzoli P, Marzola A, Bagni A, Ferreti S, Fabris G, Nenci I. Assessment of proliferative rate of breast cancer by Ki-67 monoclonal antibody. *Mod Pathol* 1990;3:31-35.

Lowe SW, Bodis S, McClatchey A, Remington L, Ruley HE, Fisher DE, Housman DE, Jacks T. p53 status and efficacy of cancer therapy in vivo. *Science* 1994;266:807-810.

Ogunbiyi OA, Goodfellow PJ, Herfarth K, Gagliardi G, Swanson PE, Birnbaum EH, Read TE, Fleshman JW, Kodner IJ, Moley JF. Confirmation that chromosome 18q allelic loss in colon cancer is a prognostic indicator. *J Clin Oncol* 1998;16:427-433.

Pricolo VE, Finkelstein SD, Hansen K, Cole BF, Bland KI. Mutated p53 gene is an independent adverse predictor of survival in colon carcinoma. *Arch Surg* 1997;132:371-375.

Shibata D, Reale MA, Lavin P, Silverman M, Fearon ER, Steele G Jr, Jessup JM, Loda M, Summerhayes IC. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1996;335:1727-1732.

Smith DR, Ji CY, Goh HS. Prognostic significance of p53 overexpression and mutation in colorectal adenocarcinomas. *Br J Cancer* 1996;74:216-223.

Soong R, Robbins PD, Dix BR, Grieu F, Lim B, Knowles S, Williams KE, Turbett GR, House AK, Iacopetta BJ. Concordance between p53 protein overexpression and gene mutation in a large series of common human carcinomas. *Hum Pathol* 1996;27:1050-1055.

Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-819.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-532.