

BIOLOGÍA DEL CANCER COLORRECTAL

Arvelo^{1,2} Francisco, Sojo¹ Felipe, Cotte² Carlos.

¹Centro de Biociencias, Fundación Instituto de Estudios Avanzado-IDEA, Caracas 1015-A; Venezuela, Apartado 17606 ²Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Biología de Tumores, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47114, Caracas-Venezuela, 1041-A.

RESUMEN

El cáncer colorrectal es un grave problema de salud, un reto de investigación y un modelo para estudiar los mecanismos moleculares involucrados en su desarrollo. Según su incidencia, esta patología se manifiesta en tres formas: la familiar; la hereditaria y la más común, la esporádica, aparentemente no asociada a ningún factor hereditario o familiar. En los tipos con patrón de herencia y predisposición familiar, los tumores se desarrollan mediante etapas definidas que van desde lesiones adenomatosas hasta la manifestación de un tumor maligno. Se ha establecido que los factores ambientales y hereditarios contribuyen al desarrollo del cáncer colorrectal, destacando la acumulación de mutaciones en oncogenes, genes supresores y reparadores de ADN, sobresaliendo la existencia de varias vías para que ocurra la aparición del tumor. En el caso de las vías supresoras y mutadoras, ellas se caracterizan por alteraciones genéticas relacionadas con los cambios fenotípicos de la progresión morfológica en la secuencia adenoma/carcinoma. Por otra parte, las vías alternas originadas por mutaciones en los genes *BRAF* y *KRAS* se relacionan con la progresión de pólipo a carcinoma. Con esta revisión se muestran las investigaciones hechas a nivel celular y molecular orientadas a encontrar alternativas de blancos terapéuticos específicos contra el cáncer colorrectal.

Palabras Claves: cáncer colorrectal, metástasis, adenoma, protooncogenes, genes supresores de tumores, inestabilidad de microsátélites, poliposis adenomatosa familiar. Cáncer colorectal hereditario no poliposico.

Introducción

El colon es una de las partes fundamentales del tracto digestivo, siendo el mayor y primero de los segmentos del intestino grueso, estando localizado entre el intestino delgado y el recto. Sus funciones principales son la absorción de agua, minerales y alimentos, además de servir como área de almacenamiento de los residuos que forman los excrementos. Consta de cuatro secciones: el colon ascendente ubicado en el lado

derecho; el colon transverso: el colon descendente ubicado en el lado izquierdo y el colon sigmoideo o sigma. En su conjunto constituye un órgano irregular y grueso debido a la disposición longitudinal de las fibras musculares, teniendo una submucosa poco desarrollada, pero con una mucosa muy evidente al estar llena de nódulos linfáticos que le confieren un aspecto característico. La mucosa, de mayor espesor que la del intestino delgado posee, a lo largo de la superficie de su epitelio, múltiples invaginaciones tubulares denominadas “*criptas de Lieberkühn*”, las cuales son anchas, profundas y numerosas, en cuyo fondo tiene lugar la regeneración del epitelio (1). Por su naturaleza biológica, el colon posee un alto recambio celular y un papel fisiológico en la economía del organismo que lo expone a múltiples agentes de orden físico, químico y biológico, lo que incrementa la posibilidad de desarrollar diversas patologías, destacando el cáncer.

Incidencia del cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal, CCR por sus siglas, constituye un importante problema de salud en el mundo occidental, ocupando el tercer lugar en frecuencia dentro de las entidades tumorales que afectan a los habitantes de los países desarrollados y en vías de desarrollo. En el sexo masculino el CCR se ubica después de los tumores de pulmón y próstata, siendo su incidencia mayor entre las edades de los 50 y los 65 años. En el caso del sexo femenino se ubica después del cáncer de mama, ocupando el segundo lugar de incidencia. En todo el mundo hay aproximadamente un millón de nuevos casos al año, unos 550.000 hombres y 470.000 mujeres, lo cual reafirma la importancia de esta patología como problema de salud pública. El CCR representa el 13% en la casuística al considerar todos los tumores, pero como ocurre en muchos otros cánceres, hay grandes diferencias entre los países menos y más desarrollados, donde son más frecuentes y muestran una clara tendencia al alza, como ocurre en Norteamérica, Australia, Japón y

Europa, (2). Por otra parte, en los últimos 20 años, en los Estados Unidos, se ha observado un progresivo incremento en la supervivencia y una disminución de la mortalidad por esta patología, atribuible a mayores adelantos en las técnicas quirúrgicas, uso de quimioterapia adyuvante, mejores técnicas de radioterapia y mejores campañas de prevención primaria y secundaria (3). Aproximadamente el 50% de los pacientes recién diagnosticados progresaran a cáncer metastásico, teniendo una sobrevida promedio de 5 años para el 50-60% de los pacientes. En el año 2008 la Organización Mundial de la Salud, OMS, determinó que cerca de 600.000 personas murieron en todo el mundo a consecuencia de este tipo de cáncer (4,5).

Por lo general el diagnóstico de este cáncer es tardío, debido fundamentalmente a la rápida formación de metástasis, siendo la alta tasa de diseminación hematógena uno de los principales obstáculos para lograr que su tratamiento sea más efectivo. Ya que su incidencia varía según las distintas regiones del mundo, estas variaciones geográficas pudieran deberse a las variaciones del patrimonio genético de las diferentes poblaciones y sus hábitos alimentarios locales. Así, entre los factores de riesgo tenemos: los antecedentes personales y familiares, el medio ambiente y los hábitos alimentarios (6,7). Existen personas en las cuales el riesgo de cáncer es elevado al estar multiplicado por dos o tres con respecto a la población general, distinguiéndose entre ellos varios grupos: los que tienen antecedentes familiares con tumores benignos o maligno en el intestino (8,9); los tratados por un adenoma o un cáncer colorrectal (10); las mujeres tratadas por un cáncer epidemiológicamente relacionado, como pueden ser los de ovario, útero y cáncer de mama antes de los 45 años (11,12). Hay que destacar que los estudios epidemiológicos muestran que al menos un 15% de los CCR son familiares (13).

Clasificación del cáncer colorrectal

El cáncer CCR constituye un buen sistema y un modelo adecuado para estudiar, tanto la carcinogénesis como los eventos moleculares involucrados en el desarrollo de un tumor, que es el resultado de una acumulación de alteraciones en genes que son significativos en el control del crecimiento epitelial y la diferenciación celular. El estudio con este modelo permite obtener información fundamental desde que se inicia la formación de uno o más adenomas, hasta su eventual transformación en cáncer metastásico o no (14). Sumado a ello y debido a que tanto el factor hereditario como el ambiental contribuyen al desarrollo este tipo de cáncer, estos tumores permiten tanto el estudio de las alteraciones genéticas somáticas como las ambientales y alimentarias (15).

Por su forma de originarse y expresarse se distinguen tres tipos de CCR: a) forma *esporádica*, un término que se utiliza para diferenciar los tumores que aparecen en individuos que no portan ninguna mutación que le confiera susceptibilidad para desarrollar este tipo de cáncer, diferenciándose así de los tumores que ocurren en personas que posean una mutación asociada a la enfermedad y se caracterizan por no mostrar ningún tipo de vinculación familiar. Sin embargo, esta diferencia no es absoluta, ya que el factor genético parece influir en la probabilidad de la aparición del cáncer, aún en ausencia de una mutación específica. La gran mayoría de los CCR entre el 60-80%, son de tipo esporádico (16); b) la forma *familiar* para la cual no se ha identificado un gen asociado, constituye del 20-40% de los casos. Estudios poblacionales muestran que existe una mayor posibilidad de desarrollar este tumor cuando los familiares de primera consanguinidad han padecido un cáncer esporádico de colon, siendo el riesgo, cuando se compara con la población normal, 2 -3 veces mayor. Los factores ambientales probablemente determinan quiénes de los individuos predispuestos genéticamente desarrollarán este tipo de cáncer. Sin embargo, se han realizado estudios en familias que indican que este riesgo familiar es el resultado de una

susceptibilidad parcial hereditaria (17); c) la forma *hereditaria*, con dos variantes de tumor que pueden ser distinguidos mediante la predisposición de estar o no relacionados a la presencia de pólipos adenomatosos. Pueden distinguirse: la *poliposis adenomatosa familiar* o FAP por sus siglas en inglés, en los cuales los pacientes presentan múltiples pólipos, que en ausencia de una cirugía preventiva, uno o más pueden malignizarse a la edad promedio de 40 años (18); 2) la variante no asociado a poliposis o HNPCC por su siglas en inglés, cuya particularidad es la de ser un tumor maligno de alto riesgo para desarrollar un cáncer extradiigestivo (19). En el caso del tipo *esporádico*, agrupa a la mayor parte de los CCR, siendo del 60 al 80% de ellos, caracterizándose por no mostrar ningún tipo de relación familiar.

Síndrome de Lynch

Los síndromes hereditarios de la variante HNPCC, anteriormente denominados “*Síndrome de Lynch*”, dan lugar al desarrollo del cáncer colorrectal, constituyendo un 3% del total de los casos. Fue descrito en 1913 por Alfred Warthin y caracterizado por Lynch en 1974, por lo que lleva su nombre (20). Es una patología que se hereda de forma autosómica y dominante, afectando tanto a hombres como mujeres de una misma familia y la alteración genética se transmite de padres a hijos sin que se produzcan saltos de generaciones.

Los cánceres asociados al síndrome de Lynch suelen ser del ciego o el colon derecho, constituyendo el 70% frente al 40% de los esporádicos. Aparecen en pólipos o adenomas que son grandes, planos, con displasia de alto grado y pueden ser vellosos o no (21), poseyendo mutaciones hereditarias en los genes de reparación *MMR*, *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2* y *PMS1*. Son más frecuentes en los casos con los genes *MSH2* y *MLH1*, constituyendo el 90% (22), y menos frecuentes los casos con las mutaciones en el gen *MHS6* (23). Los tumores surgen por inactivación somática del gen que

previamente estaba mutado en la línea germinal, ya sea por la pérdida de heterocigosidad o LOH siglas en ingles de loss of heterocigosity o por mutaciones somáticas o hipermetilación de promotores (24,25). La inactivación de estos genes en los pacientes provoca una alteración de las secuencias repetitivas o microsatélites, que al igual que en el caso de pacientes con poliposis FAP, la edad media de diagnóstico es de 45 años. La frecuencia de formación de adenomas es similar a la de la población normal, pero debido a la alteración de los genes *MMR*, la tasa de mutaciones es de 2 a 3 veces mayor, resultando en una acumulación mayor de ellas y en una más rápida progresión hacia la malignidad (26,27).

Clínicamente se definen dos tipos de HNPCC: en el tipo I los tumores se localizan exclusivamente en el colon; en el tipo II los tumores están fuera del colon, ubicándose en el endometrio, ovario, estomago, tracto hepatobiliar, tracto urinario, páncreas o en el sistema nervioso central. Los pacientes con cáncer HNPCC desarrollan adenomas en un número finito que pueden pasar a ser malignos en un breve espacio de tiempo al compararlos con los pacientes con FAP, cuyos pólipos son más difusos. Estos tumores muestran una histología mucinosa, con infiltración linfocitaria y son poco diferenciados, características que comparten con los tumores esporádicos con alta inestabilidad en microsatélites, siendo además tumores de tipo diploide, en contraposición a los tumores esporádicos (28). Por otro lado, los tumores HNPCC presentan algunas de las características de los adenomas convencionales, como son la presencia de mutaciones en *APC*, β -catenina (*CTNBI*) y/o *k-ras*. También la infiltración linfocitaria y la coexistencia de adenomas son otras particularidades de estos tumores (29).

Para seleccionar a las familias con síndrome de Lynch los criterios clínicos que más se utilizan son los *Criterios de Ámsterdam I y II*, los cuales exigen: a) que haya más de tres miembros de la familia con cáncer CCR o tumores asociados al síndrome, como los cánceres de endometrio, ovario, intestino delgado, vías biliares, vías urinarias y otros; b)

que haya familiares afectados en varias generaciones; c) que alguno de estos casos se haya diagnosticado antes de los 50 años. Sin embargo, solo el 60% de los individuos que cumplen estos criterios tienen una mutación en alguno de los genes *MMR*. Otros criterios clínicos utilizado son los de Bethesda, los cuales describen cuándo un CCR es sospechoso de ser un síndrome de Lynch. Se exigen, entre otros criterios, que existan varios casos de CCR en la familia, independientemente de la edad, o también que exista un solo caso diagnosticado antes de los 50 años (30).

Variedades Clínicas del HNPCC

A) Síndrome de Turcot o Síndrome de deficiencia en MMR

Este síndrome se manifiesta en matrimonio consanguíneo, como los que ocurren entre hermanos, siendo una variante del tumor HNPCC (31) que se caracteriza por la coexistencia de tumores de colon (FAP o HNPCC) y del SNC (cerebrales, meduloblastoma, astrocitoma o glioblastoma) (32), cuyos síntomas aparecen frecuentemente en la segunda década de vida. El pronóstico de supervivencia en estos pacientes es muy bajo, siendo en promedio de 20 años. Se ha sugerido la existencia de dos subtipos de síndrome de Turcot: el BTP tipo I (Brain Syndrome Polyposis tipo I) ocasionado por mutaciones en los genes *MLH1* y *PMS2*; el BTP tipo II (Brain Syndrome Polyposis tipo II) cuando se asocia a mutaciones en el gen *APC*. Según las manifestaciones en el colon, el síndrome de Turcot se clasifica en tres grupos. a) tipo 1, caracterizados por múltiples pólipos, entre 20 y 100, con transformación maligna: b) tipo 2, caracterizado por lo menos con 10 pólipos de más de 3 cm de diámetro con patrón de herencia incierto; c) tipo 3, con clínica similar a la poliposis FAP y manifestaciones de carcinoma colorrectal antes de los 30 años de edad (33).

B) El síndrome de Muir-Torre

Este síndrome es una variante del Síndrome de Lynch caracterizándose por la presencia de tumores en las glándulas sebáceas (queratocarcinomas) que se asocian con uno o más tumores viscerales, cáncer colorrectal, endometrio y cáncer urológico. Aparece en ambos sexos, con un ligero predominio en hombres a una edad promedio de 53 años, siendo su rango de edad entre los 23-89 años (34). Presenta un patrón de herencia autosómico dominante relacionado con mutaciones en el gen *MSH2* (35), aunque también puede deberse a mutaciones en los genes *MLH1* y *MSH6* (36,37).

Adicionalmente, dos estados precancerosos son reconocidos: las *colitis ulcerosas* y la presencia de *adenomas*. Los estudios han demostrado que existe riesgo de desarrollar CCR las personas que padecen de *recto colitis hemorrágica*, siendo más elevada la posibilidad cuando ella aparece muy joven, teniendo una evolución de más de 10 años (38). Estas situaciones son las más frecuentes, encontrado la forma más grave de la enfermedad en pacientes que han sufrido de una colectomía total, así como en la *enfermedad de Crohn*, asociada también con un alto riesgo de cáncer de colon (39). Por otra parte, los adenomas -comúnmente llamados “*pólipos*”- son una patología frecuente que se caracterizan por ser tumores de tipo epitelial benignos que son pediculados (40,41). En los países de alta incidencia de cáncer de colon existe una prevalencia de adenomas que oscila entre el 30 a 60%, hecho demostrado mediante las autopsias hechas en sujetos con más de 55 años de edad. La relación adenoma/cáncer reposa en estudios epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos y genéticos, considerando con ellos la edad de aparición de los adenomas, la distribución geográfica, la transformación de un adenoma en cáncer en pacientes no operados, en la poliposis extendida, secuelas por adenomatosis y mediante el estudio de la acumulación de modificaciones relacionadas con el aumento del grado de displasia de los adenomas hasta su cancerización (42).

Genética del cáncer de colon

Secuencia Adenoma- Carcinoma.- En la carcinogénesis de los CCR, se han descrito varias vías por las cuales las células del colon normal pueden malignizarse, centrándose los estudios en las alteraciones genéticas que se producen en 3 categorías fundamentales de genes: 1) *genes supresores de tumores* o TSG por sus siglas en inglés, como lo son *APC*, *DCC*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4* y *p16INK4a*); 2) protooncogenes, como lo es *K-ras*, *N-ras*; 3) genes reparadores del ADN, como los genes *MMR* y *MUTYH*) (43). La primera vía descrita es la *supresora o de inestabilidad cromosómica*, recogida en el modelo genético de Fearon y Vogelstein (44), en el cual están incluidos los tumores de la FAP y el 80% de los tumores esporádicos. Cada tumor generado por alteración de esta vía desarrolla *inestabilidad cromosómica* o CIN por sus siglas en inglés, con frecuentes alteraciones citogenéticas y pérdida de heterocigosidad alélica (45,46). Este modelo propone que la secuencia histopatología de progresión del CCR se debe a mutaciones en genes concretos, principalmente genes supresores de tumores. La

secuencia de cambios se iniciaría con la mutación o pérdida del gen *APC* (5q21-q22), seguida de mutaciones en *KRAS* (12p12.1) y las mutaciones en *TP53* (17p13.1) y *DCC* (18q21.3). El gen *APC* aparece mutado en el 70-80% de los tumores colorrectales, con un 50% que muestran mutaciones independientes en la β -catenina, destacando el papel preponderante de la vía Wnt para el control de la tumorigénesis colorrectal, sobre todo en sus estadios iniciales (47,48). Las mutaciones en el oncogén *K-ras* se producen durante un estadio aun más avanzado, afectando, preferentemente, a los codones 12 y 13, encontrándose hasta en un 40% de los tumores colorrectales (49). El gen *DCC* se sitúa en el cromosoma 18q21 con una función en el CCR todavía poco conocida, constituido de 28 o 29 exones que codifica para una proteína de 1.147 aminoácidos que atraviesa ambos lados de la membrana celular. Su región extracelular es homóloga a la de las proteínas de adhesión celular, que tiene dominios extracelulares similares a las inmunoglobulinas (50). La proteína *DCC* podría afectar las interacciones epitelio/mesénquima, quizás regulando procesos de proliferación y/o diferenciación. Su expresión es reducida o casi nula en más del 50% de los CCR, habiéndose detectado también distintas mutaciones (51). El hecho de que el gen *DCC* sea considerado supresor de tumor, fue confirmado por un estudio en el cual el fenotipo tumoral fue revertido por transfección del gen *DCC* (52).

La proteína p53 interviene en el control del ciclo celular, replicación y reparación del ADN manteniendo la estabilidad genómica, activando la apoptosis y participando en la respuesta celular a agentes nocivos. Esta proteína es tetramérica y está constituida por cuatro subunidades, cada una de ellas de 393 aminoácidos (53). Su sobreexpresión proteica precede a la transformación maligna en la mayoría de los cánceres humanos, incluyendo el CCR (54). El gen *p53* está situado en el cromosoma 17 y tiene 20kb, estando constituido por 11 exones y codifica para una fosfoproteína nuclear de 53 kDa, siendo un regulador transcripcional que actúa como freno en el punto de control G1/S e interviniendo en múltiples funciones tales como: la activación de la detención del ciclo celular, la senescencia, la diferenciación y la apoptosis (55).

El modelo de Fearon-Vogelstein se sigue considerando válido para ilustrar el concepto de “*múltiples pasos*” de la progresión tumoral, pero considerando que la secuencia de

alteraciones propuestas es el resultado de un análisis estadístico. Por ello, las alteraciones de tumores de diferentes pacientes se agrupan para formar un único modelo del proceso, por lo que esto no implica que en un individuo se tengan que dar todas las alteraciones. El modelo se completó en 2002 con el descubrimiento de la MAP quinasa (56,57), lo cual afirma que el patrón de mutaciones del gen *MUTYH* deriva en una deficiencia de la función proteica, que se caracteriza por un exceso de transversiones G→T en secuencias GAA, que son susceptibles de provocar la aparición de codones de parada (58). Debido a que *APC* contiene un elevado número de estas secuencias, las mutaciones en *MUTYH* incrementan la tasa de mutación somática de *APC*, el cual a su vez inicia la transformación neoplásica (59).

La segunda vía es la *mutadora* o de *inestabilidad de microsatélites*, MSI por sus siglas en inglés, dentro de la cual estarían incluidos los tumores del *Síndrome de Lynch* y un 15% aproximadamente de los tumores esporádicos (60). Ella explicaría la aparición del CCR en los casos de deficiencia en el sistema de reparación de errores de *mismatch*, MMR (mismatch repair o *desapareamiento de bases*), en los que las mutaciones en los genes *MMR* provocan un estado de inestabilidad genómica que conlleva la aparición de un fenotipo *hipermutador*, también conocido como *inestabilidad de microsatélites*, MSI (61). Este fenotipo se produce porque la alteración de los genes *MMR* favorece la aparición de nuevas mutaciones, predominantemente en secuencias repetitivas, *loci microsatélite* del tipo AA[A]NAA o CA[CA]NCA, generando una inestabilidad en las regiones microsatélite que se contraen o expanden por la inserción o delección de unidades de repetición. Esto produce la inactivación de diversos tipos de genes, como los que regulan la apoptosis, siendo el caso de los genes *BAX* o *Caspasa-5* (62,63) y los genes implicados en el control y regulación del crecimiento celular, como *TGFβRII*, *WISP-3* o *IGFIIR* (64,65) o incluso genes *MMR*, como *MSH3* o *MSH6* (66).

Por otra parte, los procesos epigenéticos han sido descritos como uno de los mecanismos alternativos de carcinogénesis, a pesar de que no implique ninguna alteración genética. Hoy el “*silenciamiento epigenético*” que en inglés es CIMP (siglas de CpG island methylator phenotype), o *vía del fenotipo metilador*, se reconoce como la tercera vía del Modelo de Knudson de tumorigénesis colorrectal (67,68). Estas modificaciones epigenéticas generan inestabilidad en los genes como resultado de la inactivación de TGS o genes reparadores MSI o CIN (69). Existen dos tipos de cambios epigenéticos: uno puede modificar la metilación, haciendo que algunos nucleótidos de ADN sean modificados por la adición de un grupo metilo, -CH₃, a la base. La metilación está asociada con la inactivación de una región particular del ADN; el otro cambio puede modificar la acetilación, en la que las histonas, alrededor de las cuales se enrolla el ADN, son modificados con la adición de grupos acetilos, -CH₃CHO. Esta alteración debilita la interacción entre el ADN y las histonas, lo cual está asociado con una mayor expresión genética (70). Se han evaluado agentes con capacidad de inhibir la vía de señalización Wnt, como es el caso de la acetil transferasa, que inhibe la actividad del porcupine, necesario para la síntesis de Wnt (71). Los antiinflamatorios no esteroideos aspirina, sulindaco, celecoxib, nimesulida, piroxicam- son inhibidores de la ciclooxigenasa que presentan efectos quimioprotectores contra el cáncer (72,73). Las moléculas NSC668036 y FJ9, compuestos que se han probado en estudios preclínicos, actúan sobre un blanco clave en la señalización de Wnt, como lo es la proteína Dishevelled (74,75). También se ha utilizado en el tratamiento para la prevención del CCR la vitamina D, la cual ayuda a la destoxificación de ácidos biliares que activan el cáncer, y que son liberados durante la digestión de alimentos de alto contenido graso (76).

Las causas que activan el proceso de hipermetilación no están claras, ya que la variabilidad del índice de metilación en los distintos tipos tumorales revela que este mecanismo no se realiza aleatoriamente, sino que sigue un patrón que no ha podido ser todavía establecido. Se sabe que factores ambientales como las lesiones por agentes quimioteráuticos, ingesta de folatos o los genéticos que regulan este fenómeno, no se conoce muy bien (77). Por otra parte se describe la existencia de cuatro vías genéticas diferentes en la carcinogénesis del colon: 1) la vía Wnt/ β -catenina, asociada a la secuencia adenoma-cáncer; 2) la vía de inestabilidad de microsatelites por mutación o hipermetilación de los genes MMR; 3) la vía colitis úlceroa/displasia/cáncer no asociada a una mutación APC o formación de pólipos; 4) la vía de la hipermetilación frecuente en los canceres esporádicos (78).

Vía Wnt Wnt/ β -catenina- Carcinogenesis

La importancia de esta vía se puede ver por los estudios que muestran que un 90% de los CCR desarrollan mutaciones en algunos de sus componentes (79). Las mutaciones en los genes APC y CTNNB1, muy importantes en la vía, generan una resistencia a la degradación de β -catenina mediante el *sistema ubiquitina-proteosoma*, por lo que se acumula en el citoplasma y se traslada al núcleo, donde actúa promoviendo la sobreexpresión de oncoproteínas (80). Esto genera un fenotipo hiperproliferativo que favorece las mutaciones en otros genes, permitiendo la progresión a adenoma temprano. Se considera que la activación constitutiva de la vía Wnt/ β -catenina no solo es importante en la iniciación de la carcinogénesis colorrectal, sino que podría controlar el potencial maligno de las células en etapas más avanzadas, pudiendo ser blanco para el desarrollo de nuevas terapias en CCR (81).

Esta vía también participa en los procesos de regulación, diferenciación, proliferación y muerte celular, estando involucrada en numerosas anormalidades del desarrollo

embrionario, del crecimiento y la homeostasis. Las proteínas Wnt actúan como ligandos para estimular vías de transducción de señal mediadas por receptores en organismos vertebrados e invertebrados (82). Actualmente se conocen cuatro vías de señalización Wnt: 1) vía canónica o Wnt- β -catenina; 2) vía Wnt/Ca²⁺ que involucra a la proteína cinasa A; 3) vía de polaridad celular planar; 4) vía que incluye a la proteína cinasa C e interviene en el proceso de miogénesis.

Algunas de las proteínas Wnt activan y modulan la vía canónica, sin embargo, la más importante y la mejor estudiada es la vía de control y regulación citoplasmática relacionada con la proteína β -catenina (83). El aumento de β -catenina citoplasmática permite su entrada al núcleo en donde activa la transcripción de genes cuyos productos proteicos participan en procesos de división celular, desarrollo embrionario y morfogénesis. La vía Wnt- β -catenina se interrelaciona con un significativo número de vías de señalización celular, como Notch, Hedgehog, Rac/*K-RAS* y mTOR, las cuales coordinan el desarrollo de órganos y mantienen la homeostasis de algunos tejidos (84). El factor de crecimiento de fibroblastos FGF y el factor de crecimiento transformante beta TGF- β , también interaccionan con Wnt- β -catenina al regular su actividad y el control de procesos celulares específicos. Estas vías raramente funcionan solas o aisladas y la activación errada de una vía en particular puede resultar en el desarrollo de un cáncer (85).

Hay que enfatizar que las vías juegan papeles preponderantes manteniendo la homeostasis de diferentes tejidos como los del intestino, mama, piel, sangre y cerebro, aparte de regular los nichos de células madre somáticas. La regulación anormal de estas vías dan lugar a proliferación neoplásica de los tejidos señalados, aparte de otras patologías que se originan como consecuencia de alteraciones en la vía Wnt; pero es que la mayor parte de los estudios se enfocan a su relación con cáncer. De las cuatro vías de

señalización Wnt conocidas, la vía Wnt- β -catenina se ha identificado como la principal responsable de alteraciones celulares que derivan en cáncer. Se conocen varios genes reguladores de esta vía que se encuentran alterados en diferentes tipos de cánceres humanos, siendo el denominador común la modificación en la expresión de los genes Wnt- β -catenina (86). La implicación de β -catenina en procesos malignos fue primeramente conocida para el CCR, ya que esta proteína forma un complejo con la proteína APC, cuya participación en la carcinogénesis se descubrió al estudiar el cáncer hereditario producido por la poliposis adenomatosa familiar. El 80% de los casos de cáncer de colon esporádico, así como de las formas hereditarias, son causados por mutaciones en el gen *APC* (87). Los pacientes con poliposis familiar heredan el alelo defectuoso *APC* a edad temprana, lo cual lleva a la formación de numerosos pólipos adenomatosos en el colon que resultan del crecimiento clonal de células epiteliales en las que el segundo alelo *APC* se inactiva. Los adenomas dan lugar a la aparición de adenocarcinomas, a consecuencia de la acumulación de mutaciones en oncogenes o genes supresores de tumores tales como *KRAS*, *p53* y *Smad4*. La ausencia de *APC* provoca una desestabilización de la β -cateninas, lo que lleva a la transformación de las células epiteliales (88).

E-cadherina y α -catenina

La infiltración y la metástasis necesita de múltiples propiedades y mecanismos, destacando en los eventos iniciales la disminución de la capacidad de adhesión intercelular en el tumor primario (89). En esta capacidad invasiva juegan un papel fundamental las moléculas de adhesión celular y tisular, distinguiéndose cuatro clases estructurales: la familia de las inmunoglobulinas; las selectinas, las integrinas y la E-cadherina (90,91). Esta última es parte de un complejo proteico, la E-cadherina-catenina, que asocia las cateninas α , β , γ a los filamentos de actina y otras proteínas como

la APC (92). El gen de la catenina α humano está localizado en el cromosoma 5 en la región 5q21-22, mientras que la catenina β en el cromosoma 3 región 3p21.

Las cateninas β y α se unen con la cadherina citoplasmática recién sintetizada antes de ser transportada hacia la membrana celular (93). El gen de la proteína E-cadherina está localizado en el cromosoma 16, región q22.1, en una zona que se encuentra frecuentemente alterada en el cáncer (94). Los estudios de adenomas tipo colónico con displasia severa y cáncer de colon, muestran una disminución progresiva de la expresión de la E-cadherina (95). Esto sugiere una modificación en su expresión durante los estados precoces de la carcinogénesis en el colon, ya que al compararlos con los tumores más indiferenciados, en ellos existe una menor expresión de la E-cadherina y α -catenina (96). El nivel de expresión del ARNm de la E-cadherina se correlaciona con el pronóstico en el CCR (97). En otros estudios, se ha puesto en evidencia la capacidad de la β -catenina de formar complejos con la proteína APC, estableciendo así, probablemente, una relación de competencia entre APC y la E-cadherina por unirse a la β -catenina (98). La mayoría de los cánceres de colon presentan una modificación de la proteína APC o de la β -catenina, lo que permite sugerir el papel importante en la iniciación de la carcinogénesis del colon (99).

El gen adenomatosis poliposis coli

La *poliposis adenomatosa familiar*, FAP, es responsable del uno por ciento de los CCR, siendo una enfermedad hereditaria con características autosómicas dominantes. Su manifestación clínica principal es la existencia de múltiples adenomas colónicos y rectales que pueden superar los cien, por lo que se diagnostican claramente como poliposis FAP. Entre estos adenomas, usualmente uno o varios de ellos se van a malignizar de manera casi constante antes de los 40 años, a la par de presentar manifestaciones clínicas asociadas, como los adenomas duodenales, poliposis fundica

glanduloquísticas, tumores óseos, subcutáneos y desmoides (100,101). El estudio genético de familias con poliposis FAP ha permitido identificar el gen *APC* como responsable, que localizado en el cromosoma 5q21, sufre deleciones y diversos tipos de mutaciones puntuales que se denominan “*sin sentido*”, “*de fase de lectura*” y “*de cambio de sentido*” (102). La poliposis FAP está relacionada con una mutación de uno de los dos alelos, tanto en la línea germinal como en todos los tejidos del organismo. En las células del CCR, uno de los dos alelos se pudo haber perdido o puede presentar una mutación somática (103). Este gen está igualmente mutado en más del 60% de casos de cáncer esporádico, siendo llamativo que las mutaciones puestas en evidencia en la FAP son comparables a las mutaciones de las formas esporádicas. Dentro de este problema hay que considerar que otro posible mecanismo pudiera ser la hipermetilación de la región promotora del gen *APC*, lo cual puede conducir a una reducción de la transcripción del gen (104,105).

Siempre hay que considerar que la predisposición a sufrir enfermedades neoplásicas depende de factores endógenos y exógenos que finalmente modifican la expresión de genes específicos (106). La *impronta genómica* es el patrón de metilaciones diferente de genes homólogos de acuerdo con el origen materno o paterno del cromosoma. Este concepto podría explicar la expresión diferencial o falta de expresión de un determinado alelo, puesto que se conoce que los genes metilados son inactivos, mientras que aquellos no metilados o hipometilados pueden ser transcritos para generar un producto proteico (107,108). Los fenómenos epigenéticos asociados al CCR no incluyen cambios en la secuencia del ADN, pero son modificaciones genéticas potencialmente reversibles que conducen a la inestabilidad genómica (109). Tres tipos de patrones de metilación del ADN alterado se encuentran en el cáncer humano, los cuales son: la hipometilación, la hipermetilación y la pérdida de impresión o LOI (loss of imprinting) (110). El patrón

LOI se refiere a la pérdida de la expresión diferencial de alelos parentales, que es dominante en los tumores embrionarios (111). La hipometilación del ADN, la hipermetilación de los genes supresores de tumores y la inactivación de los genes miARN por metilación del ADN, también se ha descrito en los tumores humanos (112).

El gen *APC* codifica una proteína notablemente hidrofóbica, con masa molecular de 311.8 kDa (113), la cual presenta una distribución citoplasmática difusa acumulándose principalmente a lo largo de los márgenes laterales o sub-apicales de las células (114).

La forma más abundante pierde el exón 10^a y codifica para una proteína APC de 2843 residuos que se dividen en varios *dominios*: a) de oligomerización que se localiza en la región N-terminal de la proteína y consta de 7 repeticiones de 6-57 aminoácidos (115); b) una región *armadillo* en el extremo amino-terminal altamente conservada, localizada entre los aminoácidos 453 y 767 que le permite jugar un papel en la estabilización y motilidad del cito-esqueleto (116); c) un dominio formado por un grupo de repeticiones de 15 y 20 aminoácidos en su porción central y un extremo carboxilo terminal que contiene un dominio básico y sitios de unión para otras proteínas. La proteína APC presenta un dominio de 7 motivos de 20 aminoácidos repetidos altamente conservados, localizados entre los residuos 1262 y 2030. Este dominio le confiere a la proteína APC sitios de unión para la β -catenina (117); c) dominio de repeticiones de 15 aminoácidos que es altamente conservado localizado entre el aminoácido 1020 y 1169 que engloba 3 repeticiones de 15 aminoácidos que funcionan como sitios de unión para la β -catenina (118); d) un dominio básico de APC se localiza en la región C'-terminal aminoácidos 2200 a 2400 y parece funcionar como dominio de unión a los microtúbulos (119).

A la proteína APC ya se le conocen seis funciones de regulación y una de bloqueo (120), las cuales son: 1) regulación de los niveles de β -catenina y por tanto de las señales inducidas por la misma (121); 2) regulación de la adhesión celular a través de la

β -catenina y la E-cadherina (122); 3) regulación de la migración celular y la estabilidad cromosómica a través de la interacción con los microtúbulos (123); 4) regulación de la función neural. La proteína hDLG (human homolog of Drosophila discs large tumour suppressor) se localiza habitualmente en las células epiteliales, ubicándose entre las uniones célula-célula (124); 5) regulación de la motilidad celular. La APC regula la polaridad celular y la migración a través del control del citoesqueleto de actina (126); 6) la de bloqueo del ciclo celular, que posiblemente ocurre mediante inhibición directa de los componentes del ciclo celular y de la apoptosis (125)

Genes BRAF, NRAS, VEGF

Gen BRAF.- Esta situado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q34) y codifica una quinasa serina/treonina citoplasmática de la familia RAS que media la transducción de señales en la ruta MEK/ERK, siendo vía importante para el crecimiento, diferenciación y regulación celular, más la promoción de la apoptosis. En algunos CCR el oncogén *BRAF* se encuentra mutado, estando las mutaciones asociadas con una región de metilación CpG (127). Varias mutaciones puntuales, somáticas o activadoras en el oncogén *BRAF*, hacen que la proteína se vuelva hiperactiva desencadenando una cascada de señalización que puede jugar un papel importante en algunos tumores malignos específicos. Aproximadamente el 90% de las mutaciones *BRAF* V600E son conocidas, involucrando la sustitución de ácido glutámico (E) por valina (V) en la posición V600 de la cadena de proteína, resultando en un oncogén *BRAF* constitutivamente activo (128). Como resultado de esta activación, la señalización hiperactiva MEK y ERK conduce a la proliferación celular excesiva y la supervivencia, que es independiente de los factores de crecimiento. La señalización oncogénica *BRAF* puede conducir a un aumento incontrolado de la proliferación celular y la resistencia a la apoptosis (129). Aproximadamente, entre el 30% y 50% de los tumores CCR tienen un gen mutado *KRAS*, lo que indica que hasta el 50% de los pacientes con este tipo de

cáncer podrían responder a la terapia con anticuerpos anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico, EGFR. Sin embargo, del 40% al 60% de los pacientes con tumores de tipo salvaje *KRAS* no responden a tal terapia. (130). En estos pacientes los datos sugieren que el gen *BRAF* mutado, presente en el 5%- 10% de los tumores, puede afectar la respuesta a estos agentes. No está claro en qué medida la falta de respuesta en gen *KRAS* de tipo salvaje se debe a mutaciones *BRAF*, pero los datos sugieren que este oncogén mutado confiere resistencia a la terapia anti-EGFR, determinado que va más allá del tratamiento de primera línea (131). En un estudio con 524 pacientes con cáncer colorrectal *BRAF* mutante y *BRAF* de tipo salvaje, la supervivencia para los primeros fue de 10,4 meses, en tanto que para los segundos fue de 34,7 meses. La mutación *BRAF* activa la vía MEK/ERK por medio de sus efectores, viéndose la producción y promoción del fenotipo maligno mediante la expresión genética y la proliferación (132). Sin embargo, los resultados clínicos con inhibidores de *BRAF* en tumores CCR han sido bastante decepcionantes. Por otra parte, en un estudio con células de CCR, con fenotipo *BRAF* mutado y resistentes a vemurafenib, reveló que la inhibición de *BRAF* por este compuesto produjo una rápida activación del receptor del factor de crecimiento EGFR, el cual estimuló la continua proliferación en presencia de la inhibición de *BRAF* (133). También se demostró que la supresión de EGFR por cetuximab, erlotinib, gefitinib y vemurafenib causa un efecto inhibitorio en el CCR con *BRAF* mutado en modelos tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”, resultados que indican que la terapia de combinación con inhibidores de *BRAF* y EGFR puede ser más eficaz. Este estudio, en las cuales se combinó con vemurafenib y erlotinib, condujo a la regresión de los tumores formados mediante xenoinjertos usando líneas celulares de cáncer colorrectal y la reducción del marcador de proliferación Ki67 (134).

Gen RAS.- La familia de los genes *RAS*: *HRAS*, *NRAS* y *KRAS* constituyen en las neoplasias humanas uno de los grupos de oncogenes más frecuentemente alterados

(135). Por ejemplo, el oncogén *KRAS* participa en la señalización de las vías PI3K/PTEN/AKT y RAF/MEK/ERK (136,137), por lo que las mutaciones en *KRAS*, en tumores humanos, constituyen alrededor del 85% de todas las mutaciones *RAS*, en tanto que las *NRAS* son aproximadamente el 15% y las de *HRAS* son del 0.12 al 1% (138). El gen *RAS* parece ser específico para los tumores de colon, páncreas y pulmón, los cuales tienen una alta frecuencia de mutaciones *KRAS*. Las proteínas codificadas por estos genes constituyen una estructura proteica de 21Kd (p21) que posee actividad GTPasa, actuando en la vía de transducción de señales de crecimiento y diferenciación celular (139). La mutación de este gen es el evento genético más común que se observa en el desarrollo de tumores malignos humanos, siendo un 30% para pulmón, 40% para colon, 80% para páncreas, 55% para tiroides (140). Alrededor de 90% de las mutaciones de este gen se localizan en sitios específicos del primer exón, siendo aproximadamente el 80% en el codón 12; en el codón 13 su frecuencia es del 15-20% (141). En el segundo exón se localiza el codón 61, que tiene una frecuencia de mutación menor al 3%, pero la mutación más frecuente ocurre en el segundo nucleótido del codón 12 y corresponden predominantemente a transiciones guanina-adenina con sustitución de ácido aspártico por glicina.

La terapia usada en algunos estadios avanzados de cáncer de colon y recto incluyen el uso de anticuerpos monoclonales tales como panitumumab y cetuximab, capaces de bloquear la activación del EGFr (142). En los pacientes que no responden a esta terapia se demostró que las células tumorales eran portadoras de una de las mutaciones del gen *KRAS*, que se encuentra localizado en la vía del gen *EGFr*, lo que producía la activación de esta vía independiente del bloqueo del *EGFr* (143). Por otra parte, se demostró que el gen *KRAS*, tanto el estado silvestre o el mutado eran capaces de predecir tanto la respuesta como su utilidad en el tumor ante el uso de inhibidores del EGFr (144). Varios estudios han demostrado que algunos tipos específicos de mutación de *KRAS* tienen relación con la sobrevida, como la mutación G12V, que se asociaría a un pronóstico más adverso de la enfermedad en relación a otros tipos de mutaciones (145,146).

Gen VEGF.- La localización cromosómica del gen *VEGF* humano es 6p21.3, estando constituido por ocho exones y siete intrones, con una región codificante de longitud aproximada de 14 kb (147). A partir de este gen se generan 5 isoformas por *splicing* alternativo que tienen un tamaño de 121, 145, 165, 189 y 206 aminoácidos (148). La mayoría de tipos celulares que expresan este gen, tanto en situaciones fisiológicas

normales como patológicas, expresan las isoformas *VEGF*121 y *VEGF*165, siendo también encontrado *VEGF*189 en algunos tipos celulares (149). La supervivencia y la expansión neoplásica del clon de células son compatibles con el tejido circundante que sostiene y favorece estas condiciones, por lo que el estroma asociado al tumor sostiene activamente la progresión del CCR. Entre las células asociadas a los tumores se encuentran las células endoteliales y los pericitos, que forman la neo-vascularización (150). Las citocinas y factores de crecimiento producidos por las células del tumor crean condiciones óptimas de crecimiento dentro del microambiente tumoral, mientras que las citocinas secretadas por células estromales pueden influir en el comportamiento maligno de las células. Las citocinas pro-inflamatorias IL-4 y IL-1, los factores de crecimiento como VEGF y TGF- β -1, -2, -3, más sus receptores (151), promueven la transcripción de genes para activar varias vías de señalización, las cuales colaboran en la supervivencia, la expansión del tumor y la metástasis (152).

Tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”, la hipoxia es el principal regulador de la expresión del gen *VEGF*, ya que la disminución de la tensión de oxígeno causa un aumento de su transcripción a través del factor de transcripción HIF1 (*Hypoxia inducible factor 1*) (153). La hipoxia representa una etapa decisiva en la progresión tumoral, ya que el factor de transcripción HIF1 coopera con los factores IL-6, TGF- β y *VEGF* en la promoción del crecimiento tumoral (154). En el cáncer de colon, la interacción en los niveles de IL-6 y el aumento de HIF1 α favorece la expresión de la isoforma pro-angiogénica VEGF, lo cual contribuye a la proliferación tumoral, el escape de la apoptosis y la migración de las células tumorales, a lo cual se suma su afinidad con el estadio tumoral (155). Un ensayo clínico con un inhibidor del VEG, el bevacizumab, demostró que la incorporación de este agente a la quimioterapia estándar para el CCR metastásico aumentaba la supervivencia en pacientes con cáncer CCR (156). El 5-fluorouracilo (5-FU) junto con el bevacizumab han sido dos de los principales agentes quimioterapéuticos en el tratamiento del CCR (157). En los últimos 15 años el patrón de tratamiento para el cáncer colorrectal metastásico se ha basado en el uso de fármacos citotóxicos como el Irinotecán y oxaliplatino y los anticuerpos monoclonales bevacizumab y cetuximab (158,159).

Metaloproteasas y cáncer colorrectal

La matriz extracelular constituye una barrera física, por lo que el correcto funcionamiento de las vías que regulan su morfogénesis, desarrollo, daño tisular y remodelación es esencial para mantener su integridad. Sin embargo, cuando se detecta

algún tipo de alteración en dicha regulación, éstas se relacionan con algunas enfermedades, entre las que destaca el cáncer. Los dos mecanismos biológicos responsables de la malignidad del cáncer son la infiltración y la metástasis (160), en los cuales juegan un papel esencial los procesos invasivos que ocurren por la ruptura de las uniones intercelulares provocados por la actividad proteolítica de las proteasas. Ellas tienen la propiedad de romper las moléculas de matriz extracelular y de adhesión, donde las metaloproteasas MMPs o matrixinas humanas, las cuales se pueden clasificar en: las colagenasas MMP-1 y MMP-13; las gelatinasas MMP-2 y MMP-9; las estromelinas MMP-3, MMP-10 y MMP-11; las matrilisinas MMP-7 y MMP-26), más las MMP tipo transmembrana MMP-14, -15, -16 y -24 (161).

Estas enzimas y sus niveles de transcripción están estrictamente regulados positiva y negativamente por moléculas como citoquinas, factores de crecimiento y factores de necrosis tumoral. Incluso las interacciones célula-matriz o célula-célula son capaces de modular la transcripción de las proteasas MMPs. Además, existe otro nivel de regulación en cuanto a su activación enzimática por modificación post-transcripcional que requiere la eliminación del propéptido del extremo N-terminal de la proteína. Por otra parte, existen los inhibidores de las MMPs específicos de tejido (162). La regulación transcripcional de estas proteínas está también a cargo de citoquinas y factores de crecimiento que también controlan la expresión de las proteasas (163,164).

La familia de las enzimas MMPs son capaces de degradar todos los componentes de la matriz extracelular: colágenos, lamininas, fibronectinas, vitronectinas, proteoglicanos etc. Las proteasas están implicadas en multitud de procesos fisiológicos y patológicos en los que esté involucrada su actividad proteolítica. Además ellas están incluidas en muchos otros procesos, tanto fisiológicos, diferenciación y la apoptosis como patológicos, destacando dentro de todos ellos la metástasis tumoral (164). En el CCR han sido muy estudiados diversos miembros de la familia MMPs, estando asociada la MMP-1 con un peor pronóstico al favorecer las metástasis hematógenas (166). También se ha asociado una mayor expresión de MMP-13 en tumores CCR con un peor pronóstico (167). La expresión de MT1-MMP y MMP-14 es elevada en tumores de colon y se ha descrito como diana de la vía WNT (168) MMP-2 está relacionada con la invasión tumoral y se ha visto que existe una mayor expresión de su transcrito en el frente invasivo del tumor colónico. En células T, se consigue la inducción de MMP-2 y MMP-9 tras su incubación con WNT1 y WNT3a. Ambas son dianas de β -catenina y presentan sitios de unión a LEF/TCF (169). Se encontró que la expresión de MMP-3 en

tumores CRC MSI-L/MSS era mayor que en tumores MSI-H, donde además los niveles de MMP-9 activa eran menores, posiblemente debidos a una menor síntesis de MMP-3 (170). En cuanto a MMP-7, está relacionado con invasión y metástasis en el CCR, además con una correlación positiva en cuanto a su expresión con β -catenina (171). De hecho, es conocido que MMP-7 es diana de la vía WNT, puesto que posee secuencias de unión a TCF-4 en su promotor, que responden a la presencia de β -catenina. Existen otras moléculas encargadas de dicha regulación, como las *k-ras* que podría estar ejerciendo un papel sinérgico con la vía WNT (172).

Las células madre en el cáncer colorrectal

Las células madre se definen por dos propiedades biológicas fundamentales, como lo son la *autorrenovación* y *multipotencia*. La primera es la capacidad de la célula para perpetuarse durante un gran periodo de tiempo, en tanto que la segunda es la capacidad de generar todas las células diferenciadas de los tejidos de origen (173). En el epitelio superficial de la mucosa del colon hay una renovación constante, la cual es normal y ocurre mediante la proliferación y diferenciación de las células madres que se encuentran en el fondo de cada una de las *criptas de Lieberkühn*. Las células diferenciadas ya maduras normalmente pierden su capacidad de dividirse para morir finalmente por apoptosis (174). Dentro de esta realidad nació la "*teoría de las células madre del cáncer*", que sugiere que los tumores son generados y mantenidos por un pequeño subconjunto de células no diferenciadas capaces de auto renovarse y diferenciarse. La teoría de las células madre del cáncer fue propuesta originalmente por Cohnheim en 1875, basándose en cuatro principios: 1) agresiones externas o internas, producidas por factores de orden físico, químico o biológico pueden ocasionar daños genéticos en las células madre; 2) la célula madre malignizadas originan los tumores; 3) dentro de un de tumor todas las células presentan el mismo perfil; 4) los diferentes tumores originados de diferentes células madre tienen diferentes perfiles genéticos y bioquímicos (175). Esta teoría se fundamentó originalmente en los estudios de la leucemia (175), pero ahora tiene validez para el CCR y se está investigando extensamente para otras neoplasias. Estudios recientes han encontrado que las células madre del cáncer de colon pueden ser identificados utilizando ciertos marcadores celulares como CD44, CD133, CD166 y EpCAM (177, 178,179). La auto renovación tanto para las células madre normales, como de las células madre malignizadas está

regulada por varias vías. Para leucemias y cáncer de colon una posible vía común es a través de Wnt (180,181). Otras posibles alternativas con implicaciones para la CCR incluyen Notch, PTEN / AKT, p53 y Bmi. (182,183,184). Las células madre implicadas en el desarrollo del cáncer tienen implicaciones importantes para la prevención y la terapia, ya que en su gran mayoría los agentes citotóxicos utilizados para tratar el cáncer de colon están diseñados para eliminar las células activamente proliferantes. Esto significa que células madre implicadas en el cáncer están siendo obviadas, lo que contribuye a la selección de células resistentes, por lo que en el futuro la búsqueda de biomarcadores específicos para las células madres implicadas en el cáncer contribuirá a mejorar el diagnóstico, pronóstico y la terapia para la prevención y tratamiento del cáncer

Conclusión

El desarrollo del CCR puede iniciarse a través de la inactivación de genes supresores de tumor, pudiéndose ocasionar tanto por mutaciones como por hipermetilaciones de dichos genes. Existen, también los oncogenes que pueden sufrir mutaciones y los genes que participan en el control de la proliferación celular y la apoptosis. En los tumores colorrectales se encuentra una acumulación de múltiples mutaciones, pero no siempre son las mismas, a lo cual se suma que la acumulación total de estas mutaciones es más responsable que el orden de aparición del fenotipo. Por otra parte la vía de la carcinogénesis colorrectal no es única y probablemente existen varias de ellas para el inicio, desarrollo y progresión de este tipo de tumor. Esta revisión muestra que es muy importante desarrollar aún más las investigaciones sobre este tipo de cáncer, ya que con un estudio más profundo se pueden develar y conocer en profundidad sus mecanismos, sus procesos y sus interrelaciones para poder encontrar mejores, y más específicas alternativas de blancos terapéuticos que permitan optimizar los tratamientos contra este tipo de cáncer, tan frecuente y tan amenazante.

Bibliografía

- 1) Geneser F (2005) *Histología*, 3era Ed. Editorial Médica Panamericana,
- 2) Gloeckler Ries LA, Reichman ME, Lewis DR, Hankey BF and Edwards BK (2003) **Cancer survival and incidence from the Surveillance Epidemiology, and End Results (SEER) program.** *Oncologist.* **8**,541-552.
- 3) www.cancer.org. 26/03/2014
- 4) Organización Mundial de la Salud (OMS). Cáncer. Par12 L1 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/> 14/02/2014.

- 5) Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E (2010) **Cancer statistics, 2010**. *CA Cancer J Clin* **60**, 277-300.
- 6) Rocco A, Stribanos S, Ottini L, Mezza E, Somma P, Mariani-Costantini R, et al. (2003) **Is there a link between environmental factors and a genetic predisposition to cancer ? A lesson from a familial cluster of gastric cancer**. *Eur. J. Cancer* **39**, 1619-1624.
- 7) Watson AJ, Collins PD (2011) **Colon cancer: a civilization disorder**. *Dig Dis* **29**, 222-228.
- 8) Rivera B, González S, Sánchez-Tomé E, Blanco I, Mercadillo F, Letón R, et al (2011) **Clinical and genetic characterization of classical forms of familial adenomatous polyposis: a Spanish population study**. *Ann Oncol.* **22**,903-909.
- 9) Rubin DC, Shaker A, Levin MS (2012) **Chronic intestinal inflammation: inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer**. *Front Immunol.* **3**,1-10.
- 10) Oxentenko AS, Smyrk TC (2012) **Interval colon cancer in a Lynch syndrome patient under annual colonoscopic surveillance: a case for advanced imaging techniques?** *BMC Gastroenterol.* **12**,50-56.
- 11) Wright JD, Powell MA, Mutch DG, Rader JS, Gibb RK, Huettner PC et al (2004) **Synchronous ovarian metastases at the time of laparotomy for colon cancer**. *Gynecol Oncol.* **92**,851-855.
- 12) Banno K, Yanokura M, Kobayashi Y, Kawaguchi M, Nomura H, Hirasawa A, et al (2009) **Endometrial cancer as a familial tumor: pathology and molecular carcinogenesis**. *Curr Genomics* **10**,127-132.
- 13) Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW (2010). **Hereditary and familial colon cancer**. *Gastroenterology* **138**, 2044-2058.
- 14) Manne U, Shanmugam C, Katkoori VR, Bumpers HL, Grizzle WE (2010) **Development and progression of colorectal neoplasia**. *Cancer Biomark.* **9**,235-265.
- 15) Kastrinos F, Syngal S (2011) **Inherited colorectal cancer syndromes**. *Cancer J.* **17**,405-415.
- 16) Watson AJ, Collins PD (2011) **Colon cancer: a civilization disorder**. *Dig Dis.* **29**,222-228.
- 17) Lin OS (2012) **Colorectal cancer screening in patients at moderately increased risk due to family history**. *World J Gastrointest Oncol.* **4**,125-130.

- 18) de Campos FG , Nicácio De Freitas I, Imperiale AR, Seid V.E, Perez RO, Nahas SC et al (2010) **Colorectal cancer in familial adenomatous polyposis: Are there clinical predictive factors?** *Cir Esp.* **88**,390-397.
- 19) Ali N, Chowdhury P (2012) **Molecular signaling mechanisms of apoptosis in hereditary non-polyposis colorectal cancer.** *World J Gastrointest Pathophysiol.* **3**,71-79.
- 20) Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF (1998) **Molecular genetics and clinical-pathology features of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (Lynch syndrome): historical journey from pedigree anecdote to molecular genetics confirmation.** *Oncology.* **55**,103-108.
- 21) Chung DC, Rustgi AK (2003) **The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications.** *Ann Intern Med.* **138**:560-570.
- 22) Söreide K, Janssen EA, Söiland H, Körner H, Baak JP (2006) **Microsatellite instability in colorectal cancer.** *Br J Surg.* **93**,395-406.
- 23) Oliveira C, Westra JL, Arango D, Ollikainen M, Domingo E, Ferreira A, et al. (2004) **Distinct patterns of KRAS mutations in colorectal carcinomas according to germline mismatch repair defects and hMLH1 methylation status.** *Hum Mol Genet* **13**,2303-2311
- 24) Mecklin J.P. (2008) **The implications of genetics in colorectal cancer.** *Annals of Oncology* **19** (Supplement 5), v87–v90.
- 25) Imai K, Yamamoto H (2008) **Carcinogenesis and microsatellite instability: the interrelationship between genetics and epigenetics.** *Carcinogenesis.***29**, 673-680.
- 26) Pawlik TM, Raut CP, Rodriguez-Bigas MA (2004) **Colorectal carcinogenesis: MSI-H versus MSI-L.** *Dis Markers.* **20**,199-206.
- 27) Kinzler KW, Vogelstein B (1996) **Lessons from hereditary colorectal cancer.** *Cell* **87**,159-170.
- 28) Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al (1998) **National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer.** *Cancer Res.* **58**, 5248-5257.
- 29) Jass JR (2004) **HNPCC and sporadic MSI-H colorectal cancer: a review of the morphological similarities and differences.** *Fam Cancer.* **3**,93-100.
- 30) NCCN. **Clinical practice guidelines in oncology: colorectal cancer screening.** Vol. 1, 2010

- 31) Turcot J, Despres, J P, St. Pierre F (1959) **Malignant tumors of the central nervous system associated with familial polyposis of the colon.** *Dis. Colon Rectum* **2**, 465-468.
- 32) Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, et al. (1995) **The molecular basis of Turcot's syndrome.** *N. Engl. J. Med.* **332**, 839-847.
- 33) Itoh H, Ohsato K (1985) Turcot syndrome and its characteristic colonic manifestations. *Dig. Dis. Sci.* **28**, 399-402.
- 34) Ponti, G, Ponz de Leon, M (2005) **Muir-Torre syndrome.** *Lancet Oncol* **6**, 980-987.
- 35) Mangold E, Pagenstecher C, Leister M, Mathiak M, Rütten A, Friedl W, et al. (2004) **A genotype-phenotype correlation in HNPCC: strong predominance of msh2 mutations in 41 patients with Muir-Torre syndrome.** *J. Med. Genet.* **41**, 567-572.
- 36) Murphy H R, Armstrong R, Cairns D, Greenhalgh K L (2008) **Muir-Torre Syndrome: expanding the genotype and phenotype-a further family with a MSH6 mutation.** *Fam. Cancer* **7**,255-257.
- 37) Ponti G, Ponz de Leon M, Maffei S, Pedroni M, Losi L, Di Gregorio C, et al (2005) **Attenuated familial adenomatous polyposis and Muir-Torre syndrome linked to compound biallelic constitutional MYH gene mutations.** *Clin. Genet.* **68**,442-447
- 38) Merchea A, Wolff B G, Dozois EJ, Abdelsattar ZM, Harmsen WS, Larson, DW (2012) **Clinical features and oncologic outcomes in patients with rectal cancer and ulcerative colitis: a single-institution experience.** *Dis Colon Rectum* **55**,881-885.
- 39) Mattar MC, Lough D, Pishvaian MJ and Charabaty, A (2011) **Current management of inflammatory bowel disease and colorectal cancer.** *Gastrointest. Cancer Res.* **4**, 53-61.
- 40) Church JM (2004) **Clinical significance of small colorectal polyps.** *Dis. Colon Rectum.* **47**, 481-485.
- 41) Vormbrock K and Mönkemüller K (2012) **Difficult colon polypectomy.** *World J Gastrointest Endosc.* **4**,269-280.
- 42) Schreiner MA, Weiss DG, Lieberman DA (2010) **Proximal and large hyperplastic and nondysplastic serrated polyps detected by colonoscopy are associated with neoplasia.** *Gastroenterology* **139**, 1497-1502.
- 43) Worthley DL, Leggett BA (2010) **Colorectal cancer: molecular features and clinical opportunities.** *Clin Biochem Rev.* **31**:31-38.

- 44) Fearon ER and Vogelstein B (1990) **A genetic model for colorectal tumorigenesis.** *Cell* **61**,759-767.
- 45) Llor X, Pons E, Xicola RM, Castells A, Alenda C, Piñol V, et al (2005) **Differential features of colorectal cancers fulfilling Amsterdam criteria without involvement of the mutator pathway.** *Clin Cancer Res.* **11**, 7304-7310.
- 46) Pino MS and Chung DC (2010) **The chromosomal instability pathway in colon cancer.** *Gastroenterology* **138**, 2059-2072.
- 47) Lustig B, Behrens J (2003) **The Wnt signaling pathway and its role in tumor development.** *J Cancer Res Clin Oncol.* **129**, 199-221.
- 48) Laurent-Puig P, Agostini J, Maley K (2010) **Colorectal oncogenesis.** *Bull Cancer* **97**, 1311-1321.
- 49) Arrington AK, Heinrich EL, Lee W, Duldulao M, Patel S, Sanchez J, et al (2012) **Prognostic and Predictive Roles of KRAS Mutation in Colorectal Cancer.** *Int J Mol Sci.* **13**, 12153-12168.
- 50) Mehlen P, Fearon ER (2004). **Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis.** *J Clin Oncol.* **22**,3420-3428.
- 51) Nagothu KK, Jaszewsky R, Moragoda L, Rishi AK, Finkenauer R, Tobi M, et al (2003) **Folic acid mediated attenuation of loss heterozygosity of DCC tumor suppressor gene in the colonic mucosa of patients with colorectal adenomas.** *Cancer Detect Prev.* **27**, 297-304.
- 52) Klingelhutz AJ, Hedirck L, Cho KR, McDougall JK (1995) **The DDC gene suppresses the malignant phenotype of transformed human epithelial cells.** *Oncogene* **10**, 1581-1586.
- 53) Volgeisten B, Lane D, Levine A (2000) **Surfing the p53 network.** *Nature* **408**, 307-310.
- 54) Chang F, Syrjanen S, Tervahauta A (1993) **Tumorigenesis associated with the p53 tumour suppressor gene.** *Br. J. Cancer* **68**, 653-661.
- 55) Naccarati A, Polakova V, Pardini B, Vodickova L, Hemminki K, Kumar R et al (2012) **Mutations and polymorphisms in TP53 gene an overview on the role in colorectal cancer.** *Mutagenesis* **27**,211-218.
- 56) Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, et al (2002) **Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors.** *Nat. Genet.* **30**, 227-232.
- 57) Slattery ML, Lundgreen A, Wolff RK (2012) **MAP kinase genes and colon and rectal cancer.** *Carcinogenesis* **33**, 2398-2408.

- 58) de Miranda NF, Hes FJ, van Wezel T, Morreau, H (2012) **Role of the microenvironment in the tumorigenesis of microsatellite unstable and MUTYH-associated polyposis colorectal cancers.** *Mutagenesis* **27**, 247-253.
- 59) Fostira F., Thodi G, Sandaltzopoulos R, Fountzilas G, Yannoukakos D (2010) **Mutational spectrum of APC and genotype-phenotype correlations in Greek FAP patients.** *BMC Cancer* **10**, 389-392.
- 60) Boland CR, Goel, A (2010) **Microsatellite instability in colorectal Cancer** *Cancer* **138**, 2073-2087.
- 61) Loeb LA (1998) **Cancer Cells Exhibit a Mutator Phenotype.** *Advances in Cancer Research* **72**, 25-56.
- 62) Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC et al (1997) **Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype.** *Science* **275**, 967-969.
- 63) Schwar S, Yamamoto H, Navarro M, Maestro M, Reventós J, et al (1999) **Frameshift Mutations at Mononucleotide Repeats in caspase-5 and Other Target Genes in Endometrial and Gastrointestinal Cancer of the Microsatellite Mutator Phenotype 1.** *Cancer Res.* **59**, 2995-3002.
- 64) Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, et al (1995) **Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability.** *Science* **268**, 1336-1338.
- 65) Thorstensen L, Diep CB, Meling GI, Aagesen TH, Ahrens CH, Rognum TO et al (2001) **WNT1 inducible signaling pathway protein 3, WISP-3, a novel target gene in colorectal carcinomas with microsatellite instability.** *Gastroenterology* **121**, 1275-1280.
- 66) Li G M (2008) **Mechanisms and functions of DNA mismatch repair.** *Cell Res.* **18**, 85-98.
- 67) Kondo Y, Issa JP (2004) **Epigenetic changes in colorectal cancer.** *Cancer Metastasis Rev.* **23**, 29-39.
- 68) Dahlin AM, Palmqvist R, Henriksson ML, Jacobsson M, Eklöf V, Rutegård J, et al (2010) **The role of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer prognosis depends on microsatellite instability screening status.** *Clin Cancer Res.* **16**, 1845-1855.
- 69) Simmer F, Brinkman AB, Assenov Y, Matarese F, Kaan A, Sabatino L, et al (2012) **Comparative genome-wide DNA methylation analysis of colorectal tumor and matched normal tissues.** *Epigenetics* **7**, 1355-1367.
- 70) Ho AS, Turcan S, Chan TA. (2013) **Epigenetic therapy: use of agents targeting deacetylation and methylation in cancer management.** *Onco Targets Ther.* **6**, 223-232

- 71) Mo ML, Li MR, Chen Z, Liu XW, Sheng Q, Zhou HM (2013) **Inhibition of the Wnt palmitoyltransferase porcupine suppresses cell growth and downregulates the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer.** *Oncol Lett.* **5**,1719-1723.
- 72) Manzano A, Pérez-Segura P. (2012) **Colorectal cancer chemoprevention: is this the future of colorectal cancer prevention?** *Scientific World Journal.* 2012:327341 doi: 10.1100/2012/327341.
- 73) Vaish V, Rana C, Piplani H, Vaiphei K, Sanyal SN (2014) **Sulindac and Celecoxib regulate cell cycle progression by p53/p21 up regulation to induce apoptosis during initial stages of experimental colorectal cancer.** *Cell Biochem Biophys.* **68**,301-319
- 74) Lee HJ, Wang NX, Shao Y, Zheng JJ (2009) **Identification of tripeptides recognized by the PDZ domain of Dishevelled.** *Bioorg Med Chem.* **17**, 1701-1708.
- 75) Fujii N, You L, Xu Z, Uematsu K, Shan J, He B, et al (2007). **An antagonist of dishevelled protein-protein interaction suppresses beta-catenin-dependent tumor cell growth.** *Cancer Res.* **67**,573-579.
- 76) Fetahu IS, Höbaus J, Kállay E (2014) **Vitamin D and the epigenome.** *Front Physiol.* **5**,164. doi: 10.3389/fphys.2014.00164.
- 77) Beggs AD, Jones A, El-Bahwary M, Abulafi M, Hodgson SV and Tomlinson IP (2013) **Whole-genome methylation analysis of benign and malignant colorectal tumours.** *Pathol.* **229**, 697-704, 2013.
- 78) Potter JD (1999) **Colorectal cancer: molecules and populations.** *J Natl Cancer Inst.*, **91**, 916-932.
- 79) Giles RH, van Es JH, Clevers H (2003) **Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer.** *Biochim Biophys Acta.* **1653**,1-24
- 80) Scholer-Dahirel A, Schlabach MR, Loo A, et al.(2011) **Maintenance of adenomatous polyposis coli (APC) -mutant colorectal cancer is dependent on Wnt/beta-catenin signaling.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 17135-17140.
- 81) Yuan P, Sun MH, Zhang JS, et al. **APC and K-ras gene mutation in aberrant crypt foci of human colon.** *World J Gastroenterol.* **7**,352-326.
- 82) Huelsken J, Birchmeir W (2001) **New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates.** *Curr Opin Genet Dev* **11**: 547-553.
- 83) Døsen G, Tenstad E, Nygren MK, Stubberud H, Funderud S, Rian E (2006) **Wnt expression and canonical Wnt signaling in human bone marrow B lymphopoiesis.** *BMC Immunology* **7**, 1-17

- 84) de la Puente P, Muz B, Azab F, Luderer M, Azab AK (2014) **Molecularly targeted therapies in multiple myeloma.** *Leuk Res Treatment.* 976567. doi: 10.1155/2014/976567.
- 85) Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, Ivy SP (2011) **Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways.** *Nat Rev Clin Oncol* **8**,97-106
- 86) Mikhail S, Zeidan A (2014) **Stem cells in gastrointestinal cancers: The road less travelled.** *World J Stem Cells.* **6**(5), 606-613.
- 87) Luo J, Chen J, Deng ZL, Luo X, Song WX, Sharff KA, et al. (2007) **Wnt signaling and human diseases: what are the therapeutic implications?** *Lab Invest* **87**, 97-103.
- 88) Raskov H, Pommergaard HC, Burcharth J, Rosenberg J (2014) **Colorectal carcinogenesis-update and perspectives.** *World J Gastroenterol.* **20**,18151-18164.
- 89) Arvelo F, Poupon MF (2001) **Aspectos Moleculares y Celulares de la Metástasis Cancerosa.** *Acta Cient Venez* **52**,304-312.
- 90) Alexiou D, Karayianna AJ, Syrigos KN, Zbar A, Kremmyda A, Bramis I, Tsigris C (2001) **Serum levels of E-selectins, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patients survival and tumour surgery.** *Eur J Cancer.* **37**,2392-2397.
- 91) Wheelock MJ, Johnson KR (2003) **Cadherins as modulators of Cellular phenotype.** *Ann. Rev Cell Dev Biol.* **19**,207-235.
- 92) Restucci B, Martano M, De Vico G, Lo Muzio L, Maiolino P (2009) **Expression of E-cadherin, beta-catenin and APC protein in canine colorectal tumours.** *Anticancer Res.* **29**,2919-2925.
- 93) Jiang WG (1996) **E-cadherin and its associated proteins catenins, cancer invasion and metastasis.** *Br. J. Surg.* **83**, 437-446.
- 94) Driouch K, Dorion-Bonnet F, Brifford M, Champeme MH, Longy M, Lidereau R (1997) **Loss of heterozygosity on chromosome arm 16q in breast cancer metastases.** *Genes Chromosomes* **19**, 185-191.
- 95) El-bahrawy MA, Talbot IC, Poulson R, Jeffrey R, Alioson MR (2002) **The expression of E-cadherin and catenins in colorectal tumours from familial adenomatous polyposis patients.** *J Pathol.* **198**,69-76.
- 96) Nigam AK, Savage FJ, Boulos PB, Stamp GW, Liu D, Pignatelli M (1993) **Loss of cell-cell and cell-matrix adhesion molecules in colorectal cancer.** *Br J Cancer* **68**,507-514.

- 97) Pierce M, Wang C, Stump M, Kamb A (2003) **Overexpression of the Beta-catenin binding domain of cadherin selectivity kills colorectal cancer cells.** *Int J Cancer* **107**, 229-237.
- 98) Davies ML, Roberts GT, Spiller DG, Wakeman JA (2007) **Density-dependent location and interactions of truncated APC and beta-catenin.** *Oncogene* **23**, 1412-1419.
- 99) Faux MC, Ross JL, Meeker C, Johns T, Ji H, Simpson RJ, Layton MJ, Burgess AW (2004) **Restoration of full-length adenomatous polyposis coli (APC) protein in a colon cancer cell line enhances cell adhesion.** *J Cell Sci.* **117**, 427-439.
- 100) Half E, Bercovich D, Rozen P (2009) **Familial adenomatous polyposis.** *Orphanet J Rare Dis.* **4**,1-23.
- 101) Hartley JE, Church JM, Gupta S, McGannon E, Fazio VW (2004) **Significance of incidental desmoids identified during surgery for familial adenomatous polyposis.** *Dis Colon Rectum.* **47**, 334-338.
- 102) Bonneton C, Larue L, Thiéry JP (1996) **The APC gene product and colorectal carcinogenesis.** *C R Acad Sci III* **319**,861-869.
- 103) Rapozo DC, Grinmann AB, Carvalho AT, de Souza HS, Soares-Lima SC, de Almeida Simão T, de Paiva D, Abby F, Albano RM, Pinto LF (2009) **Analysis of mutations in TP53, APC, K-ras, and DCC genes in the non-dysplastic mucosa of patients with inflammatory bowel disease.** *Int J Colorectal Dis.* **24**, 1141-1148.
- 104) Suter CM, Norrie M, Ku SL, Cheong KF, Tomlinson I, Ward RL (2003) **CpG island methylation is a common finding in colorectal cancer cell lines.** *Br J Cancer* **88**, 413-419.
- 105) Van Rijnsoever M, Elsaleh H, Joseph D, McCaul K, Iacoprotta B (2003) **CpG island methylator phenotype is an independent predictor of survival benefit from 5-fluorouracil in stage III colorectal cancer.** *Clin Cancer Res.* **9**, 2898-2903.
- 106) Ishibe N, Freedman AN (2001) **Understanding the interaction between environmental exposures and molecular events in colorectal carcinogenesis.** *Cancer Invest.* **19**,524-539.
- 107) Miyaki M (1998) **Imprinting and colorectal cancer.** *Nat Med.* **4**, 1236-1237 .
- 108) Cheng YW, Idrees K, Shattock R, Khan SA, Zeng Z, Brennan CW, et al. (2010). **Loss of imprinting and marked gene elevation are 2 forms of aberrant IGF2 expression in colorectal cancer.** *Int J Cancer.* **127**, 568-577.
- 109) Bonasio R, Tu S, Reinberg D (2010). **Molecular signals of epigenetic states.** *Science* **330**,612–616.

- 110) Jia Y, Guo M (2013) **Epigenetic changes in colorectal cancer.** *Chin J Cancer* **32**, 21-30.
- 111) Reik W, Surani MA (1989) **Cancer genetics. Genomic imprinting and embryonal tumours.** *Nature* **338**,112–113.
- 112) Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato, C (2007) **Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells.** *Cancer Res.* **67**, 1424–1429.
- 113) Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, et al. (1991) **Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene.** *Cell* **66**, 589-600.
- 114) Sieber M, Tomlinson PI, Lamlum H (2000) **The adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor–genetics, function and disease.** *Mol. Med. Today* **6**, 462-469.
- 115) Joslyn G, Richardson DS, White R, Alber T (1993) **Dimer formation by an N-terminal coiled coil in the APC protein.** *Proc Natl Acad Sci USA.* **90**, 11109-11113.
- 116) Fearnhead NS, Britton M P, Bodmer W (2001). **The ABC of APC.** *Hum. Mol. Genet.* **10**, 721-733.
- 117) Sieber M, Tomlinson O, Lamlum IH (2000) **The adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor–genetics, function and disease.** *Mol. Med. Today* **6**, 462-469.
- 118) Su LK, Vogelstein B, Kinzler KW (1993) **Association of the APC tumor suppressor protein with catenins.** *Science*, **62**,1734-1737.
- 119) Fearnhead N, Britton MP, Bodmer W (2001) **The ABC of APC.** *Hum. Mol. Genet.* **10**, 721-733.
- 120) Potter JD (1999) **Colorectal cancer: molecules and populations.** *J.Nat.Cancer.Inst.* **91**, 916-932.
- 121) Polakis P (1997) **The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor.** *Biochim. Biophys. Acta* **1332**, F127-147.
- 122) Aoki K and Taketo MM (2007) **Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene.** *J. Cell. Sci.*, **120**:3327-3335.
- 123) Su LK Burrell M, Hill DE, Gyuris J, Brent R, Wiltshire R, Trent J, et al (1995) **APC binds to the novel protein EB1.** *Cancer Res.* **55**, 2972-2977.

- 124) Sieber M, Tomlinson O, Lamlum IH (2000) **The adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor—genetics, function and disease.** *Mol. Med. Today* **6**, 462-469.
- 125) Lustig B, Behrens, J (2003) **The Wnt signaling pathway and its role in tumor development.** *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **129**, 199-221.
- 126) Aoki K, Taketo M (2007) **Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene.** *J. Cell. Sci.* **120**, 3327-3335.
- 127) Sakai E, Ohata K, Chiba H, Matsushashi N, Doi N, Fukushima J, et al (2014). **Methylation epigenotypes and genetic features in colorectal laterally spreading tumors.** *Int J Cancer.* **135**,1586-1595.
- 128) Sinicrope FA, Shi Q, Smyrk TC, Thibodeau SN, Dienstmann R, Guinney J, et al (2015). **Molecular Markers Identify Subtypes of Stage III Colon Cancer Associated With Patient Outcomes.** *Gastroenterology* **148**, 88-99.
- 129) Tran B, Kopetz S, Tie J, Gibbs P, Jiang ZQ, Lieu CH, et al (2011). **Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer.** *Cancer* **117**,4623-4632.
- 130) Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, et al (2012). **Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR.** *Nature* **483**,100-103.
- 131) Mao M, Tian F, Mariadason JM, Tsao CC, Lemos R Jr, Dayyani F, (2012). **Resistance to BRAF inhibition in BRAF-mutant colon cancer can be overcome with PI3K inhibition or demethylating agents.** *Clin Cancer Res* **19**,657-667.
- 132) Lange F, Franz B, Maletzki C, Linnebacher M, Hühns M, Jaster R. (2014) **Biological and molecular effects of small molecule kinase inhibitors on low-passage human colorectal cancer cell lines.** *Biomed Res Int.* 2014:568693. doi: 10.1155/2014/568693.
- 133) Yang H, Higgins B, Kolinsky K, Packman K, Bradley WD, Lee RJ, et al (2012) **Antitumor activity of BRAF inhibitor vemurafenib in preclinical models of BRAF-mutant colorectal cancer.** *Cancer Res* **72**,779-789.
- 134) Corcoran RB, Ebi H, Turke AB, Coffee EM, Nishino M, Cogdill AP, et al. (2012) **EGFR-mediated re-activation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib.** *Cancer Discovery* **3**,227-235.
- 135) Cox AD, Der CJ (2010) **Ras history: The saga continues.** *Small GTPases.* **1**,2-27.

- 136) Ruzzo A, Graziano F, Canestrari E, Magnani M. (2010) **Molecular predictors of efficacy to anti-EGFR agents in colorectal cancer patients.** *Curr Cancer Drug Targets* **10**, 68-79.
- 137) Tentler JJ, Nallapareddy S, Tan AC, Spreafico A, Pitts TM, Morelli MP, et al (2010). **Identification of predictive markers of response to the MEK1/2 inhibitor selumetinib (AZD6244) in K-ras-mutated colorectal cancer.** *Mol Cancer Ther* **9**,3351-3362.
- 138) Malumbres M, Barbacid M. (2003). **"RAS oncogenes: the first 30 years".** *Nat. Rev Cancer* **3**, 459–65.
- 139) Makrodouli E, Oikonomou E, Koc M, Andera L, Sasazuki T, Shirasawa S, et al (2011) **BRAF and RAS oncogenes regulate Rho GTPase pathways to mediate migration and invasion properties in human colon cancer cells: a comparative study.** *Mol Cancer* **10**: 118 doi: 10.1186/1476-4598-10-118.
- 140) Jancik S, Drabek J, Radzioch D, Hajduch M. (2010) **Clinical relevance of KRAS in human cancers.** *J Biomed Biotechnol*; 2010: 150960 doi: 10.1155/2010/150960.
- 141) Neumann J, Zeindl-Eberhart E, Kirchner T, Jung A. (2009) **Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer.** *Pathol Res Pract* **205**, 858-862.
- 142) Health Quality Ontario (2010). **KRAS Testing for Anti-EGFR Therapy in Advanced Colorectal Cancer: An Evidence-Based and Economic Analysis.** *Ont Health Technol Assess Ser.* **10**:1-49.
- 143) Valtorta E, Misale S, Sartore-Bianchi A, Nagtegaal ID, Paraf F, Lauricella C (2013). **KRAS gene amplification in colorectal cancer and impact on response to EGFR-targeted therapy.** *Int J Cancer* Feb 12. doi: 10.1002/ijc.28106.
- 144) Vale CL, Tierney JF, Fisher D, Adams RA, Kaplan R, Maughan TS, Parmar MK, Meade AM (2012) **Does anti-EGFR therapy improve outcome in advanced colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis.** *Cancer Treat Rev* **38**,618-625.
- 145) Winder T, Mundlein A, Rhomberg S, Dirschmid K, Hartmann BL, Knauer M, et al (2009) **Different types of K-Ras mutations are conversely associated with overall survival in patients with colorectal cancer.** *Oncol Rep* **21** (5), 1283-1287.
- 146) Roa, I., Sánchez, T., Majlis, A., Schalper, K., (2013) **Mutación del gen KRAS en el cáncer de colon y recto.** *Chile Rev Med*, **141**, 1166-1172.

- 147) Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. (1996). **Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3.** *Circulation* **93**:1493-1495.
- 148) Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW (1991). **The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA.** *Mol. Endocrinol* **5**:1806-1814.
- 149) Ferrara N (1999) **Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor.** *J. Mol. Med.* **77**,527-543.
- 150) Chang WG, Andrejcsk JW, Kluger MS, Saltzman WM, Pober JS (2013) **Pericytes modulate endothelial sprouting.** *Cardiovasc Res* **100**,492-500.
- 151) Zdravkovic ND, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, Arsenijevic AN, Zdravkovic ND, Mitrovic SLj et al. (2014) **Potential dual immunomodulatory role of VEGF in ulcerative colitis and colorectal carcinoma.** *Int J Med Sci.* **11**,936-947.
- 152) Abajo A, Bitarte N, Zarate R, Boni V, Lopez I, Gonzalez-Huarriz M, et al (2012) **Identification of colorectal cancer metastasis markers by an angiogenesis-related cytokine-antibody array.** *World J Gastroenterol.* **18**,637-645.
- 153) Arvelo F, Cotte C (2009) **Hipoxia en la malignidad del cáncer.** *Invest Clin* **50**,529-546.
- 154) Choi KS, Bae MK, Jeong JW, Moon HE, Kim KW (2003) **Hypoxia-induced angiogenesis during carcinogenesis.** *J Biochem Mol Biol.* **36**,120-127.
- 155) Mihalache A, Rogoveanu I. (2014) **Angiogenesis factors involved in the pathogenesis of colorectal cancer.** *Curr Health Sci J.* **40**, 5-11.
- 156) Martin P, Noonan S, Mullen MP, Scaife C, Tosetto M, Nolan B, et al. (2014) **Predicting response to vascular endothelial growth factor inhibitor and chemotherapy in metastatic colorectal cancer.** *BMC Cancer.* **14**,887. doi: 10.1186/1471-2407-14-887.
- 157) García-Flórez LJ, Gómez-Álvarez G, Frunza AM, Barneo-Serra L, Martínez-Alonso C, Fresno-Forcelledo MF (2014) **Predictive markers of response to neoadjuvant therapy in rectal cancer.** *J Surg Res.* Oct 8. pii: S0022-4804(14)00909-3. doi: 10.1016/j.jss.2014.10.005.
- 158) Chibaudel B, Tournigand C, André T, de Gramont A (2012) **Therapeutic strategy in unresectable metastatic colorectal cancer.** *Ther Adv Med Oncol.* **4**,75-89.
- 159) Giuliani F, De Vita F, Colucci G, Pisconti S (2010) **Maintenance therapy in colon cancer.** *Cancer Treat Rev.* **36** Suppl 3, S42-45.

- 160) Munshi HG, Stack MS (2006) **Reciprocal interactions between adhesion receptor signaling and MMP regulation.** *Cancer Metastasis Rev.* **25**, 45-56.
- 161) Nagase H, Visse R, Murphy G (2006) Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* **69**,562-573.
- 162) Sampieri CL, León-Córdoba K, Remes-Troche JM (2013) **Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in gastric cancer as molecular markers.** *J Cancer Res Ther.* **9**,356-63.
- 163) Zucker S, Vacirca J (2004) **Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer.** *Cancer Metastasis Rev.* **23**(1-2), 101-117.
- 164) Surlin V, Ioana M, Pleșea IE (2011) **Genetic patterns of metalloproteinases and their tissular inhibitors-clinicopathologic and prognostic significance in colorectal cancer.** *Rom J Morphol Embryol.* **52**(1 Suppl), 231-236.
- 165) Hayashidani S, Tsutsui H, Ikeuchi M, Shiomi T, Matsusaka H, Kubota T, (2003) **Targeted deletion of MMP-2 attenuates early LV rupture and late remodeling after experimental myocardial infarction.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **285**, H1229-H1235.
- 166) Sunami E, Tsuno N, Osada T, Saito S, Kitayama J, Tomozawa S et al (2000) **MMP-1 is a prognostic marker for hematogenous metastasis of colorectal cancer.** *Oncologist.* **5**,108-114.
- 167) Leeman MF, McKay JA, Murray GI (2002). **Matrix metalloproteinase 13 activity is associated with poor prognosis in colorectal cancer.** *J Clin Pathol.* **55**,758-762.
- 168) Takahashi M, Tsunoda T, Seiki M, Nakamura Y, Furukawa Y (2002). **Identification of membrane-typematrix metalloproteinase-1 as a target of the beta-catenin/Tcf4 complex in human colorectal cancers.** *Oncogene.* **21**,5861-5867.
- 169) Wu B, Crampton SP, Hughes CC (2007) **Wnt signaling induces matrix metalloproteinase expression and regulates T cell transmigration.** *Immunity.* **26**,227-239.
- 170) Morán A, Iniesta P, de Juan C, González-Quevedo R, Sánchez-Pernaute A, Díaz-Rubio E et al (2002) **Stromelysin-1 promoter mutations impair gelatinase B activation in high microsatellite instability sporadic colorectal tumors.** *Cancer Res* **62**, 3855-3860.
- 171) Ougolkov AV, Yamashita K, Mai M, Minamoto T (2002) **Oncogenic beta-catenin and MMP-7 (matrilysin) cosegregate in late-stage clinical colon cancer.** *Gastroenterology* **122**, 60-71.

- 172) Brabletz T, Jung A, Dag S, Hlubek F, Kirchner T (1999) **beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer.** *Am J Pathol.* **155**,1033-1038.
- 173) Arvelo F, Cotte C, Sojo, F (2014). **Células Madres y Cáncer.** *Invest. Clin.* **55**, 371-397.
- 174) Arvelo F (2002) **Mitocondria y Apoptosis.** *Acta Cient Venez* **53**, 297-306.
- 175) Russell C, Langan JE, Mullinax MT, Raiji TU, Thomas S, Stojadinovi A and Itzhak AI (2013) **Colorectal Cancer Biomarkers and the Potential Role of Cancer Stem Cells.** *Journal of Cancer* **4**, 241-250.
- 176) Crews LA and Jamieson CH (2012) **Chronic myeloid leukemia stem cell biology.** *Curr Hematol Malig Rep* **7**,125-132.
- 177) Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Wang X, Cho, RW, et al. (2007) **Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells.** *Proc. Natl Acad Sci USA*, **104**,10158-10163.
- 178) Schneider, M., Huber, J., Hadaschik, B., Siegers, G.M., Fiebig, H.H., Schüler, J (2012) **Characterization of colon cancer cells: a functional approach characterizing CD133 as a potential stem cell marker.** *BMC Cancer.* **12**,1-11.
- 179) Ginestier, C., Dontu, G., Appelman, H., Fields, J.Z., Wicha, M.S., Boman, B.M (2009) **Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis.** *Cancer Res.* **69**,3382-3389.
- 180) Vermaulen, L., de Sousa, E.M., van der Heijden, M., Cameron, K., de Jong J.H., Borovski, T et al (2010) **Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment.** *Nat Cell Biol.* **12**,468-476.
- 181) Wang, Y., Krivtsov, A., Sinha, A., North, T.E., Goessling, W., Feng, Z., et al (2010) **The Wnt7 beta-catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML.** *Science.* **327**,1650-1653.
- 182) Tang, C., Ang, B.T., Pervaiz, S. (2007) **Cancer stem cell: target for anti-cancer therapy.** *FASEB J.*, **21**, 3777-3785.
- 183) Korkaya, H., Wicha, M. (2007) **Selective targeting of cancer stem cells: a new concept in cancer therapeutics.** *BioDrugs.* **21**, 299-310.
- 184) Saif, M., Chu, E. (2010) **Biology of colorectal cancer.** *Cancer J.* **16**, 196-201.

