Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Toxicología

Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTOR

Joseph Elmer HUAROC HUAROC

ASESORES

Oscar ACOSTA CONCHUCOS

Jose Luis BULEJE SONO

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Huaroc J. Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Joseph Elmer Huaroc Huaroc
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	76668010
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0003-1721-9025
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Oscar Acosta Conchucos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09456570
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-1912-0251
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Jose Luis Buleje Sono
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40192124
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-2834-8290
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Gabriela Norma Solano Canchanya
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41679636
Miembro del jurado 1	

Nombres y apellidos	Luz Kathia Hernández Calderón
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40543862
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Luis Alberto López Ávila
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10457184
Datos de investigación	
Línea de investigación	Tecnologías ómicas y bioinformáticas aplicadas en salud.
Grupo de investigación	Genética, Ómicas, Bioinformática y Desarrollo Computacional en Biomedicina, Farmacia, Toxicología y Alimentos - GENOBIDC
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Laboratorio de investigación GENOBIDC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Jr. Puno N°1002. Cercado de Lima, Lima. Coordenadas geográficas: Latitud: -12.0558004 Longitud: -77.0235465
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Febrero 2023 – Diciembre 2024
URL de disciplinas OCDE	Genética, Herencia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.07

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR

Que presenta el Bachiller en Toxicología:

JOSEPH ELMER HUAROC HUAROC

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

17 (DIECISIETE) APROBADO CON MENCIÓN HONROSA

de conformidad con el Art. 14.° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 04 de marzo de 2025.

Dra. Gabriela Norma Solano Canchaya
Presidente

Mg. Luz Kathia Hernández Calderón
Miembro

Mg. Luis Alberto López Ávila
Miembro

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE TOXICOLOGÍA

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **OSCAR ACOSTA CONCHUCOS**, identificado con DNI N° 09456570 en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 000427-2023-D-FFB/UNMSM de la Tesis, cuyo título es: **Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR,** presentado por el bachiller **JOSEPH ELMER HUAROC HUAROC,** para optar el título profesional de Toxicólogo (a).

CERTIFICO: que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 7 % de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado correspondiente.

Jardín Botánico, 19 de Febrero del 2025

……

Firma del Asesor

DNI: 09456570

Oscar Acosta Conchucos

Nombres y apellidos del Asesor:

El presente estudio está dedicado a mi familia, a mi asesor de tesis, a mi grupo de investigación, al laboratorio de análisis clínicos con cada uno de sus integrantes y a todos los docentes en general quienes me apoyaron y apoyan hasta el momento.

Agradezco al laboratorio GENOBIDC, responsable de esta investigación, a su coordinador Óscar Acosta y a mi coasesor José Luis Buleje; así como a cada uno de sus integrantes: Rodrigo Javier Gil Romero, Kris Cielo Córdova Villanueva, Patricia Lucia Qqueccaño Qqueccaño y Betsaida Liset Romero Mera.

ÍNDICE

RESÚMEN ix
ABSTRACT
I. INTRODUCCIÓN 1
I.1 Planteamiento del problema 1
I.2 Objetivos 3
I.3 Importancia y alcance 3
I.4 Limitaciones de la investigación 4
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA 5
II.1. Marco teórico 6
II.2. Antecedentes del estudio 6
II.3. Bases teóricas 9
II.4. Glosario de términos 20
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES 21
III.1. Hipótesis 21
III.2. Variables 21
III.3. Operacionalización de variables 22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS 23
IV.1. Área de estudio 23
IV.2. Diseño de investigación 23
IV.3. Población y muestra 23
IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información 23
IV.5. Análisis estadístico 25
V. RESULTADOS 26
V.1. Presentación y análisis de los resultados 26
VI. DISCUSIÓN 40
VII. CONCLUSIONES 50
VIII. RECOMENDACIONES 50
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 51
X. ANEXOS 65

INDICE DE TABLAS

- **Tabla 1:** Ubicación y funciones de los genes de reparación MMR 14
- **Tabla 2**: Principales características de la vía: Procesamiento y presentación antigénica (APM), HLA clases I y II 17
- **Tabla 3:** Variantes conocidas del GEN HLA-A 25
- **Tabla 4:** Variantes conocidas del GEN HLA-B 28
- **Tabla 5:** Variantes conocidas del GEN HLA-C 30
- **Tabla 6:** Variante conocida del GEN B2M 33
- **Tabla 7:** Número total de variantes conocidas por paciente 34
- **Tabla 8**: Número total de variantes por gen 35
- **Tabla 9**: Frecuencias en la predicción por cada gen 35

INDICE DE FIGURAS

- **Figura 1:** Pasos de la vía MMR eucariota 13
- **Figura 2:** Esquema de reparación MMR en células eucariotas 13
- **Figura 3:** Posicionamiento del HLA en el cromosoma 6 16
- **Figura 4:** Región codificante del HLA 18

ABREVIATURAS

- B2M: Beta2-microglobulina
- CRC: Cáncer colorrectal
- CCR MSI-H: Cáncer colorrectal asociado a la alta inestabilidad de microsatélites
- dMMR: Deficiencia de reparación de desajustes del ADN
- EOCRC: Inicio temprano de CRC
- EPCAM: Epithelial cell adhesion molecule
- FSP: Péptidos de cambio de marco de lectura
- SL: Síndrome de Lynch
- HLA: Antígeno leucocitario humano
- HNPCC: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer
- INDELS: Mutaciones tipo inserción/deleción
- MMR: Mismatch repair
- MSI: Inestabilidad de microsatélites
- MSI-H: Alta inestabilidad de microsatélites
- MSI-H/dMMR: Alta inestabilidad de microsatélites con deficiencia de reparación de desajustes del ADN
- MTS: Síndrome de Muir-Torre
- NGS: Next generation sequencing
- PD-1: Proteína de apoptosis 1
- PolyPhen-2: Polymorphism Phenotyping v2
- SIFT: Sorting Intolerant From Tolerant
- WES: Whole Exome Sequencing

RESUMEN

Introducción: El síndrome de Lynch (SL) es una condición hereditaria que incrementa significativamente el riesgo para desarrollar cáncer colorrectal (CCR), se debe a mutaciones en genes responsables de la reparación de errores de emparejamiento en el ADN (MMR); lo que conlleva a la inestabilidad de las repeticiones tipo microsatélites (MSI) y a un mayor riesgo de cáncer colorrectal, endometrio, ovario, tracto urinario y estómago. **Objetivo:** Se evaluó el impacto de las variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR. **Métodos**: Se extrajo el ADN genómico de 19 pacientes, y se realizó la secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES) mediante la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS). Las variantes genéticas HLA y B2M fueron detectadas a través de análisis bioinformático. **Resultado:** Se encontraron variantes conocidas tipo SNP, siendo relevantes rs9260156 y rs1059537 en el gen HLA-A, que provocan ganancia de codón de término. **Conclusión:** Los pacientes peruanos diagnosticados con cáncer colorrectal y con mutaciones en los genes MMR presentan variantes en la línea germinal, principalmente en los inmunogenes HLA-A, HLA-B y HLA-C, contribuyendo al conocimiento de esta enfermedad en el país.

Palabras clave: Cáncer colorrectal, Síndrome de Lynch, inmunogenes, análisis bioinformático, pacientes peruanos, variantes genéticas.

ABSTRACT

Introduction: Lynch syndrome (LS) is an inherited condition that significantly increases the risk of developing colorectal cancer (CRC), is caused by mutations in genes responsible for DNA mismatch repair (MMR), leading to microsatellite instability (MSI) and an increased risk of colorectal, endometrial, ovarian, urinary tract, and stomach cancers. **Objective**: The

impact of germline variants in the immune genes B2M and HLA was evaluated in Peruvian patients with colorectal cancer and mutations in the MMR genes. **Methods**: Genomic DNA was extracted from 19 patients, and whole exome sequencing (WES) was performed using next-generation sequencing (NGS) technology. HLA and B2M genetic variants were detected through bioinformatic analysis. **Result**: Known SNP variants were found, with rs9260156 and rs1059537 in the HLA-A gene being relevant, which cause a gain of stop codon. **Conclusion**: Peruvian patients diagnosed with colorectal cancer and with mutations in the MMR genes present germline variants, mainly in the immune genes HLA-A, HLA-B, and HLA-C, contributing to the understanding of this disease in the country.

Key words: Colorectal cancer, Lynch syndrome, immune genes, bioinformatic analysis, Peruvian patients, genetic variants.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Planteamiento del problema:

El cáncer colorrectal (CRC) es el tercer tipo de cáncer más común en todo el mundo con 91 000 muertes en el año 2020 y en promedio 1.87 millones de casos nuevos;[1] asimismo, el síndrome de Lynch (SL) es la causa más común de cáncer de colon hereditario, con una prevalencia de 1 en 279 individuos en la población general y una incidencia de 1 en cada 35 pacientes con cáncer de colon;[2,3] además, el SL es el síndrome de cáncer hereditario más común[4], se cree que aproximadamente del 3% al 5% de todos los casos de CRC se deben al SL; en tanto, los pacientes diagnosticados con SL, tienen el riesgo de desarrollar del 70 al 80% cáncer colorrectal[5], del 15 al 60% cáncer de endometrio, del 1 al 38% cáncer de ovario, del 1 al 18% cáncer del tracto urinario, del 1 al 13% cáncer de estómago, entre otros cánceres.[6,7]

Los mecanismos que subyacen a los cánceres relacionados con el SL están impulsados por la inactivación del sistema de errores de emparejamiento del ADN (MMR), dando como resultado la acumulación de microsatélites, fenotipo denominado MSI-H de alto nivel;[8] así, la ausencia de expresión en alguno de los 4 genes MMR y la presencia de inestabilidad de microsatélites (MSI) definida por cambios en al menos 2 de 5 loci microsatélite proporciona confirmación molecular para un diagnóstico de SL;[9] donde la frecuencia de mutación era de 100 a 1000 veces mayor en los tumores inestables de microsatélites que las células competentes en la reparación;[10] por lo cual, las mutaciones en las moléculas de superficie del tumor podrían desencadenar respuestas inmunitarias específicas.[11]

La MSI es generada por la ausencia de expresión de las proteínas del sistema MMR (mutaciones en MLH1, MSH2, PMSL1, PMSL2 y MSH6); lo que induce el surgimiento del cáncer de colon hereditario sin poliposis (HNPCC), mediante un mecanismo que provoca inestabilidad genética

afectando genes esenciales para la regulación del crecimiento y proliferación celular asociada con la MSI, vista también en el 15% de los tumores esporádicos;[12] esta inestabilidad asociada con MMR se dirige a repeticiones de microsatélites, resultando en una acumulación de variantes de cambio de marco y de inserción/deleción (indels)[9]; sin embargo, algunos autores mencionan que la MSI está asociada con una mejor supervivencia en pacientes jóvenes con cáncer colorrectal, en todas las etapas; razón por la cual, podría considerarse potencialmente en un posible tratamiento,[13] ya que la inmunogenicidad de los cánceres de deficiencia de MMR no solo se debe a la gran cantidad de mutaciones somáticas, sino también a la cantidad de epítopos potenciales en las respuestas inmunitarias de células T específicas a los péptidos de cambio de marco (FSP) que se da por mutaciones de inserción/deleción (indels).[14]

La población peruana se caracteriza por una alta proporción amerindia, lo cual puede ser un factor genético para considerarlo en los estudios de enfermedades en general, y en particular el cáncer colorrectal, el cual tiene una alta prevalencia en nuestro país, ocupando en 2020 el cuarto tipo de cáncer más frecuente del total de casos nuevos;[15] estudiar el impacto de dicho cáncer en poblaciones amplias, proporcionaría información crucial que puede guiar la implementación de prácticas médicas, reforzamiento de políticas de salud pública y diseño de programas de prevención;[16] por tanto, es necesario evaluar la influencia de las variantes de los genes B2M y HLA de línea germinal en pacientes peruanos, observando su prevalencia y particularidad con la finalidad de comprender su rol protagónico, que juntamente con las variantes del gen MMR, predisponen al desarrollo del cáncer colorrectal.

I.2. Objetivos

I.2.1. Objetivo general

- Evaluar el impacto de las variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal de pacientes peruanos con cáncer colorrectal y mutaciones en los genes MMR.

I.2.2. Objetivos específicos

- Identificar las variantes en el gen B2M en línea germinal mediante análisis bioinformático.
- Identificar las variantes en el gen HLA en línea germinal mediante análisis bioinformático.
- Inferir el impacto en función de los inmunogenes B2M y HLA según el tipo de mutación.

I.3. Importancia y alcance de la investigación

El CRC constituye el tercer tipo más prevalente de cáncer a nivel global y la cuarta en el Perú, además de la segunda causa de muerte relacionada con el cáncer en el mundo y la cuarta en el Perú;[17,18] en tanto, el síndrome de Lynch (SL), constituye la forma hereditaria más común asociada con el cáncer colorrectal,[19] el mismo que se desarrolla a través de una serie de etapas que comienzan con lesiones en las criptas del colon y avanzan a través de adenomas hasta convertirse en cáncer, este proceso de evolución de adenoma a carcinoma se caracteriza por la acumulación de múltiples alteraciones genéticas en genes que funcionan como supresores de tumores y oncogenes, lo que interfiere en el equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis. En el CCR asociado al SL, se desarrollan alteraciones que afectan dos clases de genes diferentes: los protooncogenes (MMR y HLA) y los genes supresores de tumor;[20] por tanto, es importante diagnosticar el síndrome de Lynch para la identificación

de mutaciones en genes MMR (MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2) que predisponen al desarrollo del cáncer colorrectal. Además de esto, es necesario evaluar los genes de inmunidad (HLA) de mutaciones de líneas germinales, ver sus posibles efectos y su participación conjunta con las mutaciones tipo MMR, que podrían influir en el desarrollo de cáncer colorrectal en población peruana, pues los pacientes con SL muestran un aumento notable de células T en la mucosa, incluso cuando no hay evidencia de cáncer. Además, el estado inmunológico habitual de la mucosa colorrectal podría influir de manera temporal o permanente en el riesgo de desarrollar tumores en los pacientes con SL.[21]

De esta manera, se pretende evaluar la variabilidad de inmunogenes en pacientes con cáncer colorrectal con mutaciones en genes tipo MMR, mediante la tecnología de alto rendimiento y próxima generación (NGS), que a través de WES, y mediante el análisis bioinformático, permiten detectar asociaciones entre una determinada enfermedad genética y sus variantes génicas (mutaciones); además, evaluar la variabilidad de un individuo en particular en respuesta al diagnóstico, tratamiento y estrategias de prevención.[22] De esta manera, el estudio del exoma humano permite aportar en la identificación de variantes en genes de inmunidad, el descubrimiento de genes asociados en pacientes con cáncer colorrectal con mutaciones en genes tipo MMR, teniendo impacto en la prevención, farmacogenómica y toxicogenómica.

I.4. Limitaciones de la investigación

La disponibilidad de pacientes con SL y CCR con mutaciones específicas es un factor limitante que pudo afectar la representatividad de los resultados, además de la disponibilidad de información clínica específica; no obstante, este desafío se ha mitigado gracias al gran número de variantes identificadas y al exhaustivo tamizaje de la información clínica; además, se realizaron análisis adicionales para garantizar la precisión de los resultados obtenidos, lo que refuerza la validez de los hallazgos; por otro

lado, el uso de tecnologías avanzadas en la secuenciación del ADN ha permitido identificar mutaciones con mayor precisión, lo que proporciona una comprensión más profunda de las variantes genéticas y su impacto en el desarrollo del CCR.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

II.1. Marco teórico

2.1.1 Cáncer

El cáncer es una enfermedad de proliferación descontrolada de células transformadas sujetas a evolución por selección natural,[23] algunos cánceres pueden eventualmente propagarse a otros tejidos;[24] en este proceso, las células afectadas adquieren características que les permiten evadir los mecanismos normales de regulación y control del crecimiento celular; esta desregulación puede ser causada por diversos factores, entre ellos, mutaciones genéticas que alteran el ADN y promueven el desarrollo de masas tumorales; dentro de la complejidad genética asociada al cáncer, algunas mutaciones no solo afectan las células somáticas, sino que también pueden comprometer la línea germinal, que da lugar a los gametos y tiene la capacidad de transmitir material genético a la siguiente generación, en contraste, las células somáticas constituyen la mayoría de las células del cuerpo y no participan en la reproducción; además, las mutaciones somáticas se desarrollan como resultado de factores externos, como la exposición a radiación, productos químicos o errores espontáneos durante la división celular, acumulándose a lo largo de la vida del paciente, en consecuencia, los pacientes del presente estudio presentan mutaciones en los genes MMR desde el nacimiento, que están presentes en todas las células del cuerpo, incluidas las células reproductivas (óvulos o espermatozoides).

Algunos autores mencionan que del 5 al 10 % de todos los cánceres tienen mutaciones de la línea germinal y son atribuibles a un síndrome hereditario que incrementa la susceptibilidad genética al cáncer,[25] la presencia de estas mutaciones hereditarias aumenta significativamente el riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer en individuos portadores; esta conexión entre la genética y el cáncer proporciona una comprensión más profunda de los factores de riesgo y abre nuevas posibilidades en la identificación temprana, prevención y tratamiento de la predisposición hereditaria al cáncer.[26]

2.1.2 Genética del cáncer

Se ha evidenciado que los polimorfismos genéticos están involucrados en la activación de varios procesos biológicos como la apoptosis, la síntesis y metilación del material genético, la transcripción y la regulación del ciclo celular;[27] no obstante, estos reciben cierta influencia de factores medioambientales, socioeconómicos y demográficos para la aparición o no de ciertas enfermedades;[28] los genes supresores de tumores actúan dentro del genoma para regular varias funciones celulares, sin estos, existe un alto riesgo de crecimiento celular desregulado, que es un mecanismo bien conocido para el desarrollo de cánceres;[29] se han identificado mutaciones de pérdida de la capacidad funcional en genes supresores de tumores en muchos tipos de cánceres, incluidos los de pulmón, ovario, páncreas, colorrectal, cabeza/cuello, mama, útero, y vejiga.[30,31]

II.2. Antecedentes del estudio

En una investigación realizada por Helderman, et al. (2021)[6] describieron al Síndrome de Lynch como variantes patogénicas de línea germinal en uno de los genes MMR que codifican proteínas involucradas en un mecanismo de revisión y edición posterior a la replicación; los pacientes con este

síndrome tienen un mayor riesgo de desarrollar cánceres colorrectales principalmente y cánceres extracolónicos, incluidos los cánceres de endometrio, gástrico, de ovario, de páncreas, de uréter y de pelvis renal, del tracto biliar, de cerebro, de intestino delgado y adenomas de las glándulas sebáceas. y queratoacantoma.[32] De manera análoga; Moller, et al. (2018)[33] informaron un estudio prospectivo realizado a 3119 pacientes, donde mencionan que el riesgo acumulativo de padecer cáncer colorrectal a los 70 años es del 46% para los portadores de MLH1, en comparación con solo el 43% para los portadores de MSH2 y el 15% para los portadores de MSH6.

En Latinoamérica[34] se realizó una caracterización reciente del perfil genético asociado al SL, la cual reveló que las variantes del gen MLH1 son las más prevalentes, encontrándose en un 82% de los casos en Perú, 80% en México y 60% en Chile; por otro lado, las variantes de los genes MSH2 y EPCAM son más comunes en Colombia (80%) y Argentina (47%); en contraste, las variantes MSH6 y PMS2 presentan una menor frecuencia, con un 15% en Brasil y un 10% en Chile; en el caso particular del Perú se reportaron 15 variantes en MLH1 y una variante en MSH2. Por otra parte, Montenegro PC, et al.[35] comunicaron que el cáncer colorrectal constituye la quinta causa de defunción más común entre hombres y cuarta en mujeres peruanas, producto de las mutaciones en los genes MMR en casos que van del 8 al 18% de incidencia; el mismo estudio examinó 90 pacientes con cáncer colorrectal, observando 35 casos con pérdida de expresión de la proteína MMR y/o MSI. Además, Ñique C, et al.[36] estudiaron cinco familias con sospechas del SL mediante la evaluación de inmunohistoquímica y MSI, encontrándose la subexpresión de MLH1/PMS2 y una sobreexpresión de MSI (MSI-H) en un paciente masculino de 60 años.

Oscan M, et al. (2018)[37] estudiaron las distintas variantes en genes implicados en vías de evasión inmunitaria en el CRC-MSI relacionados con HLA clase I (B2M, HLA-A, HLA-B, HLA-C, TAP1, TAP2 y NLRC5) en 91

muestras de adenocarcinoma colorrectal MSI, el 72% de las muestras de CRC MSI presentaron mutaciones en al menos uno de los componentes descritos; con predominio en B2M (31%), NLRC5 (26%), HLA-B (20,9%), TAP1 (12%) y TAP 2 (5%). De manera similar, Kloor M, et al. (2007)[38] realizaron un análisis sobre la frecuencia de las mutaciones en el gen B2M en cáncer colorrectal asociado a inestabilidad de microsatélites (CCR MSI-H) en diferentes estadíos, observándose mutaciones en el 27,9%; registrando así, una mayor incidencia de mutaciones germinales en los genes de reparación (MMR), específicamente MLH1 y MSH2, con un 36.4% en comparación con un 15.4% en aquellos pacientes que no presentan tales mutaciones. La mayoría de las mutaciones observadas fueron mutaciones de cambio de marco (93,6%) que afectaron al microsatélite codificador (CT)4 en el exón 1 (51,1%) o A5 (17%), C5 (8,5%) y A5 (17%) en el exón 2. Además, otras mutaciones que no afectan al microsatélite codificador (4,25% tipo intercambios de nucleótidos y 2,1% tipo deleción).

En tanto Lui F, et al (2023)[39] investigaron el perfil mutacional de B2M en 40 pacientes con CRC en China, identificando sitios de microsatélites exónicos en B2M que permitieron la inactivación de B2M en tumores MSI-H/dMMR; se evidenció el 58% de mutaciones de este gen en pacientes con CRC en todos los estadíos y la alteración del marco de lectura como el tipo de mutación más frecuente; además, con la finalidad de probar que el SL hace que B2M sea susceptible de mutar, investigaron dicha asociación, concluyendo que las alteraciones en B2M se asociaron significativamente con la mutación somática MSH6; pero no con las mutaciones de la línea germinal MSH2 , MSH6 o MLH1.

A su vez, Zhang C, et al. (2022)[40] estudiaron una posible terapia dirigida contra la proteína PD-1 en 35 pacientes chinos diagnosticados con CRC MSI-H/dMMR y mutaciones en los genes B2M, de los cuales el 28,6% resultaron ser mutantes B2M; donde el efecto a la terapia anti-PD-1 no tuvo una diferencia significativa entre los tipos salvaje y mutacional. De esta manera, demostraron que los pacientes diagnosticados con CRC que

presentan deficiencia en la reparación de errores de apareamiento (dMMR) y alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H), junto con mutaciones en los genes B2M y JAK1/2, responden positivamente a los inhibidores de PD-1.

Por su parte, Clendenning M, et al. (2018)[41] realizaron un estudio de cohorte a 144 pacientes australianos con CRC/dMMR en todos los estadíos, obteniendo mutaciones de cambio de marco B2M en el 20.8%. Así, se identificaron un total de cinco microsatélites codificantes en el gen B2M, específicamente en las posiciones c.37–44, c.188–195, c.200–204, c.272–276 y c.281–285. Entre estos, se detectó al menos una mutación somática en 30 de un total de 144 casos de cáncer colorrectal (CRC), lo que representa un 20.8% de los pacientes analizados.

II.3. Bases teóricas

II.3.1 Cáncer colorrectal

Es un tipo de cáncer que impacta el tracto gastrointestinal, específicamente el colon y el recto[42], la mayoría de los cánceres colorrectales evolucionan de forma sistemática, iniciando con alteraciones en la mucosa normal y progresando hacia adenomas, cáncer y metástasis; esto se conoce como secuencia adenoma-carcinoma[43], donde más del 95% de los CCR son carcinomas y aproximadamente el 95% de ellos son adenocarcinomas[44]; este proceso de evolución se caracteriza por la acumulación de múltiples alteraciones genéticas, lo que lleva a la desregulación del crecimiento celular y a la pérdida de control sobre la apoptosis; comprender este mecanismo es fundamental para el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento del cáncer colorrectal.

II.3.2 Vías moleculares del cáncer colorrectal

Se agrupa principalmente en tres vías moleculares[45]:

II.3.2.1 Inestabilidad cromosómica (INC)

Se refiere a la tendencia aumentada de las células a adquirir anomalías cromosómicas tanto estructurales como numéricas durante la división celular, se manifiesta a través de la aneuploidía, que es un estado de desequilibrio del cariotipo, y puede desencadenar estrés en la replicación del ADN, lo que perpetúa un estado continuo de inestabilidad cromosómica; este fenómeno es un rasgo distintivo del cáncer y contribuye a la heterogeneidad genética de los tumores; corresponde del 80-90% del cáncer colorrectal esporádico y se debe a la desactivación gradual de los genes que suprimen tumores.

II.3.2.2 Inestabilidad de microsatélites (MSI)

Es un fenómeno genético caracterizado por mutaciones en secuencias repetitivas simples, conocidas como microsatélites, que se encuentran en el ADN tumoral; corresponde del 10 al 15% del CCR y se produce por alteraciones en los genes MMR. Cuando el sistema MMR pierde su función, se produce una acumulación de errores en el ADN, resultando en un aumento significativo de mutaciones INDELS, lo que conlleva a una rápida progresión del CCR.

II.3.2.3 Fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP)

Es un fenómeno epigenético caracterizado por la hipermetilación concordante y extensa de Múltiples islas CpG en el ADN, lo que lleva al silenciamiento transcripcional de genes supresores de tumores; corresponde del 20 al 40% de los casos de CCR y se debe a modificaciones epigenéticos del ADN, que resultan en la inactivación de la expresión de

los genes MMR mediante la metilación de sus áreas promotoras.

II.3.3 Síndrome de Lynch (SL)

Es una condición genética autosómica dominante heterocigótica y hereditaria, que predispone a los pacientes afectados al riesgo de desarrollar CCR, así como carcinomas endometriales, tumores de estómago, intestino delgado, cerebro, uréter, pelvis y próstata, entre otros[46]. El SL es causado por variantes patogénicas de la línea germinal en los genes MMR del ADN (MLH1 , MSH2 , MSH6 y PMS2) y EPCAM (la supresión de secuencias en el codón terminal 3' del gen EPCAM pueden provocar SL a través del silenciamiento epigenético del gen MSH2 en tejidos que expresan EPCAM); las alteraciones genéticas en MLH1/MSH2 representan hasta el 90% del total de casos, en MSH6 aproximadamente el 10% y en PMS2 el 6% de todos los casos de SL.[47]

Otros síndromes relacionados al CCR y sus genes asociados incluyen oligopoliposis (POLE, POLD1), síndrome de poliposis juvenil (BMPR1A, SMAD4), NTHL1, síndrome de Peutz-Jeghers (STK11) y síndrome de Cowden (PTEN). Una gran cantidad de estos síndromes también se relacionan con cánceres que no son del colon y presentan otras manifestaciones clínicas;[48] entre las enfermedades genéticas más reconocidas asociadas al cáncer colorrectal hereditario se encuentran el SL y la poliposis adenomatosa familiar; sin embargo, algunos otros trastornos genéticos confieren un mayor riesgo de CCR, como el síndrome de Li-Fraumeni (gen TP53), la poliposis asociada a MUTYH (gen MUTYH), el síndrome de Peutz Jeghers (gen STK11), el síndrome de Cowden (gen PTEN), y síndrome de poliposis juvenil (genes BMPR1A y SMAD4).[49]

II.3.4 Síndrome de Muir-Torre

Es una forma fenotípica autosómica dominante del SL, las características distintivas del Síndrome de Muir-Torre (MTS) son las neoplasias sebáceas de la piel y las neoplasias malignas viscerales, siendo el carcinoma de colon el más común;[50] más recientemente se han descrito algunos casos autosómicos recesivos de síndrome de Muir-Torre que no presentan MSI y se deben a defectos en el gen de reparación por escisión de bases, denominado MYH; se estima que estos casos representan aproximadamente el 35% de los casos del síndrome de Muir-Torre, y han sido clasificados como MTS II; los criterios diagnósticos del MTS son al menos una neoplasia cutánea con diferenciación sebácea, al menos una neoplasia maligna visceral y una mutación germinal de los genes MMR.[51]

II.3.5 Mecanismo de reparación MMR en mamíferos

Este tipo de reparación de desajustes comprende reconocimiento, eliminación y resíntesis; los cuáles permanecen en todas las especies y filos con semejantes diferencias; en el reconocimiento, los desajustes base base son distinguidos por uno de los dos homólogos de MutS: MutSα (heterodímero de MSH2/MSH6 que se une principalmente a indeles de hasta 3 nucleótidos) o MutSβ (heterodímero de MSH2/MSH3 que se une a indeles grandes de hasta 13 nucleótidos de tamaño). La deficiencia de MutSβ provoca un fenotipo mutador menos pronunciado en comparación con la deficiencia de MutSα, lo que indica que las inserciones y deleciones grandes ocurren con menor frecuencia o pueden ser reparadas a través de múltiples vías o mecanismos.[52] En el proceso de eliminación o escisión, la llegada de MutLα (un heterodímero compuesto por MLH1 y PMS2) da lugar a la formación de un complejo tetramérico. Los pasos que continúan no se comprenden por completo

y aún no figura en la literatura, por lo que solo se describe de manera general.(52)

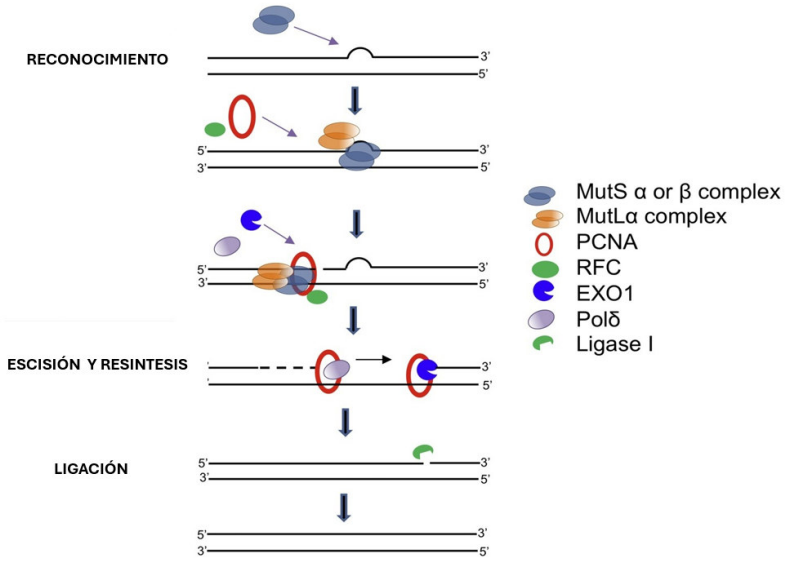

Figura 1: Pasos de la vía MMR eucariota, adaptado de Liu D, et al(52)

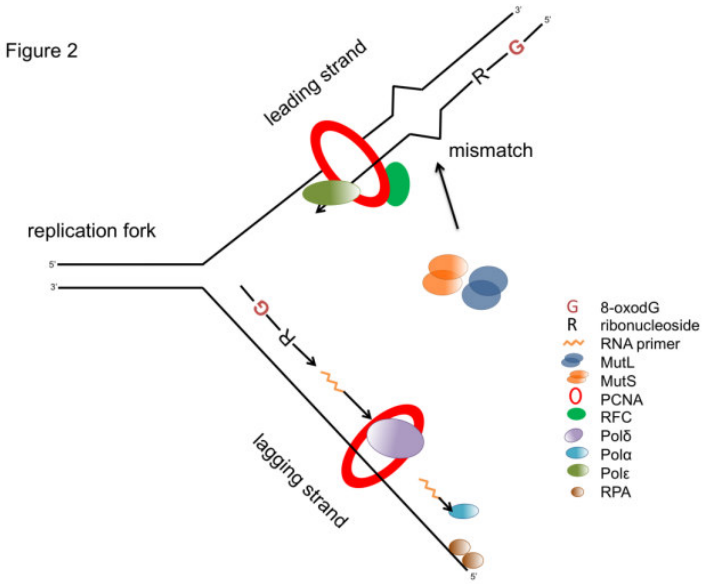

Figura 2: Esquema de reparación MMR en células eucariotas, adaptado de Liu D, et al (52)

II.3.6 Genes de reparación del ADN

Los genes involucrados en la reparación de tipo MMR pertenecen a un sistema que actúa sobre los errores formados en el ADN, evitando

mutaciones permanentes tras la división celular, siendo necesario en la interrupción del ciclo celular y/o muerte celular programada como respuesta a cierto tipo de errores; elimina células dañadas, previene la mutagénesis a corto plazo y la tumorigénesis a largo plazo, por lo que su inactivación se asocia con cánceres esporádicos y hereditarios.[53]

Tabla 1: Ubicación y funciones de los genes de reparación MMR

	FUNCIONES GENERALES[54]
MLH1 (3p22.2)	Esta proteína actúa como ATPasa y facilita la unión del complejo MSH2-MSH6, generando así tres complejos funcionales (MutLα, MutLβ y MutLγ). La pérdida de MLH1 se asocia con un metabolismo mitocondrial desregulado, lo que se traduce en una disminución de la tasa de consumo basal de oxígeno y en una reducción de la capacidad respiratoria adicional.[55]
MSH2 (2p21-p16)	Proteína esencial para la reparación de cualquier tipo de mutación en el ADN nuclear, esta proteína forma heterodímeros funcionales junto con MSH3 y MSH6, los cuales se acoplan a las mutaciones en el ADN para comenzar el proceso de reparación.[54]
MSH6 (2p16.3)	MutSα (MSH2/MSH6) constituye aproximadamente el 90% del nivel celular de MSH2 y juega un papel esencial en la detección de sustituciones de bases en el ADN y pequeños desajustes de uno a dos nucleótidos; MSH6 y el complejo MutSα pueden identificar desajustes dentro del dúplex de ADN, este complejo funciona como un interruptor molecular bidireccional,

	intercambiando ADP y ATP a medida que se reconocen y disocian los desajustes en el ADN.[54]
(PMS2 (7p22.1)	MutLα (MLH1/PMS2) es la proteína encargada de guiar los eventos que ocurren después del reconocimiento de desajustes por MutS, estos eventos incluyen la discriminación entre cadenas, la escisión y la resíntesis del ADN; además, desempeña un papel significativo en la reparación mediante recombinación homóloga.[54]

Fuente: Elaboración propia

II.3.7 Genes de inmunidad

incluyen aquellos que codifican para receptores de reconocimiento de patrones (PRR), como los receptores tipo Toll (TLR) y los receptores tipo NOD (NLR), que detectan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP); además, los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) son esenciales para la presentación de antígenos y la activación de células T, lo que es crucial para la inmunidad. El MHC-I está compuesto por una cadena alfa codificada por HLA altamente polimórfica que se une al péptido y una proteína Beta-2-microglobulina (B2M) que actúa como andamio estabilizador.[56]

II.3.8 Variantes en los inmunogenes B2M y HLA

II.3.8.1 Inmunogenes B2M

El gen de la B2M se encuentra en el cromosoma 15, en la región 15q21.1.[57]; participa en la estabilidad y expresión de las moléculas MHC clase I en la superficie celular (ya que la proteína B2M es una parte integral de las moléculas del MHC

clase I), pero no participa directamente en la presentación de antígenos. Se han identificado mutaciones B2M en un número considerable de pacientes con cáncer, razón por la cual las alteraciones en este gen pueden reducir la eficacia de las inmunoterapias basadas en células T al dificultar la presentación del antígeno tumoral mediada por el MHC-I y así evitar el reconocimiento de las células T;[58] este gen se expresa de manera ubicua en casi todas las células nucleadas, incluidas las del sistema inmune; la B2M de membrana en células no tumorales realiza múltiples funciones inmunes principalmente a través del MHC de clase I, mientras que la B2M sérica es un biomarcador en algunas patologías como: lesiones renales, amiloidosis, infecciones, enfermedades relacionadas con el envejecimiento y trastornos linfoproliferativos.[52]

II.3.8.2 Inmunogenes HLA

Desempeñan un papel crucial en la inmunidad al mediar la presentación de péptidos a las células T, lo que es fundamental para el reconocimiento de patógenos; la variabilidad estructural y funcional de los HLA es esencial para una respuesta inmune competente, ya que permite la presentación de un amplio espectro de péptidos, tanto propios como extraños, a las células T; esta diversidad es el resultado de la presión selectiva ejercida por los patógenos a lo largo de la evolución, favoreciendo un sistema HLA. Estos genes, están codificados en un segmento de aproximadamente 3500 kb, significa que ocupan una región de aproximadamente 3.5 millones de pares de bases en el cromosoma 6, en la región 6p21.3.

Se clasifican de la siguiente manera:[59]

- HLA Clásicos (Clase Ia): HLA-A/B/C, son componentes esenciales del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en humanos e intervienen en la presentación de antígenos a las células T (CD8+); su alto polimorfismo permite una amplia diversidad en la presentación de péptidos, lo que es crucial para la capacidad del sistema inmunológico de reconocer una variedad de patógenos y células anormales.
- HLA No clásicas (Clase Ib): Incluyen HLA-E, HLA-F, HLA-G y HLA-H, y desempeñan un papel en la presentación de antígenos a las células NK; además, se caracterizan por un polimorfismo limitado y están involucradas en funciones inmunorreguladoras, desempeñan un papel crucial en la modulación de las respuestas inmunes actuando a menudo para promover la tolerancia y prevenir la activación inmune excesiva.
- HLA Clase II: Incluyen HLA-DQ , HLA-DR, HLA-DM y HLA-DP, y son responsables de presentar antígenos a las células T CD4+, el cual es crucial para la activación de las células T CD4+, que a su vez orquestan varios aspectos de la respuesta inmune adaptativa, incluida la activación de las células B y la producción de anticuerpos.

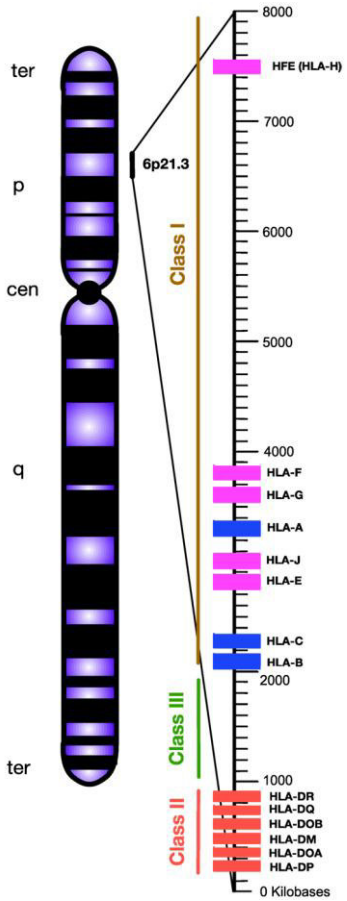

Figura 3: Posicionamiento del HLA en el cromosoma 6.[59]

Los HLA clásicos tipo I (HLA-A,B,C) codifican para moléculas que se presentarán en la superficie de todas las células con núcleo; de este modo, cada una de estas células tiene la capacidad de expresar varios cientos de miles de copias de hasta seis moléculas diferentes de HLA-I clásicas, y cada una de estas moléculas alberga un único péptido; por tanto, cada individuo dependiendo de la combinación heredada, puede presentar un inmunopeptidoma único, para así responder de manera diferente a enfermedades infecciosas, afecciones inflamatorias, enfermedades autoinmunes y neoplasias malignas.[60]

Los HLA de clase II incluyen HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRA, HLA-DRB1, entre otros, y participan en la presentación de antígenos a las células T CD4+. Los péptidos derivados de antígenos son producidos a partir

de enzimas lisosomales y se estabilizan mediante la proteína HLA-DM. Además, la transactivación de estos antígenos es regulada positivamente por el complejo de transactivador del CIITA.[61]

Tabla 2: Principales características de la vía: Procesamiento y presentación antigénica (APM), HLA clases I y II.

Pasos del APM	APM de clase I del HLA	APM de clase II de HLA
Presentación de antígenos	HLA-A, -B, -C	HLA-DR, -DQ, DP
Estabilización y carga	Tapasina	HLA-DM
Generación de péptidos	Subunidades del proteasoma	Enzimas lisosomales
Transactivación	No	Sí, CIITA
Montaje y estabilización	$\beta 2_{-}$ m	Cadena invariante
Compartimento de carga de péptidos	ES	MCII
Presentación a	Células T $CD8^{+}$	Células T $CD4^{+}$
Regulación por citocinas	Interferón gamma	Interferón gamma

Fuente: Adaptado de Seliger B, et al[61].

Los HLA son muy polimórficos en toda la población humana, tienen dos principales funciones: primero, distinguir células propias y extrañas; segundo, es responsable de la presentación de antígenos celulares exógenos (comúnmente se presentan de clase II) y endógenos (surgen durante la evolución del cáncer, generalmente se presentan de clase I) y, por tanto, de producir respuestas inmunitarias específicas de antígenos.[4]

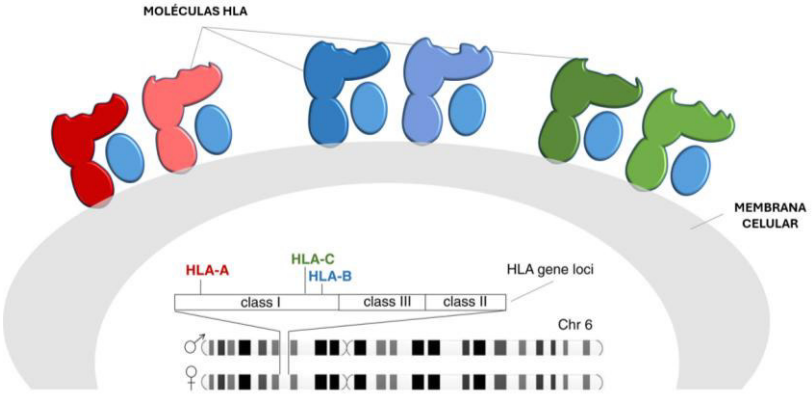

Figura 4: Región codificante HLA, adaptado de Ahadova A, et al.[4]

En la figura 4 se muestra una representación esquemática de las moléculas HLA en la membrana celular y su relación con los loci de genes HLA en el cromosoma 6, en la parte superior de la imagen, se observan varias moléculas HLA de diferentes colores (rojo, azul, verde) ancladas en la membrana celular, etiquetadas como "Moléculas HLA" y "Membrana Celular"; en el caso de los pacientes con CCR y SL a menudo pierden expresión del antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I;[62] esta pérdida es un mecanismo adoptado por los tumores para escapar de la vigilancia inmune a fin de evitar el reconocimiento y posterior destrucción de las células tumorales.[62]

II.3.9 Tecnologías de secuenciación y análisis bioinformático

- Diseño in silico de paneles de genes:
  Se refiere al uso de herramientas informáticas y técnicas de bioinformática para la planificación y desarrollo de paneles de genes específicos que son analizados mediante tecnologías de secuenciación; este diseño implica la selección y configuración de genes relevantes que se desea investigar, optimizando la eficiencia y precisión del análisis genético.
- Pipelines bioinformáticos
  Son flujos de trabajo automatizados que integran múltiples herramientas y algoritmos de análisis de datos genómicos, diseñados

para procesar y analizar grandes volúmenes de datos de secuenciación de manera eficiente y reproducible; pueden incluir etapas como la preprocesamiento de datos, alineación de secuencias, identificación de variantes, anotación de genes y análisis funcional.

- Análisis de variantes genéticas: ANNOVAR, Variant Effect Predictor (VEP), SnpEff

  Consiste en el proceso de identificar y caracterizar las variantes en el ADN que pueden estar asociadas con enfermedades o características específicas. ANNOVAR es una herramienta que permite la anotación funcional de variantes genómicas, proporcionando información sobre los efectos potenciales de las variantes en genes y regiones reguladoras. VEP, desarrollado por Ensembl, predice las consecuencias funcionales de las variantes, ayudando a los investigadores a comprender cómo estas pueden afectar la función de los genes. SnpEff es otra herramienta que anota y predice el impacto de las variantes genéticas, permitiendo a los científicos evaluar cómo estas alteraciones pueden influir en la biología del organismo. En conjunto, estas herramientas facilitan la interpretación de los datos genómicos y mejoran nuestra comprensión de las variantes genéticas y sus implicaciones en la salud y enfermedad.

II.4. Glosario de términos

- Células Treg: Son células T CD4+ que expresan FoxP3 y mantienen la homeostasis inmunitaria. Suprimen la actividad inmunitaria mediante citocinas, modulación de CPA y supresión de cel. T efectoras[63].
- Deficiencia del sistema de reparación del ADN (dMMR): Se caracteriza por inestabilidad en los microsatélites y una reducción en la expresión de las proteínas encargadas de la reparación[64].
- Inestabilidad de microsatélites: Es un fenómeno genético que se manifiesta a través de mutaciones en secuencias repetitivas simples,

conocidas como microsatélites, presentes en el ADN tumoral pero ausentes en el ADN del tejido normal adyacente.[65].

- Secuenciación del exoma completo (WES): Es una técnica de secuenciación de ADN que se centra en las regiones codificantes del genoma humano. Es una herramienta valiosa tanto para la investigación como para aplicaciones de medicina de precisión, ya que permite identificar variantes genéticas que pueden alterar la función de las proteínas y contribuir a diversas enfermedades[66].
- Secuenciación de alto rendimiento (NGS): Es una metodología avanzada de secuenciación de ADN que permite analizar grandes volúmenes de datos genéticos de manera rápida y eficiente[67].

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

III.1. Hipótesis

Existen mutaciones diferenciales en los inmunogenes B2M y HLA de línea germinal en pacientes peruanos diagnosticados con CCR y con mutaciones en genes tipo MMR.

III.2. Variables

Variable dependiente:

Pacientes peruanos con diagnóstico de cáncer colorrectal y mutaciones tipo MMR.

Variable independiente:

Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal.

III.3. Operacionalización de variables

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Unidad de medida	Método
Pacientes peruanos con diagnóstico de cáncer colorrectal y mutaciones tipo MMR.	Variable dependiente cualitativa nominal.	Pacientes con exámenes de detección de cáncer colorrectal con resultado positivo, además de presentar mutaciones tipo MMR.	Pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal que cumplen los criterios clínicos de Ámsterdam I, II y/o Bethesda y que presentan mutaciones tipo MMR determinados por pruebas genético-moleculares.	Pacientes con CCR, no SL. Pacientes con CCR, SL.	Pacientes que no presentan una mutación en los genes tipo MMR. Pacientes que presentan una mutación en los genes tipo MMR.	Criterios de consenso para diagnóstico clínico y/o genético.	Clínico y genético molecular.
Variantes en los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal.	Variable independiente cualitativa nominal.	Variantes en la secuencia de los inmunogenes B2M y HLA en línea germinal.	Presencia de variantes en exones, parte de intrones y/o UTRs en los genes B2M y HLA evaluados por secuenciación del exoma completo en pacientes peruanos, los cuales están presentes en todas las células de un individuo desde su nacimiento y pueden ser heredadas.	Variantes en el gen B2M en línea germinal. Variantes en el gen HLA en línea germinal.	Mutaciones en los genes B2M y HLA del tipo: -Mutación silente. -Mutación de sentido equivocado. (Cambio de marco de lectura) -Mutation sin sentido (Stop) -Otros.	Variantes de tipo SNP, INDEL, otros.	Anaálisis de exomas, bioinformático y estadístico.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Área de estudio

Laboratorio GENOBIDC - Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM.

IV.2. Diseño de la investigación

Diseño de Investigación no experimental, retrospectiva y transversal; investigación descriptiva-comparativa.

IV.3. Población y muestra

Pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal provenientes del Hospital Nacional EsSalud Edgardo Rebagliati Martins en el periodo 2016-2019. Se diagnosticaron en total 90 pacientes con cáncer colorrectal, y de ellos se seleccionaron 19 pacientes con mutaciones en genes MMR (sospecha de SL) para evaluación de exomas enfatizando en genes HLA y BM2. La selección de la muestra fue no probabilística (por conveniencia) previa firma del consentimiento informado y aceptación del comité de ética. (Ver Anexos).

Criterios de selección:

- Criterios de inclusión: Muestras de pacientes con diagnóstico confirmatorio de cáncer colon y con análisis genómico de genes MMR por sospecha de Síndrome de Lynch, información clínica completa disponible y consentimiento informado firmado.
- Criterios de exclusión: Muestras de pacientes con mutaciones en otros genes diferentes a los genes MMR, pacientes con otros tipos de cáncer asociados, Información clínica incompleta y falta de consentimiento informado.

IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

Toma de muestras y extracción del ADN

Se tomaron 3 mL de muestra sanguínea, el cual se procesó con el KIT de extracción GeneJET Genomic DNA Purification, de la empresa Thermo Scientific adaptado a las condiciones del laboratorio GENOBIDC, la calidad del ADN se verificó mediante electroforesis y se cuantificó con el fluorómetro Quantus, según las instrucciones del fabricante[68]. Finalmente, estas muestras de ADN genómico se enviaron al laboratorio especializado Macrogen Korea ® para la secuenciación del exoma completo con tecnología ilumina.

Secuenciación del exoma.

Para la secuenciación del exoma humano completo (WES), se utilizó el kit Nextera (Illumina) para la preparación de bibliotecas/librerías (ADN se marca, se fragmenta y se realiza la primera amplificación por PCR), después el enriquecimiento (agrupamiento de bibliotecas, hibridación y captura, y segunda amplificación por PCR) y finalmente la secuenciación, mediante el ingreso de los preparados al secuenciador NGS MySeq (Illumina).

Análisis bioinformático.

El análisis bioinformático se desarrolló mediante un pipeline desarrollado in house para la identificación de variantes germinales y las predicciones in silico de las variantes de significado incierto (VUS) con el fin de establecer su efecto patogénico o neutral. Los resultados fueron recolectados en un archivo elaborado para análisis. Las etapas del procesamiento bioinformático, en detalle, fueron las siguientes:

- Valoración en calidad de lecturas / reads (archivo Fastq) generadas por NGS: Se evaluaron mediante el programa FastQC para verificar el perfil de la calidad por cada base (puntuación Phred = Q).
- Selección de lecturas según su calidad: Se utilizaron los programas Prinseq y Trim Galore para el filtrado de las lecturas. Se consideraron puntuaciones Q>20.
- Ajuste con genoma humano de referencia: Las lecturas emparejadas fueron alineadas (mapeadas) con el ensamblaje del genoma de

referencia conocido como GRCh37 o GRCh38 con el programa BWA. Se generó un archivo de secuencia/mapa (SAM), y posteriormente se convirtió a formato BAM mediante la herramienta SAMtools.

- Organización de las lecturas alineadas: Se agruparon las lecturas de acuerdo con las coordenadas genómicas y basadas en índice, y se preparó la data para visualización. Se utilizó la herramienta Picard–SortSam.
- Marcado de duplicaciones: Se procedió a eliminar los duplicados de PCR que surgieron durante la amplificación. Se usó el programa Picard-MarkDuplicates.
- Ajuste de alineamiento: Este proceso permitió eliminar las variantes falsas positivas y proporcionó una mayor robustez al análisis. Se usó la herramienta SAMtools-mpileup.
- Visualización del alineamiento con la referencia genómica: Con ayuda de la aplicación Integrative Genomic Viewer (IGV), que permitió la visualización de las mutaciones tipo SNPs, indels y la búsqueda rápida de lecturas por localización. Así, se facilitó la identificación de coordenadas en el exoma que son diferentes del genoma de referencia, las cuales son variantes tipo SNPs, indels. Además, se determinó el genotipo de la muestra. La herramienta para esta etapa fue el VarScan. Las variantes encontradas se almacenaron en un archivo VCF (Variant Call Format).
- Clasificación y selección de las variantes: Consistió en el análisis funcional de las variantes a través de la utilización de bases de datos accesibles. En esta fase se pudieron utilizar herramientas como Variant Effect Predictor (VEP) y/o SnpEff. Los datos de las variantes y otros resultados fueron almacenados en un archivo anotado integral para análisis final.

IV.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de las variables según la naturaleza de los datos para analizar la asociación entre variables, poniendo énfasis en

la descripción de la incidencia de las mutaciones y su asociación con otros tipos de cánceres; se observó y documentó la frecuencia de las mutaciones en diferentes grupos, evaluando cómo estas se relacionaban con la aparición de distintos tipos de cáncer. Este enfoque permitió identificar patrones y posibles conexiones relevantes, sin la necesidad de aplicar pruebas estadísticas formales, sino centrándose en una evaluación cualitativa de las relaciones observadas.

V. RESULTADOS

V.1. Presentación y análisis de los resultados

Se diagnosticaron un total de 90 pacientes con cáncer colorrectal, de los cuales se seleccionaron 19 con mutaciones en los genes MMR; en principio, se extrajo el ADN genómico con el "kit comercial" y después de verificada la integridad/calidad mediante electroforesis en geles de agarosa y obtener concentraciones entre 50 y 100 ng/uL, se enviaron a una empresa especializada para la secuenciación del exoma completo; se encontraron variantes en los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C y B2M, las cuales se detallan a continuación:

V.1.1. Variantes conocidas identificadas

En el gen HLA-A se encontraron 27 variantes conocidas. Algunas de ellas son de alto impacto tipo ganancia de codón de término (stop-gain): rs9260156 y rs1059537. Además, se encontraron otras variantes conocidas de impacto moderado. (Ver Tabla 3).

Tabla 3: Variantes conocidas del GEN HLA-A

HLA-A																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Total
rs9260156/SNP/T/A/stop_gained/29911240/L->*	HIGH/—/—/—																				12
rs1059537/SNP/G/T/stop_gained/29911227/E->*	HIGH/—/—/—																				1
rs1059449/SNP/G/A/missense_variant/29910698/G->R	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/possibly_damaging(0.886)/—																				1
rs1143146/SNP/C/G/missense_variant/29910358/L->V	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.003)/—																				17
rs1059423/SNP/C/A/missense_variant/29910581/R->S	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.415)/—																				1
rs1136702/SNP/G/T/missense_variant/29911092/G->W	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.092)/—																				9
rs1059509/SNP/C/A/missense_variant/29911154/N->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.015)/—																				17

HLA-A																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Total
rs1059516/SNP/T/C/missense_variant/29911198/I->T	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.007)/—																				12
rs1136741/SNP/C/G/missense_variant&splice_region_variant/29911901/P->A	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0)/—																				15
rs9260180/SNP/G/A/missense_variant/29911970/G->S	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.007)/—																				8
rs2231095/SNP/G/C/missense_variant/29912108/E->Q	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.05)/benign(0.001)/—																				13
rs9260139/SNP/T/C/missense_variant/29910774/L->P	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/probably_damaging(0.992)/—																				9
rs199474430/SNP/C/G/missense_variant/29910725/R->G	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0)/—																				10
rs9260138/SNP/C/G/missense_variant/29910773/L->V	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0.2)/—																				9
rs879577815/SNP/G/C/missense_variant/29911271/E->D	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0)/—																				11

HLA-A																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Total
rs1137160/SNP/G/C/missense_variant/29912386/K->N	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0)/—																				10
rs1059563/SNP/C/G/missense_variant/29911928/P->A	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0)/—																				13
rs2230991/SNP/G/A/missense_variant/29910719/E->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.097)/—																				4
rs199474424/SNP/G/C/missense_variant/29910721/E->D	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.05)/benign(0.025)/—																				4
rs1059526/SNP/G/A/missense_variant/29911218/A->T	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.006)/—																				3
rs1059632/SNP/G/T/missense_variant/29912087/A->S	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.03)/—																				3
rs1137631/SNP/G/A/missense_variant/29913037/V->M	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.114)/—																				4
rs41542421/SNP/A/G/missense_variant/29910552/Y->C	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/probably_damaging(1)/—																				1

HLA-A																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Total
rs77235917/SNP/C/T/missense_variant/29911925/H->Y	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/benign(0.37)/—																				1
rs3180278/SNP/A/T/missense_variant/29912345/I->F	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.001)/—																				1
rs1137110/SNP/T/G/missense_variant/29912373/M->R	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.001)/—																				1
rs1059535/SNP/C/T/missense_variant/29911222/A->V	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0.003)/—																				1
Total		10	8	8	1	8	16	13	9	7	7	13	14	7	13	11	2	13	16	15	191

Las celdas en amarillo indican la presencia de la variante en el individuo evaluado.
*Ver Anexo 3: Lista de abreviaturas de aminoácidos
**Impacto: Efecto a nivel de estructura, función de la proteína

En el gen HLA-B se encontraron 12 variantes conocidas, todas ellas son de impacto moderado. (Ver Tabla 4).

Tabla 4: Variantes conocidas del GEN HLA-B

HLA-B																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
rs1065386/SNP/G/C/missense_variant/31324547/N->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.149)/—																				10
rs1050570/SNP/T/C/missense_variant/31324549/rs1050529N->D	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)benign(0.065)/—																				10
rs1050529/SNP/C/T/missense_variant/31324615/A->T	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.05)/benign(0.003)/—																				8
rs1131165/SNP/G/C/missense_variant/31324887/L->V	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.001)/—																				16
rs1131156/SNP/G/C/missense_variant/31324895/S->W	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0)/—																				16
rs41556312/SNP/A/C/missense_variant/31324207/L->R	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/probably_damaging(0.973)/—																				5

HLA-B																						
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																				
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
rs9266161/SNP/A/G/missense_variant/31324494/L->P	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/possibly_damaging(0.889)/—																				6
rs12721827/SNP/G/A/missense_variant/31324210/T->I	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.24)/—																				9
rs9266162/SNP/G/C/missense_variant/31324495/L->V	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0.113)/—																				6
rs41556417/SNP/T/A/missense_variant/31324202/S->C	MODERATE/tolerated_low_confidence(0.17)/possibly_damaging(0.876)/—																				1
rs1050518/SNP/T/A/missense_variant/31324641/Q->L	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/benign(0.001)/—																				8
rs1050538/SNP/T/G/missense_variant/31324599/E->A	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/benign(0.093)/—																				2
Total		3	2	8	5	8	2	9	2	6	2	7	10	7	6	9	6	5	0	0	97

Las celdas en amarillo indican la presencia de la variante en el individuo evaluado.
*Ver Anexo 3: Lista de abreviaturas de aminoácidos
**Impacto: Efecto a nivel de estructura, función de la proteína

En el gen HLA-C se encontraron 22 variantes conocidas, todas ellas son de impacto moderado. (Ver Tabla 5).

Tabla 5: Variantes conocidas del GEN HLA-C

HLA-C																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
rs1131096/SNP/G/T/missense_variant/31238259/P->H	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0)/—																				19
rs17408553/SNP/G/T/missense_variant/31239407/N->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.05)/benign(0.035)/—																				18
rs2308527/SNP/G/T/missense_variant/31239821/L->I	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.003)/—																				15
rs146911342/SNP/C/T/missense_variant/31237779/V->M	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0.021)/—																				12
rs41556321/SNP/C/T/missense_variant&splice_region_variant/31237987/E->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.04)/benign(0)/—																				12
rs41540117/SNP/C/A/missense_variant/31238027/M->I	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/benign(0)/—																				10

HLA-C																						
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																				
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
rs1050328/SNP/G/A/missense_variant/31238155/R->W	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0)/—																				14
rs1050409/SNP/G/T/missense_variant/31239501/A->E	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.079)/—																				12
rs41542423/SNP/G/A/missense_variant/31239607/R->W	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.005)/—																				12
rs2308574/SNP/A/G/missense_variant/31239060/Y->H	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.148)/—																				4
rs1131119/SNP/G/A/missense_variant/31239116/T->I	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0.037)/—																				6
rs9264621/SNP/T/C/missense_variant&splice_region_variant/31237862/E->G	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0)/—																				2
rs1131103/SNP/C/T/missense_variant/31238868/E->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0)/benign(0.01)/—																				2
rs2308584/SNP/G/T/missense_variant/31238984/T->N	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.231)/—																				2

HLA-C																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
rs1050428/SNP/C/T/missense_variant/31239543/R->Q	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.027)/—																				2
rs1071650/SNP/T/A/missense_variant/31239621/D->V	MODERATE/tolerated_low_confidence(0.31)/possibly_damaging(0.641)/—																				2
rs1050276/SNP/C/T/missense_variant/31238068/V->M	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/benign(0.049)/—																				2
rs1050357/SNP/C/T/missense_variant/31238880/E->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.018)/—																				3
rs1131151/SNP/C/T/missense_variant/31239630/R->K	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.05)/benign(0.005)/—																				2
rs41546913/SNP/A/C/missense_variant/31239113/L->R	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.01)/probably_damaging(0.967)/—																				2
rs2308650/SNP/C/A/missense_variant/31237765/M->I	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.03)/benign(0)/—																				1
rs1050343/SNP/G/A/missense_variant/31238232/P->L	MODERATE/deleterious_low_confidence(0.02)/benign(0.029)/—																				1

Total	3	9	11	7	8	9	13	7	10	8	12	7	10	12	11	11	2	3	2	155

Las celdas en amarillo indican la presencia de la variante en el individuo evaluado.
*Ver Anexo 3: Lista de abreviaturas de aminoácidos
**Impacto: Efecto a nivel de estructura, función de la proteína

En el gen B2M se encontró 01 variante conocida de impacto modificador: COSV62563769. (Ver Tabla 6.).

Tabla 6: Variante conocida del GEN B2M

B2M																					
Variante/tipo/Alelo Ref/ Alelo Alt/ Consecuencia/ Posición/Cambio de aa*	Impacto**/ SIFT/PolyPhen/ClinVar	PACIENTES (Por orden de estudio)																			
		39	43	50	51	52	56	59	62	63	66	67	68	71	74	78	83	84	91	92	Tot
COSV62563769/SNP/G/A/intron_variant/45008889/—	MODIFIER/—/—/—																				1
Total		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1

Las celdas en amarillo indican la presencia de la variante en el individuo evaluado.
*Ver Anexo 3: Lista de abreviaturas de aminoácidos
**Impacto: Efecto a nivel de estructura, función de la proteína

Número de variantes reportadas por cada paciente:

En la siguiente tabla se presenta el número de variantes reportadas por cada paciente. Para mantener la organización, se realizó la siguiente numeración: el paciente 39 se designó como paciente 1, el paciente 43 como paciente 2, el paciente 50 como paciente 3, y así sucesivamente, manteniendo una secuencia correlativa.

Tabla 7: Número total de variantes conocidas por paciente

Paciente	N° Total de variantes conocidas	HLA-A	HLA-B	HLA-C	B2M
Paciente 1	16	10	3	3	0
Paciente 2	19	8	2	9	0
Paciente 3	27	8	8	11	0
Paciente 4	13	1	5	7	0
Paciente 5	24	8	8	8	0
Paciente 6	27	16	2	9	0
Paciente 7	35	13	9	13	0
Paciente 8	18	9	2	7	0
Paciente 9	23	7	6	10	0
Paciente 10	17	7	2	8	0
Paciente 11	32	13	7	12	0
Paciente 12	31	14	10	7	0
Paciente 13	24	7	7	10	1
Paciente 14	31	13	6	12	0
Paciente 15	31	11	9	11	0
Paciente 16	19	2	6	11	0
Paciente 17	20	13	5	2	0
Paciente 18	19	16	0	3	0
Paciente 19	17	15	0	2	0

Fuente: Elaboración propia

Número de variantes reportadas por cada gen:

En la siguiente tabla se presenta un resumen del número de variantes conocidas reportadas por cada gen: HLA-A, HLA-B, HLA-C y B2M.

Tabla 8: Número total de variantes por gen

GEN	N° total variantes conocidas
HLA-A	27
HLA-B	12
HLA-C	22
B2M	01

Fuente: Elaboración propia

Predicción de las variantes reportadas por cada gen

En la siguiente tabla se muestran las herramientas para la evaluación de variantes génicas, además de su frecuencia en cada uno de los genes estudiados.

Tabla 9: Frecuencias en la predicción por cada gen

		VARIANTES EN EL GEN			
Predicción	**Tipo**	**HLA-A**	**HLA-B**	**HLA-C**	**B2M**
Impacto	Alto	2	0	0	0
	Modificador	0	0	0	1
	Moderado	25	12	22	0
SIFT	Deletéreo	25	11	21	0
	Tolerado	0	1	1	0
	Ninguno	2	0	0	1

PolyPhen	Benigno	22	9	20	0
	Probablemente dañino	2	1	1	0
	Posiblemente dañino	1	2	1	0
	Ninguno	2	0	0	1
ClinVar	Ninguno	27	12	22	1

Fuente: Elaboración propia

Se evaluaron el impacto funcional de las variantes estudiadas[92] mediante las herramientas bioinformáticas como Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2), Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT) y ClinVar, las cuales fueron fundamentales para comprender el significado y la posible implicación de estas variantes en diversas enfermedades. PolyPhen-2 permitió predecir si un cambio aminoacídico específico en una proteína era probable que fuera dañino, basándose en aspectos críticos como la conservación de la secuencia a lo largo de múltiples especies y la estructura tridimensional de la proteína; por otro lado, SIFT analizó la premisa que los aminoácidos conservados evolutivamente son esenciales para la función proteica, estableciendo que cualquier cambio en estas ubicaciones podría influir de manera considerable en el comportamiento de la proteína, clasificando las variantes como "toleradas" o "dañinas". Finalmente, ClinVar proporcionó un recurso invaluable al compilar y clasificar variantes genéticas y sus asociaciones con enfermedades, ofreciendo una perspectiva comprensiva y actualizada del panorama genómico. Es importante destacar que ninguna de las variantes encontradas se reporta en ClinVar, este repositorio integra información de diversas fuentes, facilitando así la interpretación de los resultados genéticos y respaldando la atención médica individualizada; en conjunto, estas herramientas permitieron una evaluación rigurosa y precisa del impacto de las variantes, fomentando una mayor comprensión de los fundamentos genéticos de las enfermedades y optimizando la toma de decisiones clínicas.[92,93,94,95]

VI. DISCUSIÓN

Según la literatura médica, se estima que para el año 2030 se producirá un aumento del 90% en cáncer de colon en pacientes con edades entre 20 a 34 años, y un incremento del 27.7% en las edades entre 35 a 49 años; de manera similar, para el cáncer de recto se estima un incremento de 124,2% y el 46% respectivamente en los grupos de edad antes mencionados.[69] Algunos estudios epidemiológicos reportan que alrededor del 5% del cáncer colorrectal en adultos jóvenes se atribuye a síndromes de cáncer familiar hereditario y menos del 1% son causadas por enfermedades inflamatorias del intestino.[70]

El SL se caracteriza por dMMR, lo cual conlleva a MSI y a la acumulación de mutaciones tipo desplazamiento de marco de lectura que generan péptidos altamente inmunogénicos[4]; la expresión de HLA es esencial para la presentación a las células T, su pérdida de expresión de clase I (HLA-A/B/C) conlleva a la evasión inmune observado en CCR asociados al SL; esta disminución permite a las células cancerosas eludir la identificación por las células T citotóxicas, que generalmente reconocerían y eliminarían las células tumorales que exhiben antígenos mediante estas moléculas HLA.[62] La proteína B2M es una subunidad esencial de las moléculas HLA-I, su pérdida de expresión también se ha observado en los tumores asociados al SL, lo que contribuye a la evasión inmune de impedir la correcta presentación de antígenos, esta pérdida de B2M se asocia con perfiles inmunológicos distintivos y puede influir en la reacción a los tratamientos fundamentados en bloqueadores de puntos de control inmunológicos, como los inhibidores de PD-1/PD-L1.[71,72].

Los tumores con niveles bajos de B2M se correlacionan específicamente con tumores deficientes en MMR, estos tumores deficientes en MMR también muestran un "resfriado inmunológico", es decir, una menor actividad inmunológica; además, la baja expresión de B2M se asocia con una menor supervivencia específica de la enfermedad, siendo significativo principalmente en el cohorte de tumores competentes en MMR[73]. Por otra parte, también se

investigó las mutaciones en el gen B2M en cánceres con MSI-H y dMMR encontrando altas frecuencias de: 57.5% en el CRC, 23.9% en el GC (cáncer gástrico) y 13.6 % en el cáncer endometrial (EC); estas mutaciones frecuentemente resultan en alteraciones de cambio de marco que causan pérdida de función del gen[39].

Se ha demostrado que la expresión de HLA-1 se correlaciona a eventos genéticos, además de resultados de supervivencia; por ejemplo, los niveles más bajos de HLA-A,B,C están asociados con MSI, mayor frecuencia de mutaciones BRAF y menor frecuencia de mutaciones KRAS en el cáncer de colon; la elevada expresión de HLA-B,C, en contraste con la falta de expresión de HLA-A, se considera un predictor independiente de una supervivencia general favorable tanto en el cáncer de colon como en el cáncer rectal; esto sugiere que las células T y los antígenos HLA-B/C ejercen un papel más significativo en la regulación del crecimiento tumoral.[74].

El CCR asociado con SL se presenta a una edad significativamente más temprana en comparación con los casos esporádicos, lo que se atribuye a la rápida acumulación de variantes en oncogenes y genes supresores de tumores, resultado de la inestabilidad de microsatélites (MSI)[5]. Los tumores en adultos jóvenes con MSI se asocian a pacientes que sufren de SL y están más vinculados a la inactivación del gen MSH2; en cambio, los tumores en adultos mayores con MSI están más conectados a la inactivación del promotor del gen MLH1.[45] En el SL las variantes en MSH2 y MLH1 tiene una incidencia del 90% de los casos, en tanto el 10% restante afecta a los genes MSH6 y PMS2.[75] Las mutaciones somáticas no son responsables del SL, pero pueden contribuir al desarrollo de los tumores asociados al síndrome. Por ejemplo, la mutación somática de la copia no mutada del gen MSH2 en las células del colon puede provocar MSI, lo que significa una mayor susceptibilidad al cáncer.[76]

En el presente estudio, se ha encontrado en el gen HLA-A dos variantes de alto impacto tipo ganancia de codón de término (stop-gain). La primera variante, rs9260156, tiene como alelo de referencia T y según el análisis realizado, se

encontró el alelo alternativo es A. Cabe destacar que, esta variante se evidenció en 12 de los 19 pacientes reportados en el presente estudio (63.15%). Según los datos que reporta el proyecto 1000 genomas en la población peruana[77], se han encontrado los alelos son T, A y G. Y que configuran los genotipos y frecuencias: AA (1,2%), AG (4,7%), AT (30,6%), GG (4,7%), GT (22,4%) y TT (36.5%). Lo que contrasta con el 19% de frecuencia alélica (A) reportada en el proyecto 1000 genomas. Además, Echevarría G, et al[78] reportan que esta variante tiene una incidencia del 6.46% para el cáncer de pulmón con respecto a otras alteraciones a nivel mundial, siendo la más frecuente en las poblaciones europea no finlandesa, latina, asiática oriental, asiática meridional, de Oriente Medio y judía asquenazí. De manera similar, Byrne R[79] estudió la secuenciación del exoma completo para la identificación de nuevos genes de susceptibilidad relacionados con fibrosis pulmonar, donde reveló que esta variante está presente en una de las catorce familias de dicho estudio.

La otra variante de tipo ganancia de codón de término (stop-gain) encontrada es rs1059537, la cual se encontró en solo 1 de los 19 pacientes (5.26%). Esta variante tiene como alelo de referencia G y en el paciente estudiado el alelo alternativo es T; según los datos de frecuencias alélicas que reporta el proyecto 1000 genomas[77], los alelos encontrados son G, A, C y T; los genotipos son CG (2,4%) y GG (97,6%); y la frecuencia alélica (T) no se reporta. Por lo que se podría inferir que la ausencia de la variante T podría ser debido a que es muy rara y el tamaño del muestreo no ha sido suficiente o debido a la falta de actualización de datos. Echevarría G, et al[78] reportaron esta variante con un 4.61% de incidencia a nivel mundial para el cáncer de pulmón, donde se resaltó en primer lugar el grupo poblacional africano. Además, en un estudio realizado por Hetamaro T (2019)[80] sobre las variantes del gen HLA-A en Brasil, evidenció una incidencia del 0,94%.

No se ha reportado la presencia de las variantes rs9260156 y rs1059537 en el cáncer colorrectal, probablemente debido a falta de datos específicos y a la limitada investigación genómica en cáncer colorrectal en relación con otros tipos de cáncer, tales como pulmón, donde estas variantes sí se han reportado.

Sin embargo, se espera que el avance de las técnicas de secuenciación y un mayor enfoque en estudios genéticos integrales, permita identificar más conexiones entre estas variantes y el cáncer colorrectal.

Existe la posibilidad de que neoplasias como el carcinoma de pulmón, en el cual se reportaron estas variantes, puedan metastatizar e infectar otros órganos o tejidos, incluyendo el colon; este proceso puede ocurrir cuando las células cancerosas se desprenden del tumor original, viajan a través del sistema linfático o circulatorio, y se establecen en nuevos lugares, lo que subraya la complejidad y adaptabilidad de las células tumorales. Se han reportado, por ejemplo, que el cáncer de pulmón hizo metástasis en el tracto gastrointestinal (intestino delgado 59.6%, colorrectal 25.6%); a nivel histológico (carcinoma de células escamosas 28.5%, adenocarcinoma 27.6% y carcinoma de células grandes 20.9%[81]. Mientras que, Lou HZ[82] revelaron que la incidencia general del cáncer de pulmón primario metastásico al tracto gastrointestinal es en promedio de 4,7% al 14,0% en el momento de la autopsia.

En el presente estudio, se ha encontrado la variante rs1059449 en el gen HLA-A en solo 1 de los 19 pacientes (5.26%), con el alelo de referencia G y el alelo alternativo A; lo que contrasta con lo que reporta el proyecto 1000 genomas[77], donde los alelos AG representan el 5.9% y GG el 91.1%; además, las frecuencias alélicas son: A 3% y G 97%. Se ha encontrado además, la variante rs1143146 en el gen HLA-A con el alelo de referencia C y alelo alternativo G; la cual influye en los niveles de expresión de HLA-A, pero no HLA-B, ni HLA-C; según Pagadala[83], observándose su presencia en 17 de los 19 pacientes evaluados en el presente estudio (89.4%); esta variante está reportada en el proyecto 1000 genomas[77] en la siguiente frecuencia de genotipo: CC 8.2%, CG 31.8% y GG 60%; y la frecuencia alélica G 76% y C 24%. Según algunos autores, el alelo menor de esta variante se asoció con una expresión disminuida del alelo HLA-A y también se asoció con una infiltración disminuida de células T CD8 y CD4[83].

Otra variante encontrada en el gen HLA-A, en el presente estudio, es el rs1059423, la cual se encontró en solo 1 de los 19 pacientes (5.26%); sin embargo, el proyecto 1000 genomas[77] refiere la frecuencia alélica correspondiente al 8%, además, el genotipo fue de: AC 15.3% y CC 84.7%. También se registró la variante rs1136702 en el gen HLA-A con el alelo de referencia G y el alelo alternativo T, la cual estuvo presente en 9 de los 19 pacientes (47,3%). Esta variante está reportada en el proyecto 1000 genomas[77] en la siguiente frecuencia de genotipo: GG 18.8%, GT 50.6% y TT 30.6%. Además, la frecuencia alélica reportada es de 56% (A).

Una de las variantes identificadas en el gen HLA-A, con mayor incidencia entre los pacientes es rs1059509, la cual estuvo presente en 17 de los 19 pacientes (89.4%); para esta frecuencia alélica el proyecto 1000 genomas[77] reporta una frecuencia del 78%, con los genotipos posibles: AA 63.5%, AC 28.2% y CC 8.2%; mientras que, Gu Y, et al[84] han asociado esta variante como posible perjudicial o patógena en regiones codificantes de proteínas del cáncer gástrico en poblaciones chinas.

Otra variante en el gen HLA-A es la rs2231095, la cual se encontró en 13 de 19 pacientes (68.4%), siendo el alelo de referencia G y el alelo alternativo C; para esta variante, el proyecto 1000 genomas[77] reporta un 46% para el mismo alelo alternativo, esta variante se ha reportado por Yoon Ming C[85] en el carcinoma nasofaríngeo, en China, asociándose a este tipo de cáncer como dañino o posiblemente dañino; el mismo estudio reporta también la variante rs1059563 y lo clasifica como probablemente dañino; en tanto, en la investigación actual, se evidenció en el 68.42% de pacientes estudiados, mientras que el proyecto mil genomas no reporta frecuencias para peruanos de Lima.

La variante rs199474430 en el gen HLA-A está en 10 de los 19 pacientes (52.6%), para el mismo alelo, el proyecto 1000 genomas[77] reporta una incidencia del 13% en peruanos de Lima; mientras que, Lima T, et al.[80] han encontrado el 14.58% para mutaciones con la misma mutación HLA-A en Brasil; este mismo estudio reporta una incidencia del 14.58% para la variante

rs1137160, mientras que el proyecto 1000 genomas[77] encontró el 84% para el mismo alelo alternativo, en tanto en el presente estudio se encontró en el 52.63% del total de pacientes.

En el gen HLA-B se encontró la variante rs1065386 en el 52.63% de los pacientes estudiados, el proyecto 1000 genomas[77] reporta una incidencia del 51% para el mismo alelo alternativo, siendo los genotipos posibles para peruanos de Lima CC 18.8%, CG 64.7% y GG 16.5%; por su parte, Taher I, et al[86] en el 2021, han asociado esta variante en la retinopatía diabética proliferativa. Otra variante encontrada en el gen HLA-B es rs1050529, la cual se encontró en el 52.63% de los pacientes estudiados, siendo el alelo de referencia T y el alelo alternativo C, además, el proyecto 1000 genomas[77] reporta una frecuencia del 51% para el mismo alelo alternativo, con el siguiente genotipo: CC 18.8%, CG 64.7% y GG 16.5%; en tanto, Chahal HS, et al [87] han reportado la asociación de esta variante con el carcinoma de células basales, mediante la susceptibilidad asociada con la regulación inmunológica; sin embargo, Landi MT, et al[88] han relacionado esta variante con el melanoma cutáneo.

En el gen HLA-C, la variante rs1131096 está presente en todos los pacientes, el alelo de referencia es G y el alelo alternativo T, esta variante está reportada en el proyecto 1000 genomas[77] con una incidencia del 87% para el mismo alelo alternativo; por su parte, Liao X, et al[89] relacionan esta variante con el papel regulador de las moléculas de adhesión celular (CAM), la patología tiroidea autoinmune, el rechazo de injertos alogénicos, la manipulación y presentación de antígenos, la diabetes mellitus tipo I y las vías de la enfermedad de injerto contra huésped; además, se ha reportado su presencia en el carcinoma hepatocelular relacionado con el virus de la hepatitis B.

Otra variante encontrada en el gen HLA-C es la rs17408553 con el alelo de referencia G y el alelo alternativo T, esta variante está presente en el 94.7% de los pacientes estudiados; mientras que el proyecto 1000 genomas[77] reporta una incidencia del 37% en peruanos de Lima, con los siguientes genotipos: GG

34.1%, GT 57.6% y TT 8.2%; además, es importante destacar que Robert M[90] han reportado la asociación de esta variante con una baja efectividad del tratamiento de inducción en pacientes que padecen nefritis lúpica.

La única variante reportada para el gen B2M es COSV62563769, la cual se encontró solo en 1 de los 19 pacientes (5.26%); para esta variante, el proyecto 1000 genomas[77] no reporta datos para peruanos de Lima; sin embargo, menciona su asociación con la neoplasia benigna o maligna del parénquima mamario; sin embargo, es importante recalcar que esta variante es una mutación intrónica que aunque no se traduce en proteínas, puede influir en la regulación génica y en el procesamiento del ARN; estos cambios pueden desencadenar procesos tumorales, ya que los factores de splicing pueden actuar como oncogenes o genes que inhiben tumores, según su impacto[91]. Además, defectos en el procesamiento del ARN pueden originar hasta el 50% de las enfermedades genéticas, incluido el cáncer; por lo tanto, las mutaciones intrónicas pueden tener un impacto significativo en la expresión génica y en la progresión de enfermedades como el cáncer[91].

Los mecanismos involucrados todavía son desconocidos; sin embargo, la deficiencia en la reparación de desajustes del ADN podría conllevar a mutaciones del tipo INDEL y de cambio de marco de lectura en las repeticiones de microsatélites exónicos, lo que aumenta la tasa de mutación y confiere el fenotipo MSI-H[39]; aunque en el presente estudio todas las variantes reportadas fueron del tipo SNP. Por su parte, Michelakos T, et al [74] destacan la importancia de los antígenos HLA-B/C en relación a HLA-A por su eficacia para presentar péptidos relevantes a las células T; así, los pacientes con CCR pueden beneficiarse de estrategias que incrementen la expresión de HLA-B/C, lo que a su vez podría mejorar la eficacia de la respuesta inmunitaria de las células T; además, se sugiere que la combinación de enfoques inmunoterapéuticos con radioterapia podría ser una opción prometedora para potenciar el tratamiento.

Las respuestas de células T específicas de los péptidos que se generan después de una mutación de tipo frameshift (FSP) se detectan en la sangre de pacientes con SL, tanto en aquellos sin antecedentes de cáncer como en pacientes con SL-CRC[96]; estas células T responden a 14 antígenos FSP distintos, presentando frecuencias de mutación variables; los neoantígenos de genes como HT001, AIM2, TAF1B, TGFβRII y FSP06, con altas frecuencias de mutación, son comunes tanto en SL-CRC como en cáncer colorrectal esporádico MSI-CRC[96,97]; además, más de la mitad de los adenomas de SL presentan mutaciones en TGFβRII, apoyando la idea de que la inmunoedición influye en la progresión del adenoma a carcinoma. TGFβ tiene roles duales en la tumorigénesis, con efectos antineoplásicos en etapas tempranas y proneoplásicos en etapas avanzadas del cáncer, mediando la actividad de células T reguladoras (Tregs) y la transición de células tumorales hacia un fenotipo mesenquimal, haciéndolas más resistentes a la terapia[98,98,100]. La presencia de estas respuestas inmunes en portadores saludables de mutaciones SL puede explicarse por la teoría de la "fase de eliminación", donde la inmunoedición elimina eficazmente muchas lesiones tempranas. Esta vigilancia inmune continua podría limitar la penetrancia de ciertas mutaciones en SL. Cuando el tumor escapa de este reconocimiento, se requiere una intervención inmune más intensa[101].

Los adenomas de SL se distinguen por un mayor número de linfocitos T comparado con los pólipos esporádicos, y muestran una mayor expresión de ARNm para genes como CD4, IFNγ, LAG3, CD274/PDL1, IL12A y TNFα; curiosamente, se observó que la regulación positiva de estos genes inmunitarios en las lesiones precursoras no depende de la tasa de mutación ni de la carga de neoantígenos, esto indica que la activación del sistema inmunitario ocurre en las primeras etapas de la tumorigénesis asociada a SL, y no simplemente como resultado de la acumulación de mutaciones somáticas; este hallazgo apoya la idea de la inmunoprevención como una estrategia efectiva para el control profiláctico del SL.[102,103,104]

Los genes MMR participan de forma crucial en el desarrollo embrionario y en la predisposición al cáncer asegurando la estabilidad genética al rectificar fallos que se presentan durante la replicación del ADN, la pérdida de función de este tipo de genes puede ocasionar un aumento en la tasa de mutaciones, lo que puede afectar el normal desarrollo y aumentar el riesgo de enfermedades genéticas[105]; la deficiencia en la reparación de genes MMR resulta en un fenotipo mutador, que incrementa la tasa de mutaciones en genes críticos para el control del ciclo celular y la apoptosis, facilitando así, el desarrollo del cáncer[106]; la pérdida de funcionalidad en estos genes no solo aumenta la mutación espontánea, sino que también afecta la respuesta celular al daño del ADN, lo que puede influir en la eficacia de ciertos tratamientos quimioterapéuticos[107].

Las mutaciones en los genes MMR tienen una relación significativa con el sistema inmunológico, especialmente en el contexto de la inmunoterapia contra el cáncer; los tumores con dMMR presentan MSI-H, lo que lleva a una mayor carga de neoantígenos debido a inserciones y deleciones en regiones codificantes del ADN, estos neoantígenos son altamente inmunogénicos y pueden estimular la infiltración de linfocitos y la producción de citocinas inflamatorias, lo que contribuye a un microambiente tumoral inflamado; el mecanismo que subyace a esta relación implica la activación de la vía cGAS-STING en células tumorales con deficiencia de MMR. La pérdida de MMR, como MLH1, promueve la acumulación de ADN citosólico, lo que activa la vía cGAS-STING, resultando en la producción de interferón beta (IFN-β) y la priming de células T, esta activación es crucial para la sensibilidad a la inmunoterapia, particularmente a inhibidores de punto de control inmunológico (bloqueo de PD-1); sin embargo, no todos los pacientes con tumores dMMR muestran respuesta a la inmunoterapia, lo que sugiere la existencia de mecanismos de resistencia que pueden ser tanto intrínsecos como extrínsecos; estos mecanismos pueden abarcar la disfunción de células T y la inmunosupresión mediada por células mieloides en el entorno tumoral. Además, la regulación a la baja de la vía cGAS-STING en algunos cánceres dMMR se ha correlacionado con un pronóstico desfavorable[54,108,109].

Las mutaciones en los genes HLA-1 juegan un papel crucial al permitir que los tumores evadan la vigilancia inmunológica, lo que reduce la eficacia de las terapias inmunitarias; de manera similar, las mutaciones en el gen B2M afectan significativamente esta evasión al alterar la presentación de antígenos en la superficie de células tumorales; además, el genotipo HLA de un individuo influye de manera significativa en la presentación de antígenos y, en consecuencia, en la respuesta inmune contra los tumores. Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar las variantes HLA y B2M en el diseño de estrategias de inmunoterapia personalizadas, comprender detalladamente estas interacciones es esencial para mejorar la eficacia de las terapias actuales y desarrollar nuevos enfoques terapéuticos dirigidos a contrarrestar la evasión inmunológica tumoral[110,111].

La importancia de este estudio radica también en el análisis de una población específica, como la peruana, cuyas características genéticas pueden diferir notablemente de otras poblaciones; cada población tiene un conjunto único de variantes genéticas que pueden influir en la susceptibilidad a enfermedades y en la reacción a tratamientos, estudiar estas variantes en poblaciones peruanas proporciona una base sólida para el desarrollo de terapias más efectivas y personalizadas que tengan en cuenta las particularidades genéticas de esta población, futuras investigaciones deben centrarse en explorar estas variantes genéticas y su impacto en la respuesta inmune, lo que podría llevar a avances significativos en el tratamiento del cáncer; este estudio aporta valiosa información sobre el papel de las variantes germinales en los inmunogenes B2M y HLA en pacientes peruanos con CCR y mutaciones en los genes MMR, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y el desarrollo de terapias más efectivas y personalizadas[4]. El presente estudio presenta limitaciones como el tamaño de la muestra, la disponibilidad de información clínica detallada y la información sobre otros genes relevantes, estos aspectos deben ser considerados en futuros estudios para obtener una visión más completa y precisa de la relación entre las variantes germinales y la progresión del CCR en esta población. De esta manera, se pretende aportar a la

comprensión del CCR, específicamente del SL, en relación con su efecto en el sistema inmune y en los genes HLA, en pacientes peruanos con predisposición hereditaria en las variantes germinales ya mencionadas y su posible influencia en la susceptibilidad y progresión de la enfermedad.

VII. CONCLUSIONES

- Los pacientes peruanos diagnosticados con cáncer colorrectal y con mutaciones en los genes MMR (SL) exhiben variantes diferenciales en la línea germinal, principalmente en los inmunogenes HLA-A, HLA-B y HLA-C.
- Se identificaron 27 variantes conocidas en el gen HLA-A, siendo relevantes las variantes rs9260156 y rs1059537, que provocan stop-gained. Además, estas variantes estuvieron presentes en 12 y 1 de los 19 pacientes respectivamente. Ambas variantes se han asociado con el cáncer de pulmón.
- En el gen HLA-B se encontraron 12 variantes, en el gen HLA-C 22 variantes y en el gen B2M la única variante encontrada es COSV62563769, que según el proyecto 1000 genomas tiene asociación con las neoplasias de mama.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios adicionales con mayor número de muestras que evalúen la expresión de marcadores genéticos y su impacto en el pronóstico y la respuesta al tratamiento.

- Impulsar campañas de prevención y educación sobre el cáncer colorrectal, fomentar estilos de vida saludables y la implementación de programas de detección temprana. y cribado genético regular.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin [Internet]. 2021 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 71(3): 209–249. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33538338/
2. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, et al. Prevalence and penetrance of major genes and polygenes for colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2017 [citado el 26 de marzo de 2023]; 26(3): 404–412. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5336409/
3. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, et al. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. J Clin Oncol [Internet]. 2008 [citado el 26 de marzo de 2023]; 26(35): 5783–8. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2645108/
4. Ahadova A, Witt J, Haupt S, Gallon R, Hüneburg R, Nattermann J, et al. ¿Es el tipo de HLA un posible modificador del riesgo de cáncer en el síndrome de Lynch? Int J Cancer [Internet]. 2023. [citado el 23 de noviembre del 2024]. 152(10):2024–31. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1002/ijc.34312
5. Majumder S, Shah R, Elias J, Manoharan M, Shah P, Kumari A, et al. Un enfoque de vacuna contra el cáncer para el tratamiento personalizado del síndrome de Lynch. Sci Rep [Internet]. 2018. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1038/s41598-018-30466-x?fromPaywallRec=false
6. Helderman NC, Bajwa-ten Broeke SW, Morreau H, Suerink M, Terlouw D, van der Werf-'t Lam AS, et al. Los diversos perfiles moleculares de los cánceres colorrectales asociados al síndrome de Lynch dependen (en gran medida) de las mutaciones subyacentes de reparación de errores de emparejamiento de la línea germinal. Crit Rev Oncol Hematol [Internet]. 2021. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842821001268
7. Rehder H. Family Cancer Syndromes. 2009. [citado el 23 de noviembre del 2024]; Disponible en: https://www.cancer.net/cancer-types/lynch-syndrome#:~:text=Approximately%203%25%20to%205%25%20of,be%20due%20to%20Lynch%20syndrome
8. Echterdiek F, Janikovits J, Staffa L, Müller M, Lahrmann B, et al. Low density of FOXP3-positive T cells in normal colonic mucosa is related to the presence of beta2-

microglobulin mutations in Lynch syndrome-associated colorectal cancer. Oncoimmunology [Internet]. 2016 [citado el 29 de marzo de 2023]; 5(2): e1075692. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27057447/

9. Phung TN, Lenkiewicz E, Malasi S, Sharma A, Anderson KS, Wilson MA, et al. Unique genomic and neoepitope landscapes across tumors: a study across time, tissues, and space within a single lynch syndrome patient. Sci Rep [Internet]. 2020. [citado el 23 de noviembre del 2024]; 10(1):1–10. Disponible en: https://www.nature.com/articles/s41598-020-68939-7
10. Parsons R, Li GM, Longley MJ, Fang WH, Papadopoulos N, et al. Hypermutability and Mismatch Repair Deficiency in RER+ Tumor Cells. Cell [Internet]. 1993 [citado el 22 de marzo de 2023]; 75(6): 1227-1236. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8261516/
11. Branch P, Bicknell DC, Rowan A, Bodmer WF, Karran P. Immune surveillance in colorectal carcinoma. Nat Genet [Internet]. 1995 [citado el 22 de marzo de 2023]; 9(3): 231–232. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7773283/
12. Rubio T, Verdecia M. Algunos aspectos genéticos y epidemiológicos relacionados con el cáncer colorrectal. Medisan [Internet]. 2016 [citado el 29 de marzo de 2023]; 20(3): 372–383. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192016000300014
13. Joint Test, et al. Genetic testing for colon cancer: joint statement of the American College of Medical Genetics and American Society of Human Genetics. Joint Test and Technology Transfer Committee Working Group. Genet Med [Internet]. 2000 [citado el 29 de marzo de 2023]; 2(6): 362–366. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3111056/
14. Chambuso R, Mthembu M, Kaambo E, Robertson B, Ramesar R. Immunogenomic biomarkers and validation in lynch syndrome. Cells [Internet]. 2023 [citado el 22 de marzo de 2023]; 12(3): 1-13. Disponible en: https://www.mdpi.com/2073-4409/12/3/491
15. Paho/who [Internet]. Paho.org. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Available from: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=4-cancer-country-profiles-2020-1&alias=51611-peru-cancer-profile-2020-1&Itemid=270&lang=es
16. NCI. Áreas de investigación: Cáncer y salud pública [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer; 2015 [citado el 7 de marzo de 2023]. Disponible en: https://www.cancer.gov/espanol/investigacion/areas/salud-publica

17. Echterdiek F, Janikovits J, Staffa L, Müller M, Lahrmann B, et al. Low density of FOXP3-positive T cells in normal colonic mucosa is related to the presence of beta2-microglobulin mutations in Lynch syndrome-associated colorectal cancer. Oncoimmunology [Internet]. 2016 [citado el 29 de marzo de 2023]; 5(2): e1075692. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27057447/
18. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019: Cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin; [Internet]. 2019. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30620402/
19. Sinicrope FA. Lynch syndrome-associated colorectal cancer. N Engl J Med [Internet]. 2018 [citado 21 de marzo de 2023]; 379(8): 764–73. Disponible en: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMcp1714533
20. Cruz-Bustillo D. Genética molecular del cáncer colorrectal. Rev Esp Enferm Dig [Internet]. 2004 [citado el 29 de marzo de 2023]; 96(1): 372-383. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082004000100007&script=sci_arttext&tlng=es
21. Bohaumilitzky L, Kluck K, Hüneburg R, Gallon R, Nattermann J, et al. The different immune profiles of normal colonic mucosa in cancer-free Lynch syndrome carriers and Lynch syndrome colorectal cancer patients. Gastroenterology [Internet]. 2022 [citado el 29 de marzo de 2023]; 162(3): 907-919.e10. Disponible en: https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(21)03805-1/fulltext#bib26
22. Villanueva M. Optimización del análisis bioinformático del exoma de una paciente con cáncer de mama de diagnóstico complicado: estudio de variantes de susceptibilidad a la enfermedad y farmacogenética [Tesis]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2020. [citado el 29 de marzo de 2023] Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/15397?show=full
23. Brown JS, Amend SR, Austin RH, Gatenby RA, Hammarlund EU, Pienta KJ. Updating the definition of cancer. Mol Cancer Res [Internet]. 2023 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 21(11):1142–7. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10618731/#:~:text=the%20lethal%20phenotype.-,Cancer%20is%20a%20disease%20of%20uncontrolled%20proliferation%20by%20transformed,to%20evolution%20by%20natural%20selection
24. What is cancer? [Internet]. Cancer Research UK. 2014 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer

25. Van Cott C. Cancer genetics. Surg Clin North Am [Internet]. 2020;100(3):483–98. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039610920300256?via%3Dihub
26. Mutaciones en el gen BRCA: el riesgo de cáncer y las pruebas genéticas [Internet]. Cancer.gov. 2021 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/genetica/hoja-informativa-brca
27. Mbemi A, Khanna S, Njiki S, Yedjou CG, Tchounwou PB. Impact of gene–environment interactions on cancer development. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2020 [citado el 23 de noviembre del 2024];17(21):8089. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7662361/
28. Staurini S, Niclis C, Calcagni MS, Ramírez D, Gómez-Mejíba SE, Aballay LR. Bajo nivel de instrucción asociado a la presencia de obesidad y sus comorbilidades metabólicas en adultos de Argentina. Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba [Internet]. 2023 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 80(4):420–38. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10851402/
29. Joyce C, Rayi A, Kasi A. Tumor-suppressor genes. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [Internet]. 2024. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532243/
30. Kotsopoulos J. BRCA mutations and breast cancer prevention. Cancers (Basel) [Internet]. 2018;10(12). [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30572612/
31. Aiman W, Gasalberti DP, Rayi A. Low-grade gliomas. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; [Internet]. 2024. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32809503/
32. Bhattacharya P, McHugh TW. Lynch Syndrome. [Internet] Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. [citado el 29 de marzo de 2023] Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431096/#:~:text=Lynch%20syndrome%20carriers%20are%20at,and%20sebaceous%20gland%20adenomas%2C%20and
33. Moller P, Seppälä TT, Bernstein I, Holinski E, Sala P, et al. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database. BMJ [Internet]. 2018 [citado el 27 de Febrero de 2023]; 67 (7): 1306–1316. Disponible en: https://gut.bmj.com/content/gutjnl/67/7/1306.full.pdf
34. Vaccaro CA, López F, Adriana DV, Palmero EI, Rossi BM, et al. From colorectal cancer pattern to the characterization of individuals at risk: Picture for genetic

research in Latin America. Int J Cancer [Internet]. 2019 [citado el 27 de Febrero de 2023]; 145(2): 318–326. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.31920

35. Montenegro PC, Egoavil C, Casanova LA, Martínez A, Alenda C, et al. Molecular features of colorectal cancer in Peruvian patients. J Clin Oncol [Internet]. 2010 [citado el 27 de Febrero de 2023]; 28(15_suppl): e14043–e14043. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1200/jco.2010.28.15_suppl.e14043
36. Ñique C, Sánchez F, Lettiero B, Wernhoff P, Domínguez M. Caracterización molecular de cáncer colorrectal hereditario en Perú. Rev Gastroenterol Peru [Internet]. 2014 [citado el 7 de marzo de 2023]; 34(4): 299–303. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292014000400002
37. Oscan M, Janikovits J, von Knebel Doeberitz M, Kloor M. Complex pattern of immune evasion in MSI colorectal cancer. Oncoimmunology [Internet]. 2018 [citado el 26 de marzo de 2023]; 7(7): e1445453. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993484/
38. Kloor M, Michel S, Buckowitz B, Rüschoff J, Büttner R, et al. Beta2-microglobulin mutations in microsatellite unstable colorectal tumors. Int J Cancer [Internet]. 2007 [citado el 26 de marzo de 2023]; 121(2): 454–458. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.22691
39. Liu F, Zhong F, Wu H, Che K, Shi J, et al. Prevalence and associations of Beta2-Microglobulin mutations in MSI-H/dMMR cancers. The Oncologist [Internet]. 2023 [citado el 26 de marzo de 2023]; 28(3): e136–e144. Disponible en: https://academic.oup.com/oncolo/article/28/3/e136/7022155
40. Zhang C, Li D, Xiao B, Zhou C, Jiang W, et al. B2M and JAK1/2-mutated MSI-H colorectal carcinomas can benefit from anti-PD-1 therapy. J Immunother [Internet]. 2022 [citado el 26 de marzo de 2023]; 45(4): 187–193. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8986629/
41. Clendenning M, Huang A, Jayasekara H, Lorans M, Preston S, et al. Somatic mutations of the coding microsatellites within the beta-2-microglobulin gene in mismatch repair-deficient colorectal cancers and adenomas. Fam cancer [Internet]. 2018 [citado el 26 de marzo de 2023]; 17(1): 91-100. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6129400/
42. Ranasinghe R, Mathai M, Zulli A. A synopsis of modern - day colorectal cancer: Where we stand. Biochim Biophys Acta Rev Cancer [Internet]. 2022;1877(2):188699.

[citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35192881/

43. Rodriguez-Bigas MA, Lin EH, Crane CH. Genetic Pathways in Colorectal Cancer. Shelton, CT: B.C. Decker; [Internet]. 2003. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12839/
44. PDQ Cancer Genetics Editorial Board. Genetics of colorectal cancer (PDQ): Health professional version. In: PDQ Cancer Information Summaries. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); [Internet]. 2002. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK126744/
45. De Altera Genes Ras ED. DIANA MILENA ROA AGUDELO [Internet]. 2018. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://repositorio.unbosque.edu.co/server/api/core/bitstreams/c5e1955d-b13c-40b6-9166-0bca710a6c0c/content
46. Haraldsdottir S, Hampel H, Wei L, Wu C, Frankel W, Bekaii-Saab T, et al. Prostate cancer incidence in males with Lynch syndrome. Genet Med [Internet]. 2014 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24434690/
47. Ballester V. Clinical and molecular features of young-onset colorectal cancer. World J Gastroenterol [Internet]. 2016 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 22(5):1736. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4724605/
48. Genetics of colorectal cancer (PDQ) [Internet]. Cancer.gov. 2024 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.cancer.gov/types/colorectal/hp/colorectal-genetics-pdq
49. Rebuzzi F, Ulivi P, Tedaldi G. Genetic predisposition to colorectal cancer: How many and which genes to test? Int J Mol Sci [Internet]. 2023 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 24(3):2137. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9916931/
50. Gay JT, Troxell T, Gross GP. Muir-Torre Syndrome. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; [Internet], 2024. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513271/
51. Zhang R, Bhate C, Cai D. Genetic heterogeneity in a patient with Muir-Torre syndrome. JAAD Case Rep [Internet]. 2020 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 6(9):886–91. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7452313/
52. Liu D, Keijzers G, Rasmussen LJ. DNA mismatch repair and its many roles in eukaryotic cells. Mutat Res Rev Mutat Res [Internet]. 2017; 773:174–87. [citado el 23

de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574217300339?via%3Dihub

53. Li G-M. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. Cell Res [Internet]. 2008;18(1):85–98. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.nature.com/articles/cr2007115
54. Genetic LS, diagnostic aspects. Síndrome de Lynch: aspectos genéticos, clínicos y diagnósticos [Internet]. 2018. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v38n3/a08v38n3.pdf
55. Rashid S, Freitas MO, Cucchi D, Bridge G, Yao Z, Gay L, et al. MLH1 deficiency leads to deregulated mitochondrial metabolism. Cell Death Dis [Internet]. 2019 [citado el 23 de noviembre del 2024];10(11):795. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6805956/
56. Castro A, Ozturk K, Pyke RM, Xian S, Zanetti M, Carter H. Elevated neoantigen levels in tumors with somatic mutations in the HLA-A, HLA-B, HLA-C and B2M genes. BMC Med Genomics [Internet]. 2019;12(S6). [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://bmcmedgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12920-019-0544-1
57. Sucker A, Paschen A. Deciphering the genetic evolution of T-cell resistance in melanoma. Oncoimmunology [Internet]. 2015. [citado el 23 de noviembre del 2024]; 4(5):e1005510. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485751/
58. Wang H, Liu B, Wei J. Beta2-microglobulin(B2M) in cancer immunotherapies: Biological function, resistance and remedy. Cancer Lett [Internet]. 2021;517:96–104. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383521002937
59. Crux NB, Elahi S. Human leukocyte antigen (HLA) and immune regulation: How do classical and non-classical HLA alleles modulate immune response to human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections? Front Immunol [Internet]. 2017;8. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2017.00832/full
60. Schellens IMM, Hoof I, Meiring HD, Spijkers SNM, Poelen MCM, van Gaans-van den Brink JAM, et al. Comprehensive analysis of the naturally processed peptide repertoire: Differences between HLA-A and B in the immunopeptidome. PLoS One [Internet]. 2015 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 10(9):e0136417. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4574158/

61. Seliger B, Kloor M, Ferrone S. HLA class II antigen-processing pathway in tumors: Molecular defects and clinical relevance. Oncoimmunology. [Internet]. 2017 Feb 6;6(2):e1171447. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5353941/
62. Noel F.C.C. de Miranda, Danny Goudkade, Ekaterina S. Jordanova, Carli M.J. Tops, Frederik J. Hes, Hans F.A. Vasen, Tom van Wezel, Hans Morreau; Infiltration of Lynch Colorectal Cancers by Activated Immune Cells Associates with Early Staging of the Primary Tumor and Absence of Lymph Node Metastases. Clin Cancer Res. [Internet]. 1 March 2012; 18 (5): 1237–1245. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://aacrjournals.org/clincancerres/article/18/5/1237/77699/Infiltration-of-Lynch-Colorectal-Cancers-by
63. Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T cells and human disease. Annu Rev Immunol [Internet]. 2020;38:541–66. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32017635/
64. De renovação celular é pautado em duas partes: a morte e a replicação celular. R e. M da E e. F do OEP. Genes de Reparo e sua função [Internet]. 2020. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.diagnosticosdobrasil.com.br/uploads/materiais/2021/06/db-patol-msi.pdf
65. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, et al. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. Gastrointest Endosc [Internet]. 2014;80(2):197–220. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25034835/
66. Bartha Á, Győrffy B. Comprehensive outline of whole exome sequencing data analysis tools available in clinical oncology. Cancers (Basel) [Internet]. 2019;11(11). [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31690036/
67. Escamilla-Guerrero G, García-Rosales JC. Genotipificación y sus aplicaciones, una mirada hacia el futuro [Genotyping and its applications, a look to the future]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. [Internet]. 2023 Jan 1;61(Suppl 1):S37-S45. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10396029/
68. Promega. QuantusTM Fluorometer. [Internet]. 2021 [Accedido 31 Enero 2025]. Disponible en: https://worldwide.promega.com/products/microplate-readers-

fluorometers-luminometers/fluorometers/quantus-fluorometer/?catNum=E6150#protocols.

69. Deen KI, Silva H, Deen R, Chandrasinghe PC. Colorectal cancer in the young, many questions, few answers. World J Gastrointest Oncol [Internet]. 2016 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 8(6):481. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909449/#:~:text=Using%20statistical%20modelling%2C%20the%20authors,124.2%25%20and%2046%25%20respectively

70. AlZaabi A, AlHarrasi A, AlMusalami A, AlMahyijari N, Al Hinai K, ALAdawi H, et al. Early onset colorectal cancer: Challenges across the cancer care continuum. Ann Med Surg (Lond) [Internet]. 2022 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 82:104453. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9577444/

71. Walkowska J, Kallemose T, Jönsson G, Jönsson M, Andersen O, Andersen MH, et al. Immunoprofiles of colorectal cancer from Lynch syndrome. Oncoimmunology [Internet]. 2019;8(1). [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/2162402X.2018.1515612?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed

72. Rasmussen M, Lim K, Rambech E, Andersen MH, Svane IM, Andersen O, et al. Lynch syndrome-associated epithelial ovarian cancer and its immunological profile. Gynecol Oncol [Internet]. 2021;162(3):686–93. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090-8258(21)00531-X

73. Lee SH, Pankaj A, Rickelt S, Ting D, Ferrone C, Patil DT, et al. B2-microglobulin expression is associated with aggressive histology, activated tumor immune milieu, and outcome in colon carcinoma. Am J Clin Pathol [Internet]. 2024 [citado el 23 de noviembre del 2024]; 162(5):500–8. Disponible en: https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/162/5/500/7692856?redirectedFrom=fulltext&login=false

74. Michelakos T, Kontos F, Kurokawa T, Cai L, Sadagopan A, Krijgsman D, et al. Differential role of HLA-A and HLA-B, C expression levels as prognostic markers in colon and rectal cancer. J Immunother Cancer [Internet]. 2022; 10(3). [citado el 23 de noviembre del 2024]: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35277460/

75. De Freitas IN, de Campos FG, Alves VA, Cavalcante JM, Carraro D, Coudry Rde A, Diniz MA, Nahas SC, Ribeiro U Jr. Proficiency of DNA repair genes and microsatellite instability in operated colorectal cancer patients with clinical suspicion of lynch syndrome. J Gastrointest Oncol. [Internet]. 2015 Dec;6(6):628-37. [citado el 23 de

noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4671846/

76. Ferrer Márquez M, Reina Duarte Á, Maturana Ibáñez V, Belda Lozano R, Rubio Gil F, Blesa Sierra I, et al. Síndrome de Lynch: genética y cirugía. Cir Esp [Internet]. 2011;89(1):3–9. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.elsevier.es/es-revista-cirugia-espanola-36-articulo-sindrome-lynch-genetica-cirugia-S0009739X10004033
77. Ensembl genome browser 113 [Internet]. Ensembl.org. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: http://www.ensembl.org/index.html
78. Echeverría-Garcés G, Ramos-Medina MJ, González A, Vargas R, Cabrera-Andrade A, Armendáriz-Castillo I, et al. Worldwide analysis of actionable genomic alterations in lung cancer and targeted pharmacogenomic strategies. Heliyon [Internet]. 2024;10(17):e37488. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(24)13519-0
79. Byrne R. Whole exome sequencing for the identification of novel susceptibility genes related to familial pulmonary fibrosis in a Newfoundland cohort [Internet]. Mun.ca. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://research.library.mun.ca/8476/1/thesis.pdf
80. Lima THA. ESTUDO DA VARIABILIDADE DO GENE DE ASSINATURAS DE SELEÇÃO NATURAL ATUANDO EM CADA SEGMENTO DO GENE [Internet]. 2015. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://repositorio.unesp.br/bitstream/11449/191119/13/lima_tha_dr_bot_int.pdf
81. Hu Y, Feit N, Huang Y, Xu W, Zheng S, Li X. Gastrointestinal metastasis of primary lung cancer: An analysis of 366 cases. Oncol Lett. [Internet]. 2018 Jun;15(6):9766-9776. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6004691/
82. Lou HZ, Wang CH, Pan HM, Pan Q, Wang J. Colonic metastasis after resection of primary squamous cell carcinoma of the lung: a case report and literature review. World J Gastroenterol. [Internet]. 2014 May 21;20(19):5930-4. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4024805/
83. Pagadala M, Wu VH, Pérez-Guijarro E, Kim H, Castro A, Talwar J, et al. Germline modifiers of the tumor immune microenvironment implicate drivers of cancer risk and immunotherapy response [Internet]. bioRxiv. 2021. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Available from: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.04.14.436660v1.full.pdf

84. Gu Y, Yan C, Wang T, Hu B, Zhu M, Jin G. Construction and evaluation of the functional polygenic risk score for gastric cancer in a prospective cohort of the European population. Chin Med J (Engl). [Internet]. 2023 Jul 20;136(14):1671-1679. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10344526/
85. Yoon Ming C. Genome-Wide Association Studies Of Nasopharyngeal Carcinoma In The Malaysian Chinese Cohort Using Single Genes, Meta-Analysis And Pathway Analysis Approaches. [Internet]. 2017. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://core.ac.uk/download/pdf/268879332.pdf
86. Taher I, Almaeen A, Ghazy A, Abu-Farha M, Mohamed Channanath A, Elsa John S, Hebbar P, Arefanian H, Abubaker J, Al-Mulla F, Alphonse Thanaraj T. Relevance between COVID-19 and host genetics of immune response. Saudi J Biol Sci. [Internet]. 2021 Nov;28(11):6645-6652. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8285220/
87. Chahal HS, Wu W, Ransohoff KJ, Yang L, Hedlin H, Desai M, Lin Y, Dai HJ, Qureshi AA, Li WQ, Kraft P, Hinds DA, Tang JY, Han J, Sarin KY. Genome-wide association study identifies 14 novel risk alleles associated with basal cell carcinoma. Nat Commun. [Internet]. 2016 Aug 19;7:12510. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4992160/
88. Landi MT, Bishop DT, MacGregor S, Machiela MJ, Stratigos AJ, Ghiorzo P, et al. Genome-wide association meta-analyses combining multiple risk phenotypes provide insights into the genetic architecture of cutaneous melanoma susceptibility. Nat Genet [Internet]. 2020;52(5):494–504. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://discovery.dundee.ac.uk/ws/portalfiles/portal/49101917/Landi_2019_Supplementary_Note_NG_A52232R2_31012020.pdf
89. Liao X, Yu L, Liu X, Han C, Yu T, Qin W, Yang C, Zhu G, Su H, Peng T. Genome-wide association pathway analysis to identify candidate single nucleotide polymorphisms and molecular pathways associated with TP53 expression status in HBV-related hepatocellular carcinoma. Cancer Manag Res. [Internet]. 2018 May 1;10:953-967. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5937480/
90. Association of the variant form of rs17408553 at Human Leukocyte Antigen-C supports evidence that hypo-responsive natural killer cells adversely influence the course of nephritis [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [Internet]. 2018 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://acrabstracts.org/abstract/association-of-

the-variant-form-of-rs17408553-at-human-leukocyte-antigen-c-supports-evidence-that-hypo-responsive-natural-killer-cells-adversely-influence-the-course-of-nephritis/

91. Martínez-Montiel N, Rosas-Murrieta N, Martínez-Contreras R. Regulación del splicing alternativo: Implicaciones en el diagnóstico y tratamiento del cáncer. Med Clin (Barc) [Internet]. 2015;144(7):317–23. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025775314001985
92. Poon KS. In silico analysis of BRCA1 and BRCA2 missense variants and the relevance in molecular genetic testing. Sci Rep. [Internet]. 2021 May 27;11(1):11114. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8160182/
93. Chinn IK, Chan AY, Chen K, Chou J, Dorsey MJ, Hajjar J, et al. Diagnostic interpretation of genetic studies in patients with primary immunodeficiency diseases: A working group report of the Primary Immunodeficiency Diseases Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2019;145(1):46–69. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31568798/
94. Yazar M, Ozbek P. Assessment of 13 in silico pathogenicity methods on cancer-related variants. Comput Biol Med [Internet]. 2022;145:105434. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35364305/
95. Sim N-L, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. Nucleic Acids Res [Internet]. 2012; 40(Web Server issue):W452-7. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22689647/
96. Matthias Kloor, Miriam Reuschenbach, Claudia Pauligk, Julia Karbach, Mohammad-Reza Rafiyan, Salah-Eddin Al-Batran, Mirjam Tariverdian, Elke Jäger, Magnus von Knebel Doeberitz; A Frameshift Peptide Neoantigen-Based Vaccine for Mismatch Repair-Deficient Cancers: A Phase I/IIa Clinical Trial. Clin Cancer Res. [Internet]. 1 September 2020; 26 (17): 4503–4510. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://aacrjournals.org/clincancerres/article/26/17/4503/82705/A-Frameshift-Peptide-Neoantigen-Based-Vaccine-for
97. "Página principal". Iospress.com. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://content.iospress.com/articles/cancer-biomarkers/dma-a344
98. David JM, Dominguez C, McCampbell KK, Gulley JL, Schlom J, Palena C. A novel bifunctional anti-PD-L1/TGF-β Trap fusion protein (M7824) efficiently reverts mesenchymalization of human lung cancer cells. Oncoimmunology [Internet].

2017;6(10):e1349589. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29123964/

99. Grenga I, Donahue RN, Gargulak ML, Lepone LM, Roselli M, Bilusic M, et al. Anti-PD-L1/TGFβR2 (M7824) fusion protein induces immunogenic modulation of human urothelial carcinoma cell lines, rendering them more susceptible to immune-mediated recognition and lysis. Urol Oncol [Internet]. 2018; 36(3):93.e1-93.e11. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1078143917305240?via%3Dihub

100. Knudson KM, Hicks KC, Luo X, Chen J-Q, Schlom J, Gameiro SR. M7824, a novel bifunctional anti-PD-L1/TGFβ Trap fusion protein, promotes anti-tumor efficacy as monotherapy and in combination with vaccine. Oncoimmunology [Internet]. 2018; 7(5):e1426519. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2018.1426519

101. Kloor M, von Knebel Doeberitz M. The immune biology of microsatellite-unstable cancer. Trends Cancer [Internet]. 2016; 2(3):121–33. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.cell.com/trends/cancer/abstract/S2405-8033(16)00035-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405803316000352%3Fshowall%3Dtrue

102. Pastor DM, Schlom J. Immunology of Lynch syndrome. Curr Oncol Rep [Internet]. 2021; 23(8). [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s11912-021-01085-z

103. Chang K, Taggart MW, Reyes-Uribe L, Borras E, Riquelme E, Barnett RM, et al. Immune profiling of premalignant lesions in patients with lynch syndrome. JAMA Oncol [Internet]. 2018 [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2679035

104. Koornstra JJ, de Jong S, Boersma-van Eck W, Zwart N, Hollema H, de Vries EGE, et al. Fas ligand expression in lynch syndrome-associated colorectal tumours. Pathol Oncol Res [Internet]. 2009;15(3):399–406. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s12253-008-9136-7

105. Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. Nat Rev Mol Cell Biol [Internet]. 2006 ;7(5):335–46. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.nature.com/articles/nrm1907

106. Ijsselsteijn R, Jansen JG, de Wind N. DNA mismatch repair-dependent DNA damage responses and cancer. DNA Repair (Amst) [Internet]. 2020; 93(102923):102923.

[citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568786420301725?via%3Dihub

107. Gupta D, Heinen CD. The mismatch repair-dependent DNA damage response: Mechanisms and implications. DNA Repair (Amst) [Internet]. 2019; 78:60–9. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568786418303094?via%3Dihub
108. Lu C, Guan J, Lu S, Jin Q, Rousseau B, Lu T, et al. DNA sensing in mismatch repair-deficient tumor cells is essential for anti-tumor immunity. Cancer Cell [Internet]. 2020; 39(1):96-108.e6. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33338425/
109. Inmunología, Universidad de Buenos Aires, [Internet]. 2024. Uba.ar. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2024-03/Seminario%202.%20Inmunidad%20innata%20parte%202.%202024..pdf
110. De Miranda NFCC, Goudkade D, Jordanova ES, Tops CMJ, Hes FJ, Vasen HFA, et al. Infiltration of Lynch colorectal cancers by activated immune cells associates with early staging of the primary tumor and absence of lymph node metastases. Clin Cancer Res [Internet]. 2012;18(5):1237–45. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22261803/
111. Walkowska J, Kallemose T, Jönsson G, Jönsson M, Andersen O, Andersen MH, et al. Immunoprofiles of colorectal cancer from Lynch syndrome. Oncoimmunology [Internet]. 2018;8(1):e1515612. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30546958/
112. Santillán VGP, García DR, Zagoya JCD. Aminoácidos [Internet]. Unidades de Apoyo para el Aprendizaje - CUAIEED - UNAM. [citado el 23 de noviembre del 2024]. Disponible en: https://repositorio-uapa.cuaieed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2563/mod_resource/content/5/UAPA-Aminoacidos/index.html

X. ANEXOS

X.1. Comité de ética

USMP
UNIVERSIDAD DE SAN MARTÍN DE PORRES

La Molina, 12 de abril de 2016

Oficio No. 417 - 2016 - CIEI-USMP-CCM

Señor Doctor
José Luis Buleje Sono
Laboratorio de Genética y Biología Moleculas
Facultad de Medicina Humana - USMP
Presente

Ref. Proyecto: "Análisis de biomarcadores predictivos de respuesta a tratamiento contra el cáncer."

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que en cumplimiento de las buenas prácticas clínicas y la legislación peruana vigente en materia de investigación científica en el campo de la salud, el Comité de mi presidencia, en la **sesión del 11 de abril evaluó y aprobó** el siguiente documento:

- **Hoja Informativa para el Paciente, Versión 29 – 03 - 2016**

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines que correspondan

Atentamente,

USMP
UNIVERSIDAD DE SAN MARTÍN DE PORRES
Dr. Amador Vargas Guerra
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación
de la Universidad de San Martín de Porres - Clínica CadeMujer

X.2. Consentimiento informado

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO

Título del estudio: Análisis de Biomarcadores predictivos de respuesta a tratamiento contra el cáncer.

Investigador principal: José Luis Buleje Sono, PhD
Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Facultad de Medicina Humana. Universidad de San Martín de Porres.

Equipo de investigación en el Hospital Edgardo Rebagliati Martins:

Nombre/Título	Título	Número de teléfono
Ana Prötzel Pinedo	MD	2654901 *3681
Milagros M. Dueñas Roque	MD	2654901 *3681
Ruth Yábar Yábar	MD	2654901 *3681
Giulliana Chávez Pasco	MD	2654901 *3591

Si tiene alguna pregunta sobre sus derechos como participante del presente estudio de investigación, puede llamar al presidente del Comité de Ética del Hospital Dr. Julio César Alfaro o a uno de sus miembros, al número de teléfono:2654901 anexo 3080 o contactar al correo electrónico comiteticarebagliatis@hotmail.com

1. Declaración de los investigadores:

Usted tiene la opción de participar en un estudio de investigación. Los objetivos de este formulario son darle información sobre lo que sucedería en el estudio si usted decide participar y ayudarle a decidir si desea participar en el estudio. Usted puede tomar notas, escribir preguntas o resaltar cualquier parte de este formulario.

2. Lo que usted debe saber sobre este estudio:

- Este formulario explica lo que pasaría si participa en este estudio de investigación.
- Por favor, léalo con cuidado, tómese el tiempo que necesite.
- Por favor, pregunte al equipo de investigación sobre cualquier cosa que no esté clara.
- Usted puede hacer preguntas sobre el estudio en cualquier momento.
- Si usted decide no participar en el estudio, eso no afectará su atención médica en el **Hospital Edgardo Rebagliati Martins.**
- Si usted dice "Sí" ahora, todavía puede cambiar de opinión más tarde.
- Usted puede elegir dejar el estudio en cualquier momento.
- Usted no perderá beneficio alguno ni será penalizado si decide no participar en el estudio o si decide retirarse del estudio posteriormente.

X.3.Lista de abreviaturas de aminoácidos

Lista de abreviaturas de aminoácidos			
A	Alanina	**M**	Metionina
C	Cisteína	**N**	Asparagina
D	Ácido aspártico	**P**	Prolina
E	Ácido glutámico	**Q**	Glutamina
F	Fenilalanina	**R**	Arginina
G	Glicina	**S**	Serina
H	Histidina	**T**	Treonina
I	Isoleucina	**V**	Valina
K	Lisina	**W**	Triptófano
L	Leucina	**Y**	Tirosina

Fuente: Santillán VGP, et al[111].