



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

**ANÁLISIS DE MUTACIONES SOMÁTICAS EN SAMHD1, GNL1, POLE, MRE11 Y  
ASXL2 COMO MINI IMPULSORES EN ADENOCARCINOMA COLORRECTAL**

**Línea de investigación:**

**Genética, bioquímica y biotecnología**

Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología

**Autor:**

Campos Segura, Anthony Vladimir

**Asesora:**

Gutiérrez Román, Ana Isabel Flor  
(ORCID: 0000-0002-7020-7387)

**Jurado:**

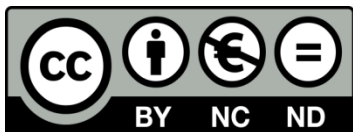
Rodrigo Rojas, María Elena  
Velarde Vílchez, Mónica Margarita  
Mayanga Herrera, Ana Lucía

**Lima - Perú**

**2022**

**Referencia:**

Campos, A. (2022). *Análisis de mutaciones somáticas EN SAMHD1, GNL1, POLE, MRE11 y ASXL2 como mini impulsores en adenocarcinoma colorrectal*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6389>



**Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)**

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

ANÁLISIS DE MUTACIONES SOMÁTICAS EN *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11*  
Y *ASXL2* COMO MINI IMPULSORES EN ADENOCARCINOMA  
COLORRECTAL

**Línea de Investigación:**

Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

**Autor:**

Campos Segura, Anthony Vladimir

**Asesora:**

Gutiérrez Román, Ana Isabel Flor

ORCID: 0000-0002-7020-7387

**Jurado:**

Rodrigo Rojas, María Elena

Velarde Vílchez, Mónica Margarita

Mayanga Herrera, Ana Lucia

**Lima – Perú**

**2022**

## **DEDICATORIA**

Primero doy gracias a Dios, y dedico de manera especial esta tesis a mis padres Juan y Rosa por todo el apoyo y comprensión brindados hasta este momento de mis estudios, ellos siempre han estado presentes para apoyarme moral, psicológicamente y fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional.

También hago una mención especial en esta tesis a mi tía Eliza ya que ella me enseñó las bases de la responsabilidad y deseos de superación junto a un apoyo y motivación constante para lograr mis metas propuestas.

## **AGRADECIMIENTOS**

La ejecución de esta tesis fue posible en parte gracias a la ayuda financiera proporcionada por el Vicerrectorado académico de Investigación (VRIN) en el Concurso Complementario de Tesis Graduación Oportuna 2021 con Resolución N° 9343-2021-UNFV.

Doy las gracias a la profesora Ana Gutiérrez por todo el apoyo brindado durante mi formación académica, durante el desarrollo de esta tesis y por la enseñanza de valores éticos como investigador.

También agradezco profundamente al PhD(c) Alexis German Murillo Carrasco investigador acreditado del Instituto do Cancer do Estado de Sao Paulo por todas las capacitaciones brindadas en el tema y el apoyo incondicional durante el desarrollo de esta tesis.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	8
1.1	Descripción y formulación del problema.....	8
1.2	Antecedentes .....	11
1.3	Objetivos .....	14
1.3.1	<i>Objetivo general</i> .....	14
1.3.2	<i>Objetivos específicos</i> .....	14
1.4	Justificación.....	14
1.5	Hipótesis.....	15
II.	MARCO TEÓRICO.....	16
2.1	Adenocarcinoma colorrectal o cáncer colorrectal.....	16
2.2	El modelo “mini-driver” de la evolución del cáncer poligénico.....	16
2.3	Mutaciones en el gen <i>SAMHD1</i> y su papel en el inicio de la oncogénesis .....	17
2.4	Papel del gen <i>GNL1</i> en el desarrollo de la oncogénesis.....	19
2.5	Implicancia de las mutaciones del gen <i>POLE</i> y su importancia en el cáncer .....	22
2.6	Mutaciones en el gen <i>MRE11</i> y su papel en el desarrollo del cáncer colorrectal .....	23
2.7	Mutaciones en el gen del regulador transcripcional <i>ASXL2</i> y su relación con el desarrollo del cáncer colorrectal .....	25
III.	MÉTODO .....	27
3.1	Tipo de investigación .....	27

3.2	Ámbito temporal espacial.....	27
3.3	Variables.....	28
3.3.1	<i>Variable dependiente</i> .....	28
3.3.2	<i>Variable independiente</i> .....	28
3.4	Población y muestra .....	29
3.4.1	<i>Criterios de inclusión</i> .....	29
3.4.2	<i>Criterio de exclusión</i> .....	29
3.5	Instrumentos .....	29
3.6	Procedimientos .....	30
3.6.1	<i>Búsqueda de datos</i> .....	30
3.7	Análisis de datos.....	30
3.7.1	<i>cBioPortal para genómica del cáncer</i> .....	30
3.7.2	<i>Análisis con “GEO2” y “GEO2R”</i> .....	31
3.7.3	<i>Análisis de expresión génica por el servidor “UALCAN”</i> .....	32
3.7.4	<i>Expresión concomitante de genes utilizando “The R Project for Statistical Computing”</i> .....	32
IV.	RESULTADOS.....	34
4.1	Búsqueda de datos .....	34
4.2	cBioPortal para genómica del cáncer .....	35
4.2.1	<i>Análisis según las características clínicas</i> .....	39

4.3	Análisis de expresión génica por el servidor “UALCAN” .....	44
4.4	Expresión positiva concomitante de genes utilizando “The R Project for Statistical Computing” .....	45
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	51
VI.	CONCLUSIONES .....	67
VII.	RECOMENDACIONES.....	69
VIII.	REFERENCIAS .....	70
IX.	ANEXOS .....	85



## RESUMEN

El Adenocarcinoma colorrectal o Cáncer Colorrectal (CCR) se clasifica como la tercera neoplasia más común y la segunda causa principal de mortalidad a nivel mundial. En este estudio exploramos mediante un análisis bioinformático el impacto de mutaciones y expresión de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* como potenciales mini impulsores en Adenocarcinoma Colorrectal. Este estudio es netamente documental, experimental, exploratorio e informativo. Utilizamos 3 bases de datos de importancia molecular y bioinformática: COSMIC con 9490 muestras, TCGA con 461 y cBioportal con 1351. Utilizamos como principales herramientas de análisis los portales web del cBioportal, GEO, GEO2R, UALCAN y el lenguaje de programación The R Project for Statistical Computing para el análisis de enriquecimiento por vías metabólicas. Tres de los 5 genes evaluados (*GNL1*, *POLE* y *MRE11*) mostraron sobreexpresión en pacientes con CCR en relación con los controles ( $p < 0.01$ ). En relación con los genes coexpresados, *GNL1*, *POLE* y *MRE11* presentaron respectivamente 3689, 1550 y 3529 genes de co-expresión positiva, los cuales enriquecen vías metabólicas asociadas a la respuesta inmunológica, ciclo celular, procesamiento de factores de transcripción, control de la expresión génica y mecanismos de reparo del DNA. Estas vías moleculares están directamente asociadas a algunos Hallmarks (sellos distintivos del cáncer) como: el mantenimiento de la señal proliferativa, resistencia a la muerte celular y la evasión del sistema inmunológico. Esta relación directa con los *Hallmarks* podría confirmarnos el significativo papel de *GNL1*, *MRE11* y *POLE* en la aparición del Adenocarcinoma Colorrectal.

*Palabras claves:* genes impulsores, sellos distintivos del cáncer, oncogénesis.

## ABSTRACT

Colorectal adenocarcinoma or Colorectal Cancer (CRC) is classified as the third most common neoplasm and the second leading cause of mortality worldwide. In this study we explore the impact of mutations and expression of *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* and *ASXL2* genes as potential mini-drivers in Colorectal Adenocarcinoma through bioinformatic analysis. This study is purely documentary, experimental, exploratory, and informative. We use 3 databases of molecular and bioinformatics importance: COSMIC with 9490 samples, TCGA with 461 and cBioportal with 1351. As main analysis tools, we use the web portals of cBioportal, GEO, GEO2R, UALCAN and the programming language The R Project for Statistical Computing for the analysis of enrichment by metabolic pathways. Three of the 5 genes evaluated (*GNL1*, *POLE* and *MRE11*) showed overexpression in CRC patients compared to controls ( $p < 0.01$ ). In relation to the co-expressed genes, *GNL1*, *POLE* and *MRE11* presented 3689, 1550 and 3529 positive co-expression genes, respectively, which enrich metabolic pathways as associated with the immune response, cell cycle, transcription factor processing, expression control gene and DNA repair mechanisms. These molecular pathways are directly associated with some Hallmarks (Distinctive Hallmarks of Cancer) such as: maintenance of the proliferative signal, resistance to cell death and evasion of the immune system. This direct relationship with the Hallmarks could confirm the significant role of *GNL1*, *MRE11* and *POLE* in the appearance of Colorectal Adenocarcinoma.

*Keywords:* driver genes, hallmarks of cancer, oncogenesis.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha reportado un aumento considerable en los casos de cáncer colorrectal (CCR) de aparición temprana en pacientes menores de 50 años en países de Europa y América (Sinicrope, 2022). La presentación clínica inicial como CCR ocurre aproximadamente en el 20% de los pacientes, sabiendo que, el 50% de los pacientes con enfermedad localizada, eventualmente desarrollan metástasis (Ciardiello et al., 2022). La investigación sobre el tratamiento integral del cáncer colorrectal ha seguido en aumento, y la terapia combinada con un agente dirigido es el principal método de tratamiento para los pacientes con cáncer colorrectal (Weng et al., 2022).

Con el progreso continuo de los países en desarrollo, se estima que para el año 2035 la incidencia de cáncer colorrectal en todo el mundo aumente a 2,5 millones de nuevos casos (Dekker et al., 2019). Además, en estudios epidemiológicos, el sexo masculino y el aumento de la edad han mostrado consistentemente fuertes asociaciones con la incidencia de esta patología (Henrikson et al., 2015). Mientras que, el régimen de medicación se desarrolla continuamente es difícil hacer avances en la terapia del CCR cuyo pronóstico sigue siendo pobre con una mediana de supervivencia general de solo 25 a 30 meses (Chibaudel et al., 2015).

Debido a esto, encontrar nuevos impulsores de la progresión tumoral nos ayudaría a clasificar a los pacientes de acuerdo con un mejor pronóstico, mejorar el ritmo hospitalario, poder administrar mejor los recursos de los pacientes y proporcionar una perspectiva completa sobre la progresión del CCR.

### 1.1 Descripción y formulación del problema

El Adenocarcinoma Colorrectal o cáncer colorrectal fue la cuarta neoplasia con mayor frecuencia mundial con un 6.1% de incidencia en el año 2018 (Bray et al., 2018b). Este cáncer

maligno presentó 1.8 millones de nuevos casos y también es considerado como la segunda causa de muerte a nivel mundial con un 9.2% de incidencia (Ferlay et al., 2019). En el año 2020 GLOBOCAN reportó un aproximado de 19.3 millones de nuevos casos de cáncer y 10.0 millones de muertes por cáncer, de los cuales el CCR actualmente ocupa el tercer lugar como la neoplasia más diagnosticada con un 10% (1.93 millones de casos) de incidencia y ocupa el segundo lugar como principal causa de muerte con un 9.4% (Sung et al., 2021). Del año 2018 al 2020 la incidencia y mortalidad de cáncer colorrectal aumentaron considerablemente.

La mayoría de las investigaciones en genética del cáncer se han centrado en identificar las mutaciones somáticas más importantes a las cuales denominaron “Impulsores principales”. Sin embargo, muchas de las mutaciones encontradas en el cáncer podrían no ser impulsoras principales, sino que podrían tener efectos promotores de tumores relativamente débiles y a este tipo de mutaciones se les denomina “mini impulsores” (Castro-Giner et al., 2015).

Para poder entender la implicancia de estos genes en el desarrollo de la oncogénesis debemos mencionar el papel que desempeña cada uno dentro de esta neoplasia. Las mutaciones en el gen *SAMHD1* (Dominio SAM y dominio HD que contienen desoxinucleósido trifosfato trifosfohidrolasa) asociadas al CCR bloquean su actividad como dNTPasa o varían su especificidad, lo que conduce a una degradación desigual de los dNTP. Este desequilibrio en la concentración de dNTP disminuye fuertemente la fidelidad de la replicación del DNA elevando la frecuencia mutacional. Estos datos sugieren que las mutaciones heterocigotas en *SAMHD1* asociadas con cáncer elevan la tasa mutacional en células cancerosas (Rentoft et al., 2016).

El gen *GNLI* (Proteína G Nucleolar 1) modula positivamente la expresión de la *RPS20* (Proteína Ribosomal S20) y promueve la proliferación celular. El agotamiento de *GNLI* y *RPS20* endógenos retrasa la transición de fase G1 a S del ciclo celular al reducir el nivel de proteína del

retinoblastoma hiperfosforilado. Además, el bloqueo de *GNL1* y *RPS20* reduce la capacidad de formación de colonias de la línea celular en cáncer de colon. Todos estos datos evidencian que las mutaciones que regulan el incremento de la expresión de *GNL1* más su relación con *RPS20* desempeñan un papel importante en el desarrollo de la oncogénesis (Krishnan et al., 2018).

Las DNA polimerasas, involucradas principalmente en la replicación del DNA, presentan un mecanismo de reparación del DNA y corrigen los malos emparejamientos de bases. El gen *POLE* (Gen de la subunidad catalítica de la DNA polimerasa épsilon) codifica una proteína de 59 kDa que desempeña un papel importante en la replicación del DNA. Las mutaciones presentes en el gen *POLE* son muy raras, pero se pueden identificar en algunas enfermedades, como inmunodeficiencia combinada y adenomas colorrectales. Lamentablemente, la función biológica exacta y el significado clínico de *POLE* siguen sin conocerse (Su et al., 2020).

El complejo MRN (*MRE11-RAD50-NBS1*) es un heterotrímero que consta de *MRE11* (Recombinación meiótica 11), *RAD50* (Proteína reparadora de ADN Rad50) y *NBS1* (Síndrome de rotura de Nijmegen) (Situ et al., 2019b). Las mutaciones en el gen *MRE11* se asocian con una mayor susceptibilidad al CCR, especialmente en relación con una mayor inestabilidad de microsatélites (Chubb et al., 2016). Las mutaciones de *MRE11* ocurren en la mayoría de los CCRs primarios defectuosos por reparación de errores de emparejamiento (MMR), y aproximadamente el 15% de los CCR presentan inestabilidad de microsatélites (MSI) (Ortiz et al., 2016).

El papel del gen *ASXL2* (Regulador transcripcional *ASXL2*) en la aparición y desarrollo de tumores se ha estudiado ampliamente en los últimos años. *ASXL2* es considerado como un potenciador de los genes *trithorax* y *polycomb* que se ha demostrado que actúan en muchos tipos de tumores. Las mutaciones con regulación al alza de *ASXL2* se encuentran significativamente en muestras de CCR. Sin embargo, la relación entre *ASXL2* y el pronóstico del CCR aún no está clara

(Cui et al., 2020). Por lo que nos preguntamos: ¿Se puede explorar mediante análisis bioinformático el impacto de las mutaciones somáticas en los genes *SAMHDI*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* como potenciales mini impulsores del Adenocarcinoma colorrectal?

## 1.2 Antecedentes

Los avances recientes en la secuenciación del genoma completo han revelado que los cánceres humanos a menudo contienen miles de mutaciones subclonales. Rentoft (2016) planteó que incluso las pequeñas variaciones en las concentraciones de dNTP disminuyen la fidelidad de la replicación del ADN y como consecuencia se obtendría un aumento de la tasa mutacional. Para abordar esta incógnita, ellos compararon grupos de dNTP en embriones de ratones silvestres, embriones de ratones heterocigotos *SAMHDI*<sup>+/-</sup> (Gen inactivo en un alelo) y embriones de ratones homocigotos *SAMHDI*<sup>-/-</sup> (Gen inactivo en ambos alelos) con 13,5 días de desarrollo. Como se esperaba, los conjuntos de dNTP aumentaron significativamente en embriones *SAMHDI*<sup>-/-</sup> homocigotos.

Es importante destacar que los embriones heterocigotos *SAMHDI*<sup>+/-</sup> también tenían grupos de dNTP elevados y desequilibrados en comparación con los ratones silvestres, y los conjuntos de dCTP y dTTP aumentaron en 40%, dATP en 60% y dGTP en 20%. Estos datos sugieren fuertemente que las mutaciones de *SAMHDI* heterocigotas asociadas al CCR afectan negativamente su actividad de dNTPasa y aumenta los grupos de dNTP in vivo. La determinación de grupos de dNTP en embriones de ratón reveló que la inactivación de *SAMHDI* en un alelo es suficiente para elevar las reservas de dNTP. Estas observaciones sugieren que las mutaciones de *SAMHDI* asociadas al cáncer heterocigotas aumentan las tasas de mutación en las células cancerosas.

Krishnan (2018) informó por primera vez la acción de *GNL1* como promotor del ciclo celular y la proliferación al inducir la hiperfosforilación de la proteína del retinoblastoma. Además, mencionan que la correlación inversa de la expresión de *GNL1* y *RPS20* en cánceres primarios de colon y gástrico (con la supervivencia del paciente) refuerzan su importancia crítica durante la oncogénesis. Ellos analizaron los patrones de expresión de *GNL1* en diferentes cánceres con los respectivos tejidos normales disponibles en la base de datos Bio-Xpress. Los resultados de este análisis sugirieron que la expresión de *GNL1* se incrementó en la mayoría de los cánceres. Basándose en el patrón de expresión de *GNL1*, se seleccionaron sistemas de líneas celulares de CCR y cáncer gástrico para comprender mejor la relevancia funcional de la regulación positiva de *GNL1* durante la oncogénesis.

Para ello, primero determinaron la supervivencia y proliferación celular mediante ensayos de incorporación de MTT y BrdU sobre la expresión ectópica de *GNL1* en líneas celulares de CCR (HCT116 p53<sup>+/+</sup>) y gástrico (AGS). Los resultados indicaron que *GNL1* 1–607 -GFP (en lo sucesivo denominado *GNL1* 1–607) aumentó la viabilidad celular y la proliferación de ambas líneas celulares probadas. Por el contrario, el agotamiento de *GNL1* por shRNA específico redujo significativamente la viabilidad celular y la proliferación de HCT116<sup>+/+</sup> p53 así como líneas celulares AGS. Juntos, estos datos sugieren que *GNL1* promueve la supervivencia y la proliferación celular en líneas celulares cancerosas.

Guerra (2017) realizó un cribado de mutaciones somáticas del dominio de exonucleasa de *POLE* (exones 9-14) mediante secuenciación Sanger buscando mutaciones en el dominio de exonucleasa del gen en muestras de ADN tumoral de 307 pacientes con CCR. Ellos identificaron tres mutaciones heterocigotas en dos casos (T286 y T368), lo que corresponde a una frecuencia de mutaciones somáticas de *POLE* del 0.65%. Un tumor (T286) presentó una

mutación *missense* en el gen *POLE* (c.857C> G, p. Pro286Arg), y otro tumor (T368) presentó dos mutaciones de sentido erróneo (c.901G> A, p. Asp301Asn; y c.1376C> T, p. Ser459Phe). Se prevé que todas estas alteraciones tengan un efecto directo en la función de corrección de pruebas del DNA.

Vilar (2011) evaluaron el estado mutacional de *MRE11* en un panel de 17 líneas celulares de CCR y 46 tumores primarios y encontraron una fuerte correlación con el estado de MSI (Inestabilidad microsatelital) tanto en líneas celulares como en tumores. Debido a esto plantearon la hipótesis de que la deficiencia de *MRE11* puede sensibilizar a las células de CCR a la inhibición de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP-1) según el concepto de letalidad sintética. También resaltan la presencia de mutaciones frecuentes en un tracto poli (T) 11 específico ubicado en el intrón 4 de *MRE11* en tumores colorrectales con MSI que es consistente con informes previos, lo que confirmaría que MSI está fuertemente asociado con esta mutación.

Cui (2020) utilizaron la reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR), el análisis de transferencia Western y pruebas de inmunohistoquímica (IHC) para examinar la expresión de *ASXL2* en tejidos de CCR. Este estudio demostró que *ASXL2* se expresó significativamente más en muestras de CCR que en tejidos adyacentes normales. La regulación al alza de *ASXL2* se relacionó con el estadio clínico avanzado. Los pacientes que exhibieron altos niveles de expresión de *ASXL2* tuvieron una menor supervivencia general, mientras que aquellos con baja expresión de *ASXL2* sobrevivieron más tiempo. Estos resultados mostraron que *ASXL2* podría inducir la proliferación celular, que se asoció con un mal pronóstico de los pacientes con CCR, lo que sugiere que *ASXL2* podría ser una nueva diana terapéutica para el CCR.



### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Explorar mediante análisis bioinformático el impacto de mutaciones y expresión de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* como potenciales mini impulsores en Adenocarcinoma Colorrectal.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

Analizar y estudiar la frecuencia e incidencia de las mutaciones en los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* en datos de muestras de tumores de las bases de datos COSMIC, TCGA y cBioPortal.

Determinar si las mutaciones o la expresión de *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* podrían ser consideradas como “mini impulsores” dentro de la evolución del cáncer poligénico.

### **1.4 Justificación**

Múltiples trabajos consideran que el desarrollo del CCR es dependiente de las ganancias y pérdidas en el material genético, así como del estado mutacional de los genes que participan en la vía del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) (Martínez, 2019). Los genes con mayor frecuencia mutacional presentes en el desarrollo del CCR son: *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53*, *APC* entre otros (Thierry et al., 2014). En comparación con *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11* y *ASXL2*, genes que presentan mutaciones con efectos promotores de tumores relativamente bajos y a pesar de que el efecto de cada mutación sea débil, en conjunto, pueden aumentar o agravar el desarrollo de la oncogénesis actuando en sinergia (Castro-Giner et al., 2015).

La finalidad de este estudio es determinar el papel y la importancia de las mutaciones en los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* que presentan un bajo porcentaje de incidencia, así como su expresión, como impulsores de la oncogénesis en el desarrollo del Adenocarcinoma Colorrectal. También buscamos determinar que, debido a la baja frecuencia

mutacional, estos genes mutados podrían ser considerados como “mini impulsores” y de esta forma proporcionar una perspectiva completa del desarrollo de la oncogénesis en el Adenocarcinoma Colorrectal.

Encontrar nuevos impulsores de la oncogénesis nos ayudaría a clasificar a los pacientes de acuerdo con un mejor pronóstico, el ritmo hospitalario podría administrar mejor los recursos de los pacientes y a futuro podríamos sentar las bases para el desarrollo de nuevas terapias dirigidas al cáncer. Creemos que las mutaciones con baja frecuencia poblacional por sí solas no son suficiente para dar inicio al desarrollo del tumor, pero según la teoría del modelo “mini impulsor” de la evolución del cáncer poligénico, un conjunto numeroso de estos mini impulsores podría sustituir a uno o algunos “impulsores principales” durante el inicio de la oncogénesis. Por lo cual en este trabajo proponemos las siguientes hipótesis:

### **1.5 Hipótesis**

Ha: La expresión génica y las mutaciones somáticas en *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* propician la acción de estos genes como “mini impulsores” y en conjunto a otras mutaciones con baja frecuencia mutacional pueden sustituir a uno o algunos “impulsores principales” durante el inicio de la oncogénesis.

Ho: La expresión génica y las mutaciones somáticas en *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* no propician la acción de estos genes como “mini impulsores” y no pueden sustituir a uno o algunos “impulsores principales” durante el inicio de la oncogénesis.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Adenocarcinoma colorrectal o cáncer colorrectal

El Adenocarcinoma colorrectal, también llamado Cáncer Colorrectal (CCR), a menudo se agrupan debido a sus características en común. Según la Sociedad Americana del Cáncer, el CCR se clasifica como la tercera neoplasia maligna letal más común y la segunda causa principal de mortalidad relacionada con el cáncer a nivel mundial (Siegel et al., 2020). La mayoría de los cánceres colorrectales comienza como un crecimiento en el revestimiento interno del colon o del recto, conocido como pólipos, algunos de los cuales pueden convertirse en cáncer con el paso del tiempo. Pero no todos los pólipos se convierten en cáncer, lo que depende del tipo de pólipo (American Cancer Society, 2018). Los pólipos adenomatosos (adenomas) usualmente se transforman en cáncer por lo que los adenomas se denominan afecciones precancerosas. Los adenocarcinomas representan alrededor del 96% de los cánceres colorrectales y se originan de las células que producen mucosidad para lubricar el interior del colon y recto. Cuando los especialistas hablan de CCR, casi siempre se refieren a este tipo de cáncer (Ballester et al., 2016).

### 2.2 El modelo “mini-driver” de la evolución del cáncer poligénico

Las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) han avanzado enormemente nuestra comprensión de los mecanismos de la carcinogénesis. La capacidad de analizar el genoma completo o el exoma en profundidad en un gran número de tumores ha aumentado sustancialmente la lista de genes impulsores (Kandoth et al., 2013). También ha revelado que tales mutaciones impulsoras no siempre están presentes en el clon tumoral dominante. Esto es clínicamente relevante, porque es probable que el direccionamiento de impulsores subclonales destruya sólo una subpoblación de células tumorales, mientras que el direccionamiento exitoso de variantes clonales puede conducir a la erradicación del tumor (Temko

et al., 2018). Por lo tanto, diferenciar las mutaciones clonales tempranas de las subclonales tardías puede no solo aumentar nuestra comprensión de los mecanismos de la oncogénesis, sino también mejorar el manejo clínico de los pacientes (McGranahan et al., 2015).

Una de las varias características sorprendentes, contrariamente a lo esperado, es que se han encontrado muy pocos genes impulsores, que puedan ser considerados como nuevos marcadores, que estén mutados con una frecuencia alta. En el modelo “mini impulsor” (mini-driver), las mutaciones proporcionan una pequeña ventaja selectiva a la célula cancerosa y, por lo tanto, tienden a aumentar en frecuencia a medida que avanza la carcinogénesis (Hindorff et al., 2011). Sin embargo, no son esenciales para el desarrollo del tumor. Las características propias de las mutaciones “mini impulsoras” incluyen las siguientes: primero, estarían presentes en una pequeña proporción de tumores; segundo, estarían presentes en subclones (porque su débil ventaja selectiva hace menos probable un barrido selectivo); tercero, mostrarían una evolución paralela o convergente entre subclones de cáncer y entre cánceres del mismo tipo; y por último, apuntarían a motivos funcionales implicados en procesos tales como la regulación de la expresión génica, la estabilidad del ARN, el cambio de transcripción, la metilación del ADN y otras características genómicas no codificantes (Castro-Giner et al., 2015). En ocasiones, varios mini conductores pueden sustituir a uno o algunos "conductores principales" durante la oncogénesis en el modelo de la evolución del cáncer poligénico. Los mini impulsores poligénicos también pueden funcionar en combinación con mutaciones de impulsores principales. Si bien es tentador especular que los genes del cáncer pueden comportarse de manera similar, hasta ahora ha habido poca evidencia experimental que respalde este modelo poligénico de oncogénesis de "mini impulsores" (Bennett et al., 2018).

### **2.3 Mutaciones en el gen *SAMHD1* y su papel en el inicio de la oncogénesis**

*SAMHDI* tiene un motivo  $\alpha$  estéril N-terminal (SAM), un dominio central histidina-aspártico (HD) y la proteína 1. Es una trifosfato de desoxirribonucleósido (dNTP) activado por (desoxi) guanosina trifosfato (dGTP / GTP) trifosfohidrolasa involucrada en la homeostasis de dNTP celular (Herold et al., 2017). El dominio SAM es un módulo de interacción proteína-proteína y proteína-ácido nucleico putativo, mientras que el dominio HD es responsable de las actividades como dNTPasa. *SAMHDI* es una dNTPasa que hidroliza los dNTP en desoxirribonucleósidos (dN) y trifosfatos por lo cual es considerado como un importante regulador de los niveles de dNTP celular en células de mamíferos (Ji et al., 2013).

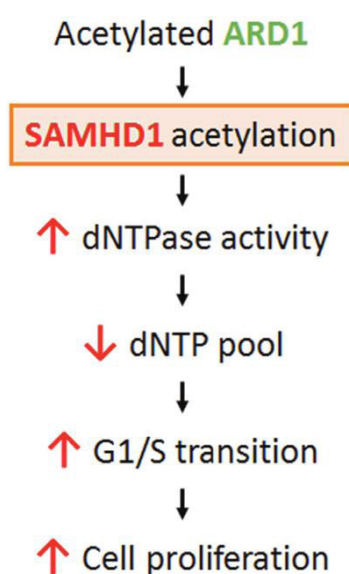
Las nucleasas como “*SAMHDI*” pueden ser afectadas por el estrés replicativo impulsado por oncogenes en el CCR, la expresión de genes de nucleasas también podría estar alteradas por hipometilación de retroelementos endógenos en cánceres de colon (Yang et al., 2017). Se ha demostrado que *SAMHDI* puede desempeñar un papel importante en la regulación de los niveles de dNTP, que son fundamentales para la fidelidad de la síntesis de ADN y la estabilidad del genoma. Estudios moleculares y bioquímicos demostraron que *SAMHDI* se activa por tetramerización alostérica inducida por dGTP, que da forma al bolsillo de unión al sustrato para la unión y catálisis de dNTP (Ji et al., 2013).

Curiosamente, estudios enzimáticos recientes sugirieron que GTP es el principal activador de *SAMHDI* (Ji et al., 2014). La actividad dNTPasa de *SAMHDI* está regulada por acetilación, que promueve la progresión del ciclo celular en las células cancerosas. *SAMHDI* se acetila en el residuo lisina 405 (K405) in vitro e in vivo por una acetiltransferasa, que detiene la proteína defectuosa 1 (ARD1). *SAMHDI* es acetilado por *ARD1*, como se sabe, *ARD1* es oncogénico y la actividad enzimática de *SAMHDI* es relevante para la regulación del ciclo celular, creemos que la acetilación de *SAMHDI* mediada por *ARD1* puede contribuir a la proliferación de células

cancerosas. Al identificar el sitio de acetilación específico de *SAMHD1* y mutarlo para bloquear su acetilación. Estos datos sugieren una función novedosa de acetilación de *SAMHD1* en el crecimiento de células cancerosas (Lee et al., 2017).

### Figura 1

*Mecanismo de acetilación de SAMHD1 mediada por ARD1 en la proliferación de células cancerosas.*



*Nota:* La acetilación de *SAMHD1* mediada por *ARD1* facilita la transición G1/S al reducir los niveles de dNTP y promueve la proliferación de células cancerosas. Tomado de “La acetilación SAMHD1 mejora su actividad desoxinucleótido trifosfohidrolasa y promueve la proliferación de células cancerosas”, por Lee, 2017, *Oncotarget*, 8(40).

## 2.4 Papel del gen *GNL1* en el desarrollo de la oncogénesis

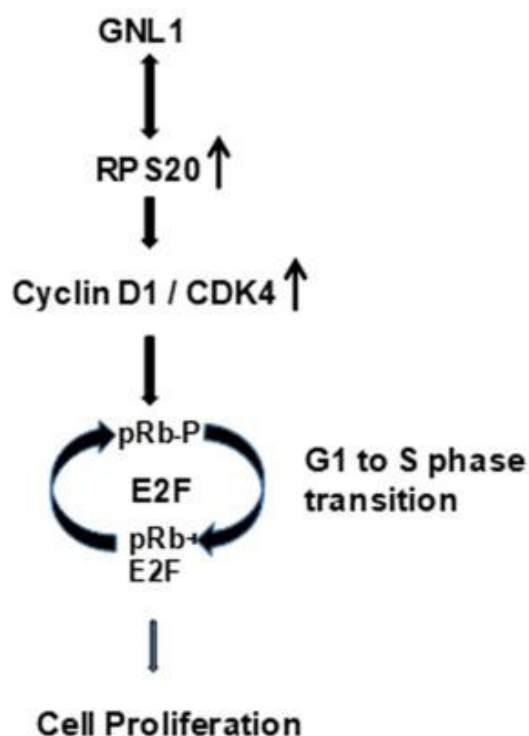
El gen *GNL1* (Proteína G nucleolar) es una proteína putativa GTPasa nucleolar y pertenece a la subfamilia GTPasas YawG/YIqF/HSR1\_MMR1. La subfamilia Yawg/YIqF/HSR1\_MMR1

pertenece a la subclase de GTPasas TRAFAC caracterizada por una permutación circular de sus motivos de firma de GTPasa (G1-5) de modo que G4, -5, y los subdominios -6 se reubican desde el lado C-terminal de la proteína al N-terminal (Du et al., 2006). Recientemente estudios plantearon, por medio de ensayos con dos híbridos de levadura, la importancia de su relación con la proteína ribosómica S20 (*RPS20*) como un nuevo socio funcional de interacción con *GNL1*. Se sugiere que *GNL1* y *RPS20* promueven la fosforilación de la proteína del retinoblastoma (Rb) que a su vez modula la fase G1/S del ciclo de división celular y también resaltan que la interacción entre *GNL1* y *RPS20* es fundamental para promover la proliferación y supervivencia celular durante la oncogénesis (Krishnan et al., 2018).

Se encontró que *GNL1* está altamente regulado en varios tipos de cánceres y además se cree que *GNL1* inhibe la apoptosis modulando la expresión de la familia de proteínas Bcl2 y la división de las caspasas 7 y 8. Además se cree que *GNL1* protege las células de cáncer de colon de la apoptosis inducida por quimio-fármacos (Krishnan et al., 2020).

## Figura 2

*GNL1* y *RPS20* como moduladores de los puntos de control G1/S y G2/M del ciclo celular.



*Nota:* *GNL1* y *RPS20* modula el punto de control G1/S y G2/M del ciclo celular al alterar el estado de la fosforilación de Rb para promover la proliferación celular. Tomado de “La interacción entre *GNL1* nucleolar humano y *RPS20* es fundamental para modular la proliferación celular”, por Krishnan, 2018, Scientific Reports, 8(1).

Curiosamente, *GNL1* regula al alza la expresión de p53 y su diana transcripcional, p21, pero se encontró que la regulación al alza de p21 es dependiente de p53, así como mecanismos independientes. También se piensa que *GNL1* promueve el crecimiento y la supervivencia celular al inducir la retención citoplásmica y la estabilización de p21 a través de la fosforilación mediada por AKT, todos estos informes sugieren que *GNL1* podría regular la red de vías para promover el crecimiento y la supervivencia celular, pero los mecanismos donde este gen se involucra aún



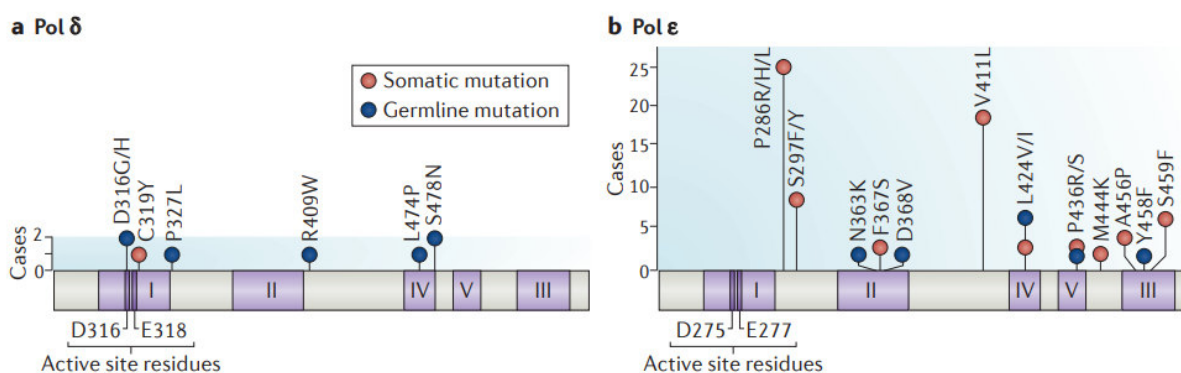
siguen siendo poco conocido (Boddapati et al., 2012).

## 2.5 Implicancia de las mutaciones del gen *POLE* y su importancia en el cáncer

El biomarcador candidato prometedor es la mutación del dominio de corrección de pruebas *POLE* (exonucleasa), detectado en el 6-12% de los cánceres de endometrio, 1-2% de los cánceres colorrectales, y con menos frecuencia en los tumores de estómago, páncreas, mama, y cerebro. *POLE* codifica la subunidad catalítica de la ADN polimerasa  $\epsilon$  (Pol  $\epsilon$ ), que replica la cadena principal de ADN antes de la división celular (Domingo et al., 2016). Los tumores con mutaciones somáticas en el gen *POLE* son notables por su gran inestabilidad genómica y su carga mutacional se encuentra entre las más altas en el cáncer humano (Temko et al., 2018).

### Figura 3

*Frecuencia y ubicación de las mutaciones del dominio de exonucleasa de corrección de pruebas de Pol  $\delta$  y Pol  $\epsilon$  somáticas y de línea germinal en cánceres.*



*Nota:* Una representación esquemática de los dominios de exonucleasa de Pol  $\delta$  (parte a) y Pol  $\epsilon$  (parte b) que muestra motivos exo conservados (I-V), residuos del sitio activo exo I y la posición y frecuencia de la línea germinal y mutaciones somáticas (paneles superiores). Tomado de “Una panoplia de errores: mutaciones de dominio de corrección de polimerasa en cáncer”, por Rayner, 2016, *Cancer*, 16(2).

Recientemente se ha demostrado que las mutaciones en *POLE* predisponen a la poliposis colónica y al cáncer, y que las mutaciones somáticas en este gen ocurren en varios tumores. Entre los más comunes se menciona al cáncer de endometrio, colon y recto. La patogenicidad de estas mutaciones ha sido respaldada por estudios que utilizan mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*, confirmando que las mutaciones en *POLE* reducen o anulan la actividad exonucleasa y aumentan la tasa de mutación (Rayner et al., 2016). Estudios anteriores han identificado una asociación entre la mutación truncante *TP53 R213\** y los cánceres *POLE* mutantes (Shinbrot et al., 2014). Se ha identificado además que este punto de acceso *TP53* se encuentra enriquecido en mutantes *POLE* P286R (62.5%) en el CCR. La mutación que trunca *TP53 R213 \** es causada por una transición C> T en un contexto de penta-nucleótidos de TTCGA, además, se cree que los mutantes *POLE* con esta mutación generalmente tienen una frecuencia relativa más alta (Fang et al., 2020).

La corrección de pruebas *POLE* es esencial para la fidelidad de la replicación y, de acuerdo con esto, su alteración por las mutaciones heterocigotas patogénicas encontradas en los cánceres conduce a un fenotipo de mutación a gran escala tumoral, con una carga de variantes de un solo nucleótido. Posiblemente debido a que su mutación a gran escala provoca un enriquecimiento de nuevos epítomos antigénicos, que a su vez estimula una respuesta citotóxica potente de células T (Domingo et al., 2016). Aunque está claro que las mutaciones somáticas en *POLE* causan un fenotipo mutante y actúan como impulsores del cáncer queda sin respuesta varias preguntas sobre su contribución a la Oncogénesis (Kane & Shcherbakova, 2014).

## **2.6 Mutaciones en el gen *MRE11* y su papel en el desarrollo del cáncer colorrectal**

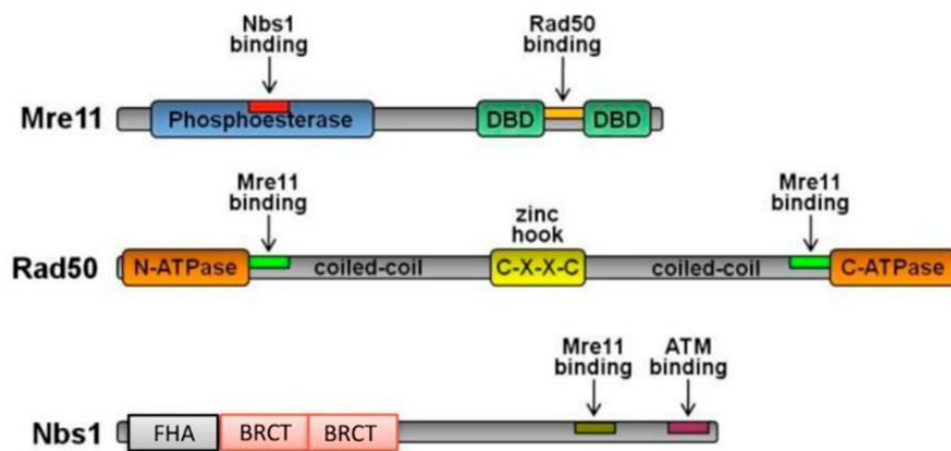
El gen *MRE11* (Gen de Recombinación meiótica 11) está implicado en la recombinación homóloga del DNA, este gen forma un complejo multiprotéico con *RAD50* y *NBS1* (MRN) que indica roturas de ADN de doble hebra y luego recluta otras proteínas que inician la reparación

del ADN (Syed & Tainer, 2018). En estudios realizados con muestras tumorales de CCR con MSI, se observaron mutaciones frecuentes en un tracto poli (T) 11 específico ubicado en el intrón 4 de *MRE11*, lo que confirma que la MSI está fuertemente asociado con las mutaciones en *MRE11* (Vilar et al., 2011).

Las mutaciones en el gen *MRE11* se expresan debido a los fallos en la reparación del DNA generando secuencias repetitivas del material genético (Ortiz et al., 2016). Las mutaciones en *MRE11* se asocian con una mayor susceptibilidad al CCR, especialmente en relación con una mayor inestabilidad de microsatélites (Situ et al., 2019). Estudios anteriores se centraron en mutaciones homocigóticas de la repetición poli (T) 11 dentro del intrón 4 de *MRE11* humano, esta mutación se encuentra exclusivamente en tumores colorrectales primarios deficientes en MMR y conduce a errores de empalme, expresión de *MRE11* reducida y MRN complejo proteico truncado (Ihara et al., 2016).

#### Figura 4

*El complejo MRN y la respuesta al daño del ADN, estructura del dominio de las proteínas MRE11, RAD50 y NBS.*



*Nota:* El complejo MRN es un heterotrímero que consiste en la recombinación meiótica 11

(MRE11), la proteína de reparación de ADN Rad50 (RAD50) y el síndrome de rotura de Nijmegen 1 (NBS1). Tomado de “Complejo MRN (MRE11-RAD50-NBS1) en cáncer humano e implicaciones pronósticas en cáncer colorrectal, por Situ, 2019, International Journal of Molecular Sciences, 20(4).

Las mutaciones en el gen *MRE11* se producen en la mayoría de los cánceres colorrectales primarios defectuosos en la reparación de errores de emparejamiento (MMR), y aproximadamente el 15% de los cánceres colorrectales presentan inestabilidad de microsatélites (MSI) (Chubb et al., 2016). Se cree que la deficiencia de *MRE11* causa inestabilidad de microsatélites a través de interacciones defectuosas con *MLH1* y *MRE11* que conducen a su inactivación en cánceres deficientes en MMR (Ihara et al., 2016).

## **2.7 Mutaciones en el gen del regulador transcripcional *ASXL2* y su relación con el desarrollo del cáncer colorrectal**

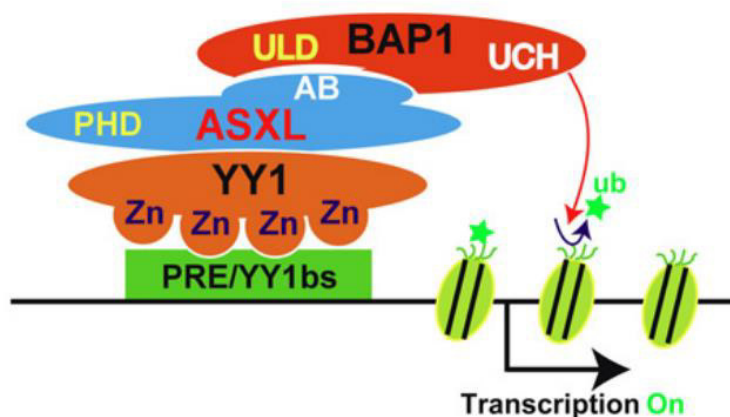
El gen *ASXL2* (Proteína adicional similar a peines sexuales 2) perteneciente a la familia de genes *ASXL* (*ASXL1*, *ASXL2* y *ASXL3*) son proteínas de andamiaje epigenético que ensamblan reguladores epigenéticos y factores de transcripción en loci genómicos específicos con modificaciones de histonas (Kato, 2013). Lamentablemente, la función de *ASXL2* ha sido menos estudiada. A pesar de esto, se ha comprobado que las mutaciones con regulación al alza de *ASXL2* se encuentran significativamente en muestras de CCR. Sin embargo, la relación entre *ASXL2* y el pronóstico del CCR aún no está clara (Park et al., 2015).

Se plantea que *ASXL1* forma un complejo con el Supresor de tumores *BAP1* y una deubiquitinasa (DUB). *BAP1* es esencial para mantener la estabilidad de la proteína *ASXL2*, pero no de *ASXL1*. En particular, la pérdida de expresión de *BAP1* está asociada al cáncer y da como

resultado la desestabilización de *ASXL2* y, por lo tanto, la pérdida de su función generando una proliferación celular exacerbada (Daou et al., 2015).

### Figura 5

*Modelo de trabajo propuesto para el complejo BAP1/ASXL2.*



*Nota:* El complejo BAP1/ASXL2 presenta implicancia en la modificación de la cromatina y la regulación de la transcripción de los genes. Tomado de “Las mutaciones familiares y somáticas de BAP1 inactivan la regulación alostérica mediada por ASXL1/2 de la BAP1 desubiquitinasa al dirigirse a múltiples dominios independientes”, por Peng, 2018, *Cancer*, 78(5).

Además, se encontró que *ASXL2* estaba relacionado con la aparición y el desarrollo de tumores al estar involucrado en la activación y represión transcripcional de una manera dependiente del contexto (Cui et al., 2020). También se demostró que la interacción con *BAP1/ASXL2* regula la senescencia celular y que las mutaciones en el gen *ASXL2* asociadas al cáncer interrumpen la actividad de *BAP1* y *DUB*. Por tanto, la inactivación del eje *BAP1/ASXL2* podría contribuir al desarrollo del cáncer (Daou et al., 2015).

### III. MÉTODO

#### 3.1 Tipo de investigación

La finalidad de este estudio busca determinar la importancia e incidencia de la expresión y mutaciones de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* como posibles mini impulsores en la evolución y desarrollo de la oncogénesis. Por lo tanto, este estudio es netamente documental experimental debido a que estaremos analizando y comparando los datos de las mutaciones presentes en los genes propuestos, obtenidos de 3 bases de datos de importancia molecular y bioinformática.

Exploratoria por que trata de probar la hipótesis que los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* son “mini impulsores” que pueden sustituir a uno o algunos “impulsores principales” durante el inicio de la oncogénesis.

Informativa porque trata de informar la relevancia de las mutaciones *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* como posibles mini impulsores en la evolución y desarrollo de la oncogénesis.

Documental porque analizando y comparando los datos de las mutaciones presentes en los genes propuestos, obtenidos de 2 bases de datos de importancia molecular y bioinformática.

#### 3.2 Ámbito temporal espacial

Utilizamos tres bases de datos de acceso público: El Catálogo de Mutaciones Somáticas en Cáncer (COSMIC), uno de los recursos más grandes y completos del mundo para explorar el impacto de las mutaciones somáticas en el cáncer humano (Forbes et al., 2017). El Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA) cuya finalidad es catalogar cambios moleculares de importancia biológica responsables de la aparición de cáncer haciendo uso de la secuenciación genómica y la bioinformática (*The Cancer Genome Atlas Program*, 2019). Y el cBioPortal for Cancer Genomics,

que nos muestra una visualización y nos plantea un análisis perceptivo de datos complejos en genómica del cáncer (Gao et al., 2016).

Los datos de las muestras de tumores obtenidos de COSMIC fueron registrados desde el año 2005 hasta la actualidad, resaltamos que esta base de datos es de acceso global por lo tanto tiene registrado muestras de todo el mundo, es considerada una de las bases de datos más completas en genómica del cáncer, contiene información de 3 estudios con gran relevancia en este campo (TCGA, ICGC y Cell Line) y cada año el número de registro va aumentando (Forbes et al., 2017).

Los datos de las muestras de tumores obtenidos de TCGA fueron registrados desde el año 2006 hasta la actualidad, Esta base de datos está bien organizada e involucra a diferentes colaboradores responsables de la recolección y el procesamiento de muestras, seguidos de una secuenciación de última generación y análisis de datos bioinformáticos y estadísticos, resaltamos que esta base de datos tiene como principal aporte los registros de los casos de cáncer de EEUU (Tomczak et al., 2015).

El cBioPortal es una plataforma para visualización, análisis y descarga exploratorios e interactivos de conjuntos de datos de genómica del cáncer a gran escala, abarca una gran cantidad de datos públicos (COSMIC, TCGA, ICGC, estudios de secuenciación publicados, etc.) para su análisis y fácil descarga (*CBioPortal for Cancer Genomics*, n.d.).

### **3.3 Variables**

En el presente estudio se distinguen las siguientes variables:

#### **3.3.1 Variable dependiente**

El inicio y desarrollo de la oncogénesis en el Adenocarcinoma de Colorrectal.

#### **3.3.2 Variable independiente**

La incidencia y la frecuencia mutacional presente en las muestras de tumores *SAMHD1*,

*GNLI, POLE, MRE11 y ASXL2.*

### **3.4 Población y muestra**

Hasta diciembre del 2020 en la base de datos COSMIC hay un total de 9490 muestras de adenocarcinoma colorrectal. Para el análisis de las mutaciones de los genes *SAMHD1*, *GNLI*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* utilizamos 278 muestras de tumores que presentaron mutaciones significativas en estos genes (Forbes et al., 2017). Hasta diciembre del 2020 la base de datos del TCGA cuenta con 461 muestras de adenocarcinoma Colorrectal de los cuales se ha seleccionado 123 muestras que utilizamos para el análisis de los 5 genes propuestos, tomando en cuenta sólo aquellas que presentaron mutaciones de alto impacto (*The Cancer Genome Atlas Program - National Cancer Institute*, 2019). Y hasta enero del 2021 la base de datos del cBioportal tiene registrado 1351 muestras de las cuales utilizamos 235 muestras que presentaron mutaciones significativas y de alto impacto (*CBioPortal for Cancer Genomics*, n.d.).

#### **3.4.1 Criterios de inclusión**

Las muestras de cáncer colorrectal que presenten las mutaciones correspondientes para cada gen.

#### **3.4.2 Criterio de exclusión**

Las muestras que no presenten información de variantes o niveles de expresión.

### **3.5 Instrumentos**

Ordenador con Sistema operativo Windows 10, COSMIC database, TCGA database, cBioportal, The R Project for Statistical Computing, La prueba SMG de la suite MuSIC del TCGA, GEPIA2 web server, R2: Genomics Analysis and Visualization Platfor, GEO DataSets (NCBI) web server y GeneMANIA web server.



## **3.6 Procedimientos**

### **3.6.1 Búsqueda de datos**

Realizamos la búsqueda de las mutaciones correspondientes para cada gen en la base de datos COSMIC (Forbes et al., 2017), para lo cual utilizamos la herramienta *Cancer Browser* que nos permite buscar datos por tipo de tejido e histología. Para la búsqueda utilizamos los siguientes tesauros: “Bowel” como tipo de tejido, “colon” como sub-tejidos, “carcinoma” como tipo de histología y “adenocarcinoma” como sub-histología. Iniciamos el filtrado y como resultado conseguimos una lista de genes involucrados en el desarrollo de esta neoplasia junto a la frecuencia mutacional correspondiente a cada uno. Luego, seleccionamos los genes mutados propuestos (*SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2*) para determinar el número de muestras mutadas correspondientes.

Para la base de datos del TCGA (*The Cancer Genome Atlas*), usamos Genomic Data Commons Data Portal (*The Cancer Genome Atlas Program - National Cancer Institute*, 2019), una herramienta de búsqueda de conjuntos de datos armonizados sobre el cáncer, para lo cual realizamos la búsqueda de los datos correspondientes en cada uno de los genes propuestos (*SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2*), luego seleccionamos el proyecto “TCGA-COAD” (TCGA-adenocarcinoma de colon) para determinar el número de muestras mutadas y registradas en adenocarcinoma de colon, y por último seleccionamos los datos de las mutaciones correspondientes a cada gen. En ambos casos realizamos un filtrado por tipo de mutación tomando como datos principales las mutaciones “*nonsense*” y “*missense*”, pero a la vez descartamos las mutaciones silenciosas en regiones codificantes (*coding silent*). Por último, comparamos las mutaciones presentes en ambas bases de datos y elaboramos una lista general.

## **3.7 Análisis de datos**

### **3.7.1 cBioPortal para genómica del cáncer**

Ingresamos a la plataforma del cBioPortal (*CBioPortal for Cancer Genomics*, n.d.) y seleccionamos los estudios por análisis y visualización, seleccionamos “*Bowel*” (intestino) como tipo de cáncer y obtuvimos una relación de estudios en adenocarcinoma de colon como principal interés. Luego seleccionamos 3 principales estudios: Colorectal Adenocarcinoma DCFI (Dana-Farber Cancer Institute), Colorectal Adenocarcinoma (PanCancer, Atlas TCGA) y Colorrectal Adenocarcinoma Triplets del MSKCC (Memorial Sloan Kettering - Cancer Center). Consultamos por cada gen de interés con el comando “*Query By Gene*”, seleccionamos los perfiles moleculares de interés (mutaciones, variantes estructurales y alteración del número de copias) e ingresamos los genes de propuestos, seleccionamos el comando “*Submit Query*”. Por último, entramos a la pestaña de mutaciones, seleccionamos las mutaciones presentes para cada gen y comparamos con las bases de datos del TCGA y COSMIC.

### ***3.7.2 Análisis según las características clínicas.***

Dentro de la plataforma del cBioPortal entramos a la pestaña “Plots” y seleccionamos ejemplos de mutaciones vs diagnóstico, usamos como tipo de data “atributo clínico” y seleccionamos las características clínicas más importantes: Sexo, categoría CIMP (fenotipo metilador de islas CpG), tipo de muestra, tipo de tumor, estado del cáncer y neoplasia de la persona, sitio anatómico de la enfermedad tumoral, sitio del tumor, subtipo molecular del cáncer y tipo de cáncer detallado.

### ***3.7.3 Análisis con “GEO2” y “GEO2R”***

Revisamos la base de datos GEO (*About GEO DataSets - GEO - NCBI*, 2021) y realizamos un filtrado de todos los estudios que incluían las siguientes características: *Colorectal cancer*, *Homo sapiens*, mRNA y *adjacen normal tissue*. Después de estos filtros, encontramos 45 resultados que filtramos a mano para determinar cuáles comparaban pacientes con controles, de

esta forma excluimos los estudios que únicamente evaluaban pacientes o tratamientos. Luego de esto quedaron 5 estudios, de los cuales 2 analizaban el valor de expresión génica del mRNA.

Para el análisis utilizamos la herramienta GEO2R, realizamos una comparación entre muestras de tejido normal adyacente (control) y muestras de tejido tumoral (prueba). Después, ingresamos a la pestaña “Profile graph”, “View data for GPL” y realizamos la búsqueda de los ID correspondientes a los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2*. Por último, ingresamos el ID y generamos las gráficas de valor de expresión génica.

#### **3.7.4 *Análisis de expresión génica por el servidor “UALCAN”***

Utilizamos el servidor web UALCAN (Chandrashekar et al., 2017) para realizar un análisis de expresión génica de 327 muestras del TCGA comparando tejido normal adyacente vs tejido tumoral. Dentro del servidor UALCAN seleccionamos la base de datos del TCGA, realizamos una exploración por genes e ingresamos los nombres correspondientes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2*. Por último, seleccionamos el tipo de cáncer “Adenocarcinoma Colorrectal” y analizamos los datos de expresión por mRNA.

#### **3.7.5 *Expresión concomitante de genes utilizando “The R Project for Statistical Computing”***

Revisamos datos de expresión génica por RNA-seq en muestras de cáncer CCR y tejidos saludables incluidos en el proyecto TCGA a través del servidor online UALCAN. Obtuvimos datos de expresión de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *ASXL2*, *POLE* y *MRE11* en muestras de pacientes y controles, su potencial contribución a la supervivencia e información sobre genes coexpresados. Usando el lenguaje de programación R descargamos la data de enriquecimiento de los módulos KEGG 2021 (Enciclopedia de genes y genomas de Kioto). Reactome (Base de datos de rutas de Reactoma) y Gene Ontology (Recurso de Ontología Genética) del servidor Enrichr, y, por último, generamos dotplots que muestran la implicancia de la expresión génica de *GNL1*,

*POLE* y *MRE11* en diferentes vías metabólicas, funciones moleculares y componentes celulares.

Y cnetplots que muestran la correlación entre *GNLI*, *POLE* y *MRE11* y sus vías metabólicas implicadas.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Búsqueda de datos

**Tabla 1**

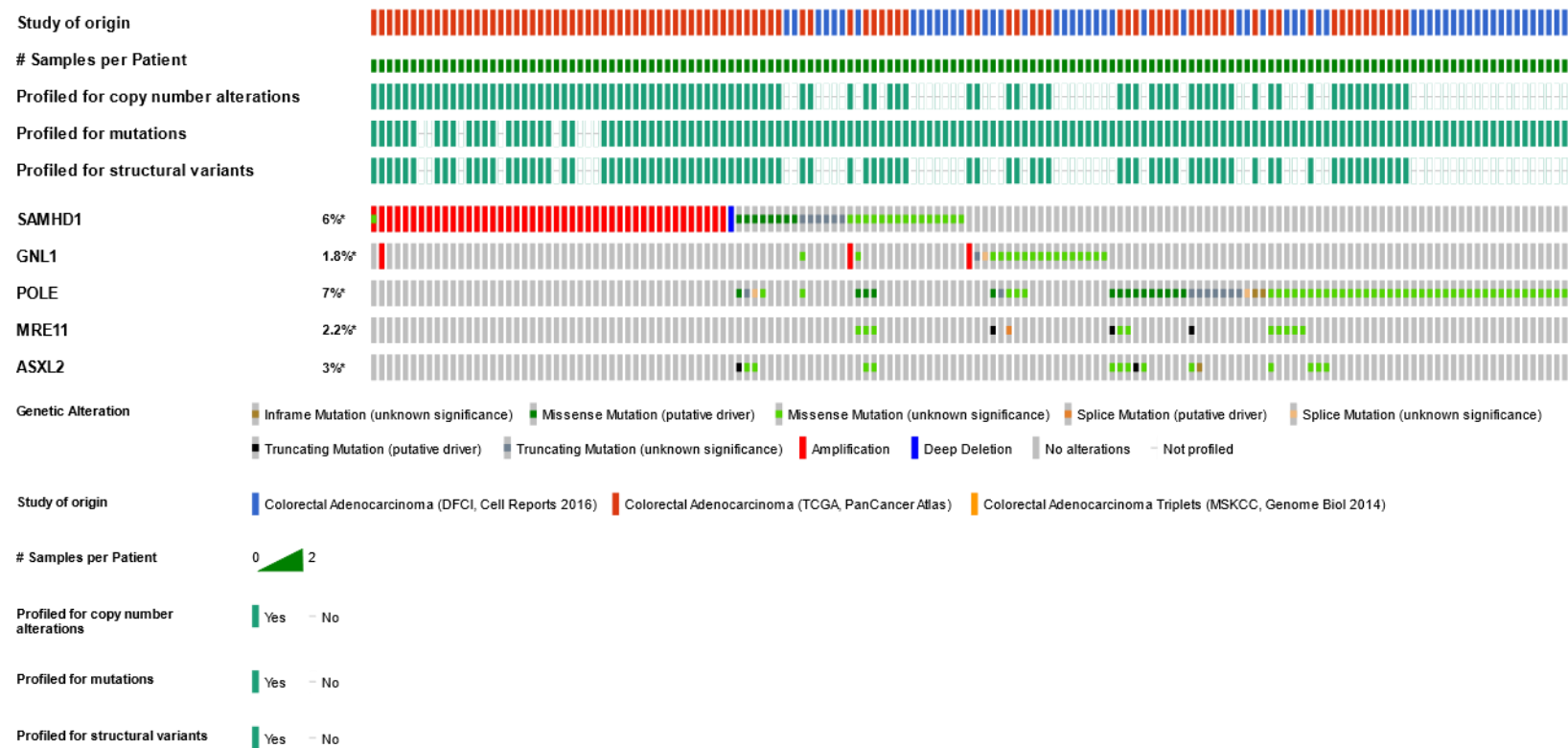
*Numero de mutaciones registradas para cáncer colorrectal en las bases de datos, COSMIC, TCGA y CBIOPORTAL correspondientes para los genes SAMHD1, GNL1, MRE11, POLE y ASXL2.*

		# Total de Mx	# de Mx testeadas	# de Mx mutadas	% de Mx mutadas
<b>COSMIC</b>	<i>SAMHD1</i>	9490	802	27	3.36%
	<i>GNL1</i>		802	16	2%
	<i>MRE11</i>		1777	149	8.40%
	<i>POLE</i>		1474	44	2.98%
	<i>ASXL2</i>		1394	42	3.01%
<b>TCGA</b>	<i>SAMHD1</i>	461	448	16	3.57%
	<i>GNL1</i>			8	1.78%
	<i>MRE11</i>			47	10.50%
	<i>POLE</i>			16	3.57%
	<i>ASXL2</i>			36	8.03%
<b>CBIOPORTAL</b>	<i>SAMHD1</i>	1351	1282	34	2.65%
	<i>GNL1</i>			20	1.56%
	<i>MRE11</i>			32	2.49%
	<i>POLE</i>			106	8.26%
	<i>ASXL2</i>			43	3.25%

## 4.2 cBioPortal para genómica del cáncer

**Figura 6**

*Oncoprint. Visualización de múltiples eventos de alteración genómica en los genes SAMHD1, GNL1, MRE11, POLE y ASXL2 (CBioPortal for Cancer Genomics, n.d.).*



*Nota:* Este Oncoprint nos ayuda a visualizar y comprender la alteración genética presente en los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2*, así como los diferentes tipos de mutaciones y las coocurrencias.

En la Figura 6, las variantes en *SAMHDI* presentan un perfil de alteración del 6% en un total de 75 casos de 1213 pacientes. De los cuales 45 pacientes presentaron mutaciones “Amplification” (amplificación), 1 paciente presentó “Deep Deletion” (delección o pérdida de una región génica importante), 8 pacientes presentaron “Missense mutation - putative driver” (mutación de sentido erróneo de conductor putativo), 6 pacientes mostraron “Truncating Mutation” (mutación truncada) y 15 pacientes mostraron “Missense mutation – unknown significancer” (mutación de sentido erróneo de significado incierto)

Las variantes en *GNL1* mostraron un 1.8% en su perfil de alteración en un total de 22 casos de 1213 pacientes de los cuales 3 pacientes presentaron mutaciones de amplificación, 17 pacientes presentaron mutaciones de sentido erróneo de significado incierto, 1 paciente presentó una mutación truncada y 1 paciente presentó un “Splice Mutation – unknown significancer” (mutación por empalme de significado incierto)

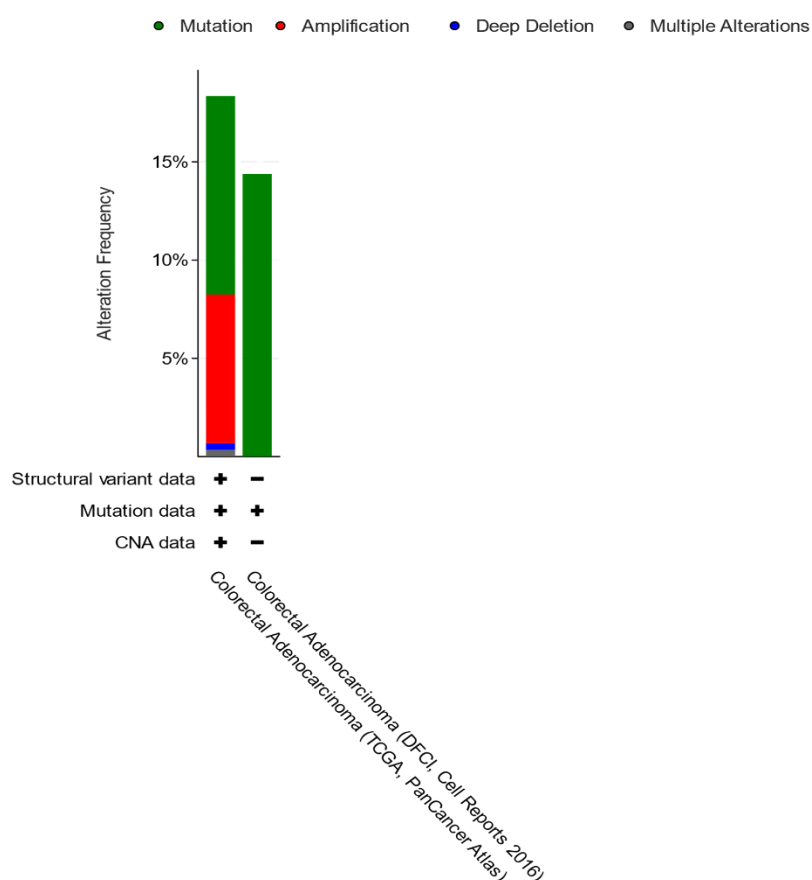
Las variantes en *MRE11* presentaron un perfil de alteración del 2.2% en un total de 27 casos de 1213 pacientes. Del total 15 pacientes mostraron mutaciones de sentido erróneo de significado incierto, 10 pacientes presentaron mutación truncada, 1 paciente presentó una “Splice Mutation – putative driver” (mutación por empalme de conductor putativo) y 1 paciente presentó una “Deep Deletion” (delección profunda).

Las variantes en *POLE* presentaron un perfil de alteración del 7% en un total de 83 casos de 1213 pacientes. De los cuales 15 pacientes presentaron mutaciones de sentido erróneo de significado incierto, 9 pacientes presentaron mutaciones truncadas, 2 pacientes mostraron una “Inframe Mutation” (mutación en el marco de lectura), 2 pacientes mostraron mutación por empalme de significado incierto y 55 pacientes presentaron mutaciones de sentido erróneo de significado incierto. Las variantes en *ASXL2* presentaron un perfil de alteración del 3% en un total

de 38 casos de 1213 pacientes. De los cuales 9 pacientes presentaron Mutación truncada, 1 paciente presentó mutación en el marco de lectura, y 28 pacientes mostraron mutaciones de sentido erróneo de significado incierto.

### Figura 7

*Frecuencia de alteración de los del perfil de variantes en los genes SAMHD1, GNL1, MRE11, POLE y ASXL2.*



En la Figura 7 Seleccionamos dos estudios resumizados dentro de la base de datos: El primer estudio “Colorectal Adenocarcinoma del DCFI” (Dana-Farber Cancer Institute), mostró una frecuencia de alteración del 18.35% de 594 casos presentes en este estudio, de los cuales, un 10.1% corresponden a mutaciones, 7.58% amplificaciones, 0.34% deleciones profundas y un



0.34% a múltiples alteraciones. Para el segundo estudio “Colorectal Adenocarcinoma” (PanCancer, Atlas TCGA) mostró una frecuencia de alteración del 14.38% de 619 casos presentes en este estudio, de los cuales todo el porcentaje hace referencia a mutaciones.

**Tabla 2**

*Co-ocurrencia presente en las 1351 muestras tomadas de 1282 pacientes pertenecientes a los 3 principales estudios del DCFI, PanCancer Atlas TCGA y MSKCC.*

<b>A</b>	<b>B</b>	<b>Ninguno</b>	<b>A No B</b>	<b>B No A</b>	<b>Ambos</b>	<b>Log2 Odds Ratio</b>	<b>Valor P</b>	<b>Valor q</b>	<b>Tendencia</b>
<i>MRE11</i>	<i>POLE</i>	1055	13	69	14	>3	<0.001	<0.001	Coocurrencia
<i>POLE</i>	<i>ASXL2</i>	1046	67	22	16	>3	<0.001	<0.001	Coocurrencia
<i>MRE11</i>	<i>ASXL2</i>	1093	20	31	7	>3	<0.001	<0.001	Coocurrencia
<i>GNLI</i>	<i>POLE</i>	1053	15	76	7	2.693	<0.001	0.001	Coocurrencia
<i>GNLI</i>	<i>MRE11</i>	1105	19	24	3	2.862	0.013	0.026	Coocurrencia
<i>SAMHD1</i>	<i>GNLI</i>	1067	62	18	4	1.935	0.033	0.055	Coocurrencia
<i>SAMHD1</i>	<i>ASXL2</i>	1052	61	33	5	1.386	0.061	0.088	Coocurrencia
<i>SAMHD1</i>	<i>POLE</i>	1010	58	75	8	0.893	0.095	0.119	Coocurrencia
<i>SAMHD1</i>	<i>MRE11</i>	1061	63	24	3	1.074	0.198	0.22	Coocurrencia
<i>GNLI</i>	<i>ASXL2</i>	1091	22	38	0	<-3	0.474	0.474	Exclusividad mutua

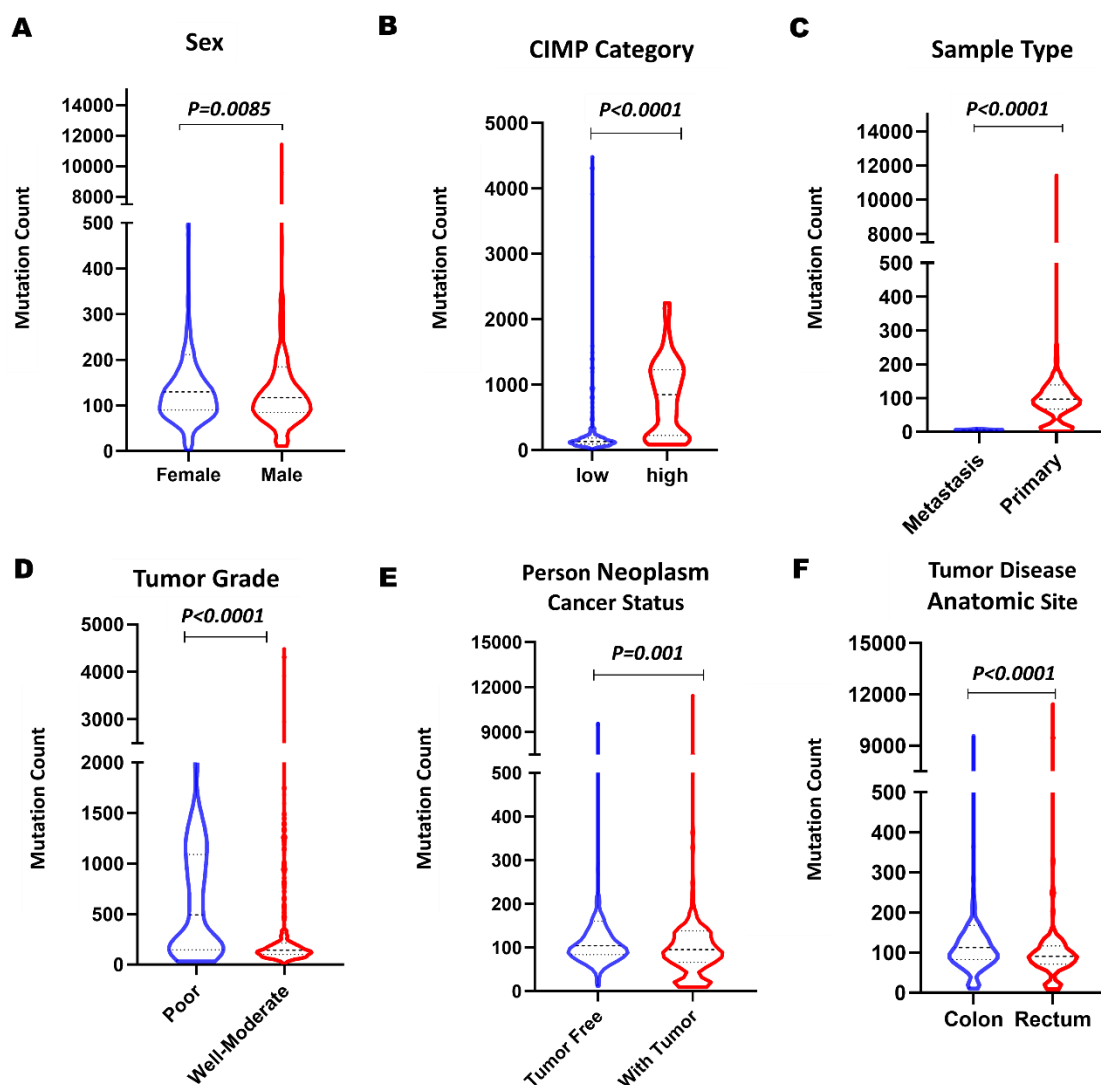
En la tabla 2 observamos el número de coocurrencias presentes entre los 5 genes propuestos, de los cuales las primeras 4 comparaciones presentan un resultado significativo con un valor de  $p$  y  $q < 0.001$ . La primera comparación entre *MRE11* y *POLE* nos muestra que hay 1055 pacientes que no presentan mutación en estos genes, 13 pacientes presentan mutaciones en *MRE11* pero no en *POLE*, 69 pacientes presentan mutaciones en *POLE* pero no en *MRE11* y 14 pacientes presentan mutaciones en ambos genes. El Log2 Odds Ratio en la primera comparación presenta un valor  $>3$  lo que nos indicaría que la presencia de las mutaciones en *MRE11* y *POLE* están asociadas en el sentido de que las mutaciones en *MRE11* aumentan las probabilidades de las mutaciones en *POLE* y viceversa.

#### **4.2.1 Análisis según las características clínicas**

La Figura 8A nos muestra la incidencia de las mutaciones en *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* tanto en la población femenina como masculina con un valor de  $p=0.0085$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre los dos sexos, también observamos que la población masculina presenta un mayor conteo mutacional en comparación a la población femenina. La Figura 8B nos muestra el conteo mutacional de los genes 5 genes propuestos en muestras con bajo y alto CIMP (fenotipo metilador de islas CpG) con un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre ambos casos y también resaltamos que las muestras con bajo CIMP presentaron un mayor conteo mutacional en comparación a las muestras con alto CIMP.

## Figura 8

*Conteo mutacional versus características clínicas (Sex, CIMP Category, Sample Type, Tumor Grade, Person Neoplasm Cancer Status y Tumor Disease Anatomic Site) en los genes SAMHD1, GNL1, MRE11, POLE y ASXL2.*



*Nota:* Los valores de la mediana y numero poblacional (n) correspondiente para cada análisis se pueden visualizar en la tabla en los anexos. (A) Comparación del conteo mutacional entre el sexo masculino y femenino. (B) Comparación de conteo mutacional entre las categorías CIMP (fenotipo metilador de islas CpG) bajas o altas. (C) Comparación de los tipos de muestras, tumores con

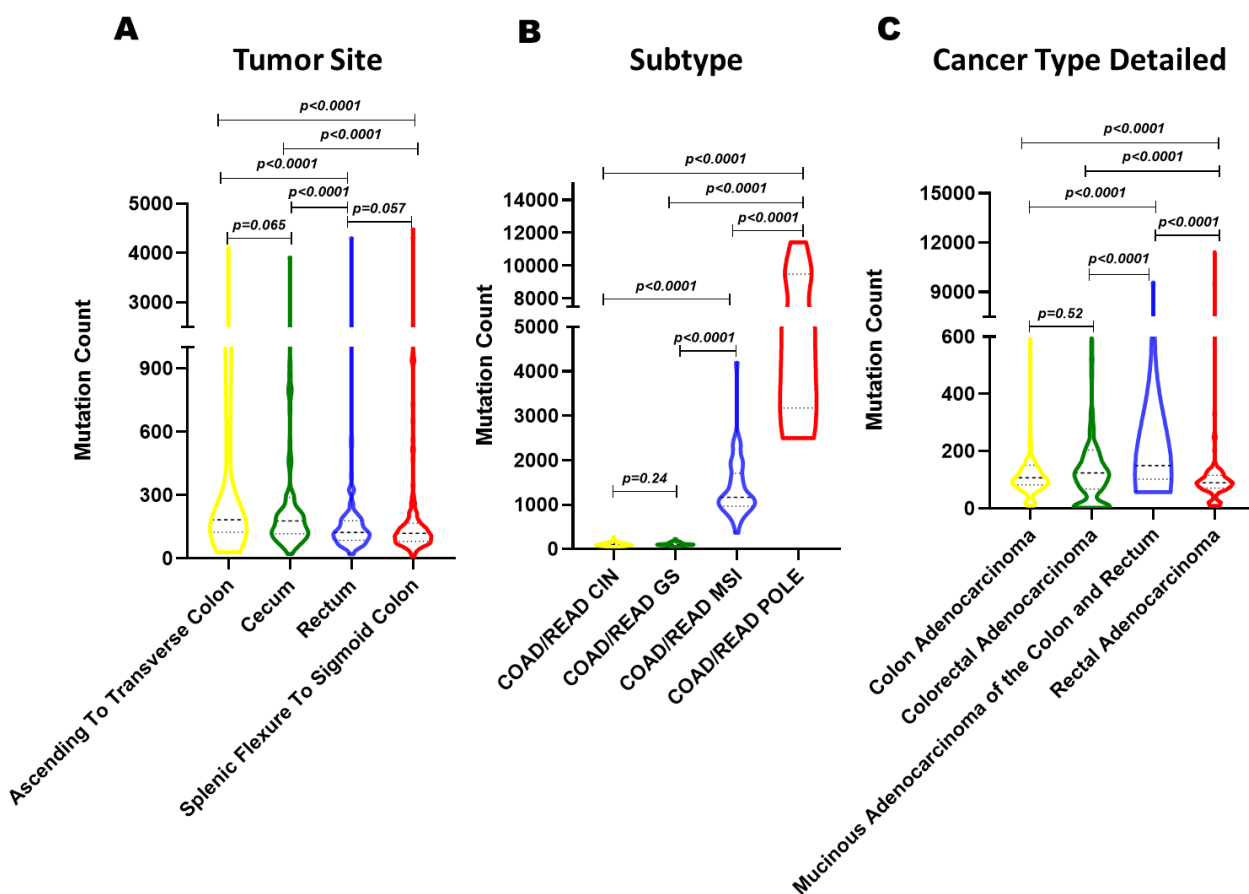
metástasis y tumores primarios. (D) Comparación en base al grado del tumor, pacientes libres de tumor y pacientes con tumor. (E) Comparación según la persona con estado de neoplasia del cáncer. (F) Comparación según el sitio anatómico de la enfermedad tumoral, segmentos de colon o recto.

La Figura 8C nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes en pacientes con presencia de metástasis y tumor primario con un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre ambos casos y también resaltamos que los pacientes con tumor primario presentaron un mayor conteo mutacional en comparación a los pacientes con metástasis. La Figura 8D nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes en pacientes con peor grado de tumor y pacientes con moderado grado de tumor, presentando así un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre ambos casos y también resaltamos que los pacientes con un moderado grado de tumor presentaron un mayor conteo mutacional en comparación con los pacientes de grado tumoral avanzado.

La Figura 8E nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes propuestos en pacientes libres de tumor y pacientes con presencia de tumor, con un valor de  $p = 0.001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre ambos casos y también resaltamos que los pacientes con tumor presentan un mayor conteo mutacional en comparación a los pacientes sin tumor. La figura 8F nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes en pacientes con enfermedad tumoral en el colon y recto, con un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre ambos casos y también resaltamos que los pacientes con presencia de tumor en el recto presentaron un mayor conteo mutacional en comparación con los pacientes que desarrollaron tumor en el colon.

## Figura 9

Conteo mutacional versus características clínicas (Tumor site, Subtype y Cancer Type Detailed) en los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2*.



*Nota:* Los valores de la mediana y numero poblacional (n) correspondiente para cada análisis se pueden visualizar en la tabla Anexo H en los anexos. (A) Comparación del conteo mutacional entre los diferentes sitios del tumor: colon transversal ascendente, ciego, recto y el colon sigmoideo del flexor esplénico. (B) Comparación de conteo mutacional entre los diferentes subtipos según la base de datos: CIN, GS, MSI y POLE. (C) Comparación del conteo mutacional entre los diferentes tipos de cáncer detallados: Adenocarcinoma de colon, Adenocarcinoma colorrectal, Adenocarcinoma mucinoso de colon y recto y Adenocarcinoma rectal.

La Figura 9A nos muestra el conteo mutacional de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* en pacientes con presencia de tumor en las regiones del colon transversal ascendente, ciego, recto y el ángulo esplénico del colon sigmoideo con un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre los 4 casos y aclaramos que esta diferencia significativa no se aplica cuando comparamos por separado las columnas A/B y C/D ya que estas mostraron un valor de  $p > 0.01$ . Resaltamos que las muestras de tumor del Angulo Esplénico del Colon Sigmoideo presentan un mayor conteo mutacional en comparación con los demás.

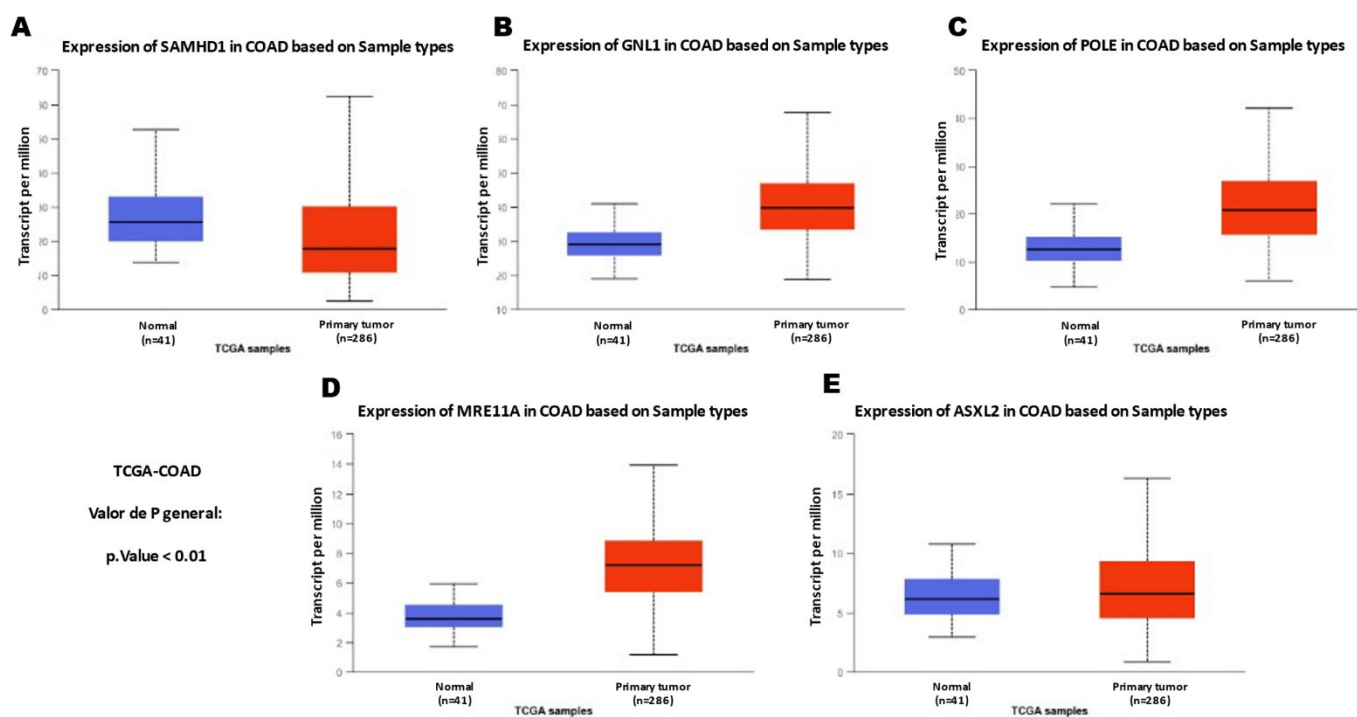
La Figura 9B nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes propuestos en los subtipos tumorales COAD/READ CIN, COAD/READ GS, COAD/READ MSI y COAD/READ POLE con un valor de  $p < 0.0001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre los 4 casos y aclaramos que esta diferencia significativa no se aplica cuando comparamos por separado las columnas A/B ya que esta comparación mostró un valor de  $p > 0.01$ . Resaltamos que las muestras del subtipo tumoral COAD/READ POLE presentaron un mayor conteo mutacional en comparación con los demás subtipos.

La Figura 9C nos muestra el conteo mutacional de los 5 genes en los diferentes tipos de cáncer detallados adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma colorrectal, adenocarcinoma mucinoso de colon/recto y adenocarcinoma rectal con un valor de  $p < 0.001$ . Determinamos que hay una diferencia significativa entre los 4 casos y aclaramos que esta diferencia significativa no se aplica cuando comparamos por separado las columnas A/B ya que esta comparación mostró un valor de  $p > 0.01$ . Resaltamos que las muestras del tipo de cáncer adenocarcinoma rectal presentaron un mayor conteo mutacional en comparación con los demás subtipos.

### 4.3 Análisis de expresión génica por el servidor “UALCAN”

#### Figura 10

*Análisis de expresión de mRNA de los genes SAMHD1, GNL1, POLE, MRE11 y ASXL2 presentes en 327 muestras de pacientes con cáncer colorrectal (COAD) (The Cancer Genome Atlas Program - National Cancer Institute, 2019).*



*Nota: (A) SAMHD1* mostró un valor- $p=2.60 \times e^{-2}$ . (B) *GNL1* mostró un valor- $p=1.62 \times e^{-12}$ . (C) *POLE* mostró un valor- $p<1 \times e^{-12}$ . (D) *MRE11* mostró un valor- $p=5.96 \times e^{-7}$ . (E) *ASXL2* mostró un valor- $p=1 \times e^{-2}$ .

En la Figura 10 se analizó los valores de expresión de mRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* usando como control 41 muestras de tejido normal adyacente y como prueba 286 muestras de tejido tumoral extraídos de biopsias de pacientes con CCR. En este

estudio se encontró 3 de los 5 genes evaluados con un  $p. Value < 0.01$  lo cual nos indica que si hay una diferencia significativa entre la expresión de los genes mutados y no mutados.

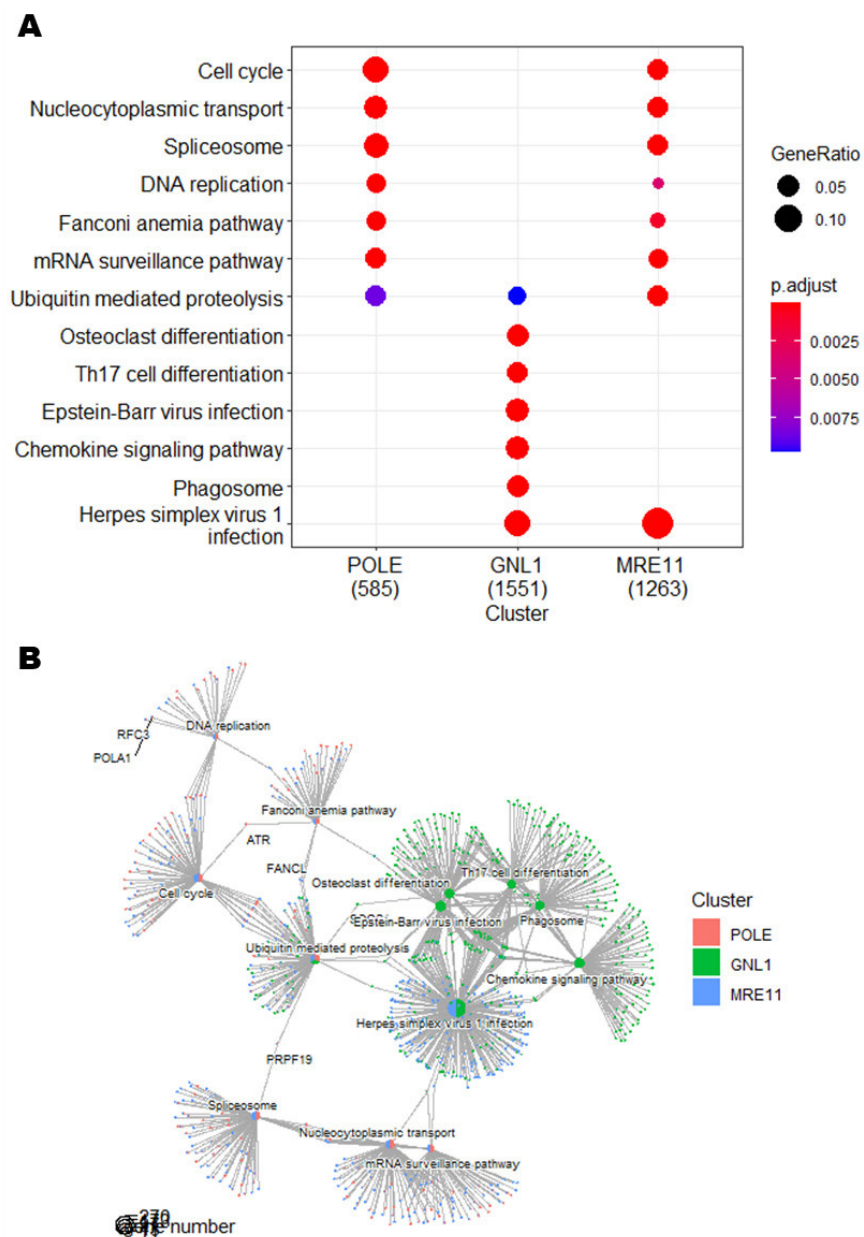
#### **4.4 Expresión positiva concomitante de genes utilizando “The R Project for Statistical Computing”**

Tres de los 5 genes evaluados (*GNLI*, *POLE* y *MRE11*) mostraron sobreexpresión en pacientes con CCR en relación a los controles ( $p < 0.01$ ). En relación a los genes coexpresados, *GNLI* presentó 3689 genes co-expresados, los cuales enriquecen vías metabólicas asociadas a la respuesta inmunológica. *POLE* mostró 1550 positivamente coexpresados, que fueron asociados con el control del ciclo celular y el procesamiento de factores de transcripción. Mientras que el gen *MRE11* se coexpresa en conjunto con 3529 genes, mostrando una relación con el control de la expresión génica y mecanismos de reparo del DNA. Adicionalmente, los genes *GNLI*, *POLE* y *MRE11* fueron coexpresados negativamente con 47, 102 y 143 genes, respectivamente. Mencionamos que *SAMHD1* y *ASXL2* mostraron una expresión con un valor de  $p > 0.01$  mostrando una diferencia no significativa, por lo tanto, no se les consideró para este análisis.



## Figura 11

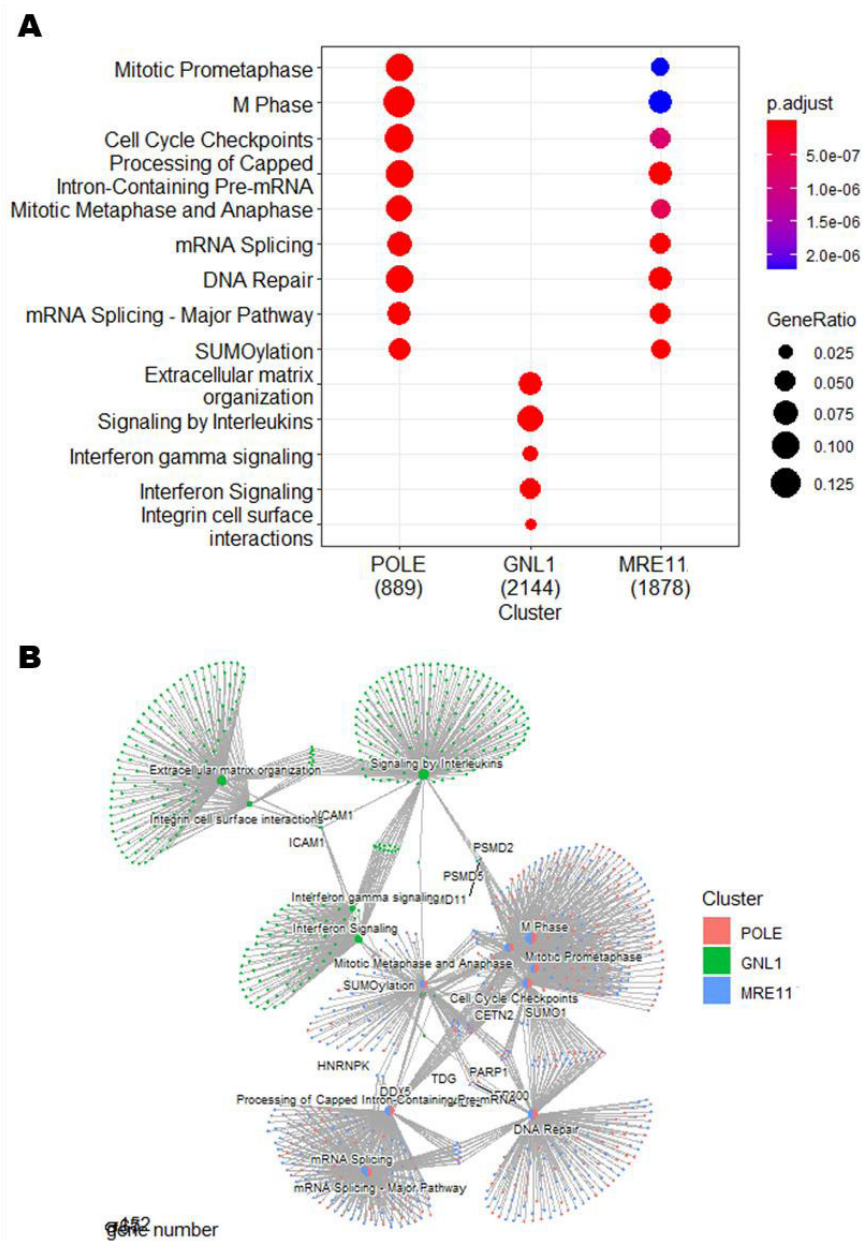
KEGG: Análisis de enriquecimiento por vías metabólicas y co-expresión génica positiva según la Enciclopedia de genes y genomas de Kioto.



Nota: (A) Diagrama de puntos (dotplot), vías metabólicas relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

## Figura 12

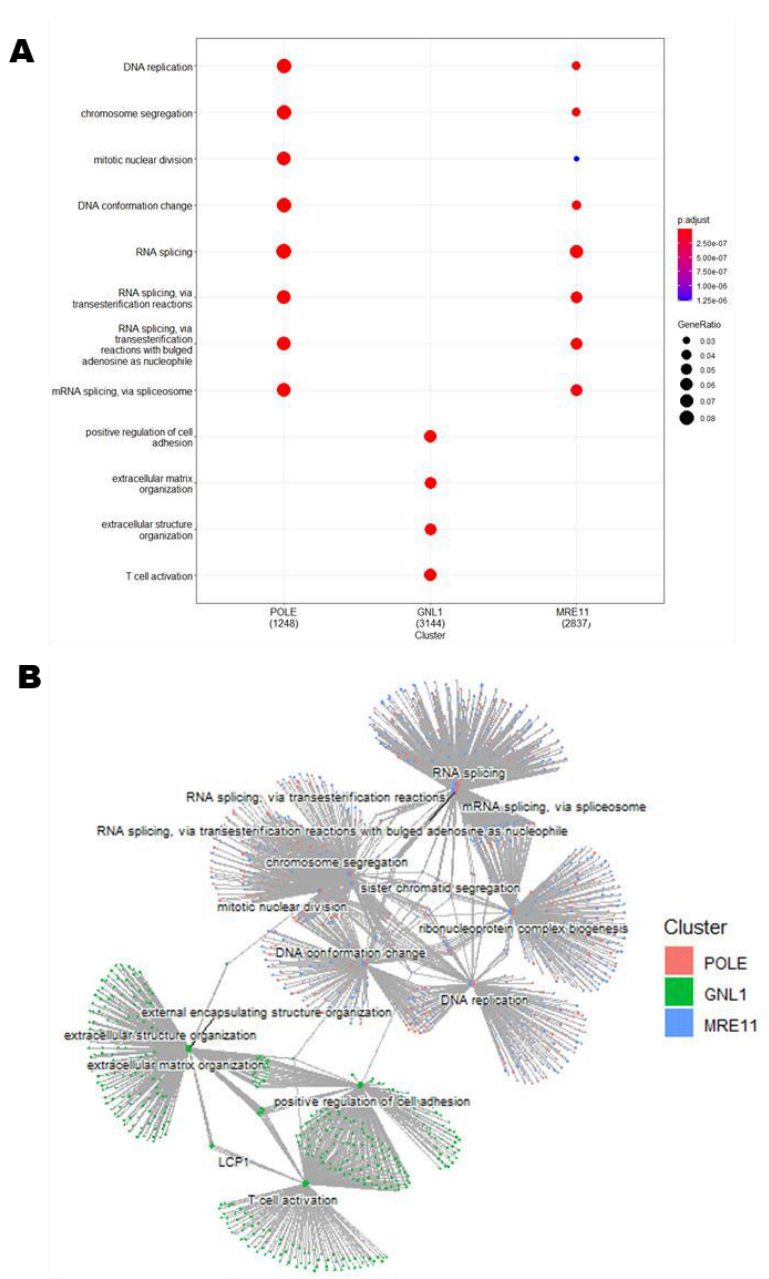
*REACTOME: Análisis de enriquecimiento por vías metabólicas y co-expresión génica positiva según la Base de datos de rutas de Reactoma.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), vías metabólicas relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

### Figura 13

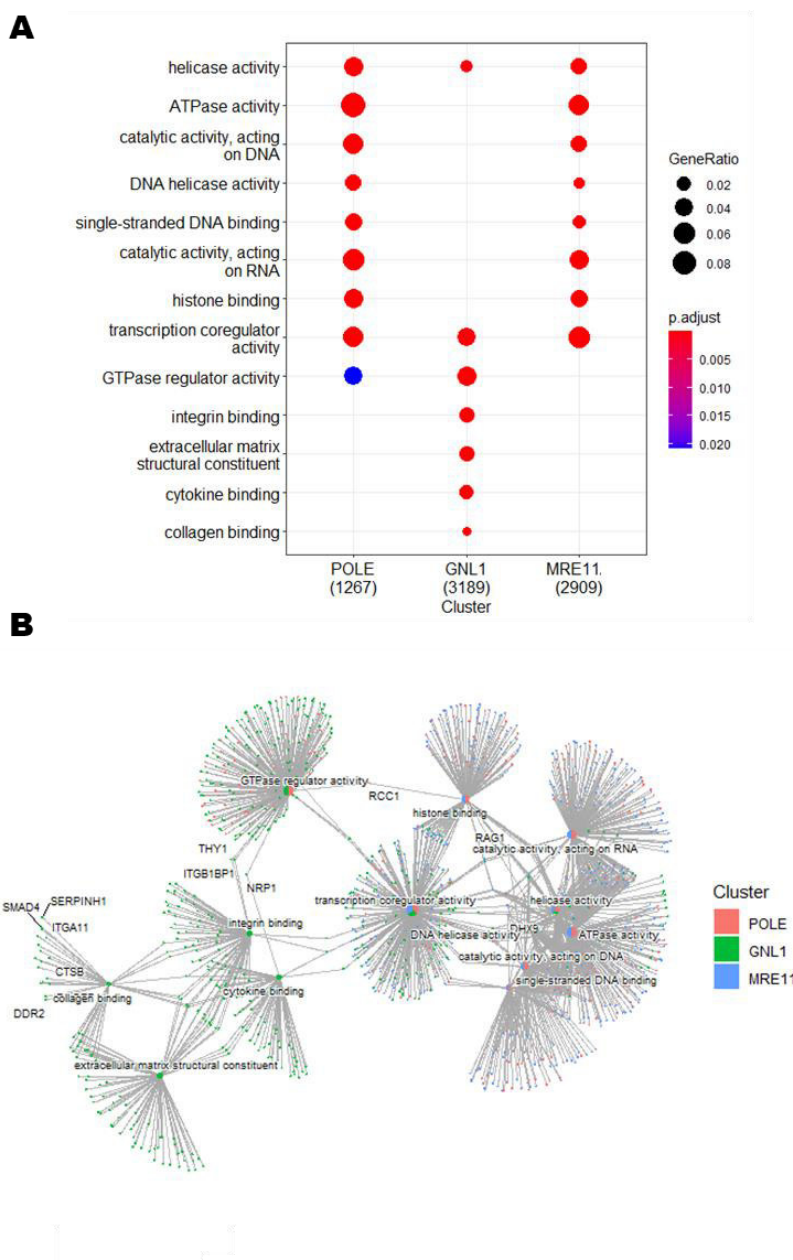
*Gene Ontology - Biological Process: Análisis de enriquecimiento por procesos biológicos y co-expresión génica positiva según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), procesos biológicos relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

## Figura 14

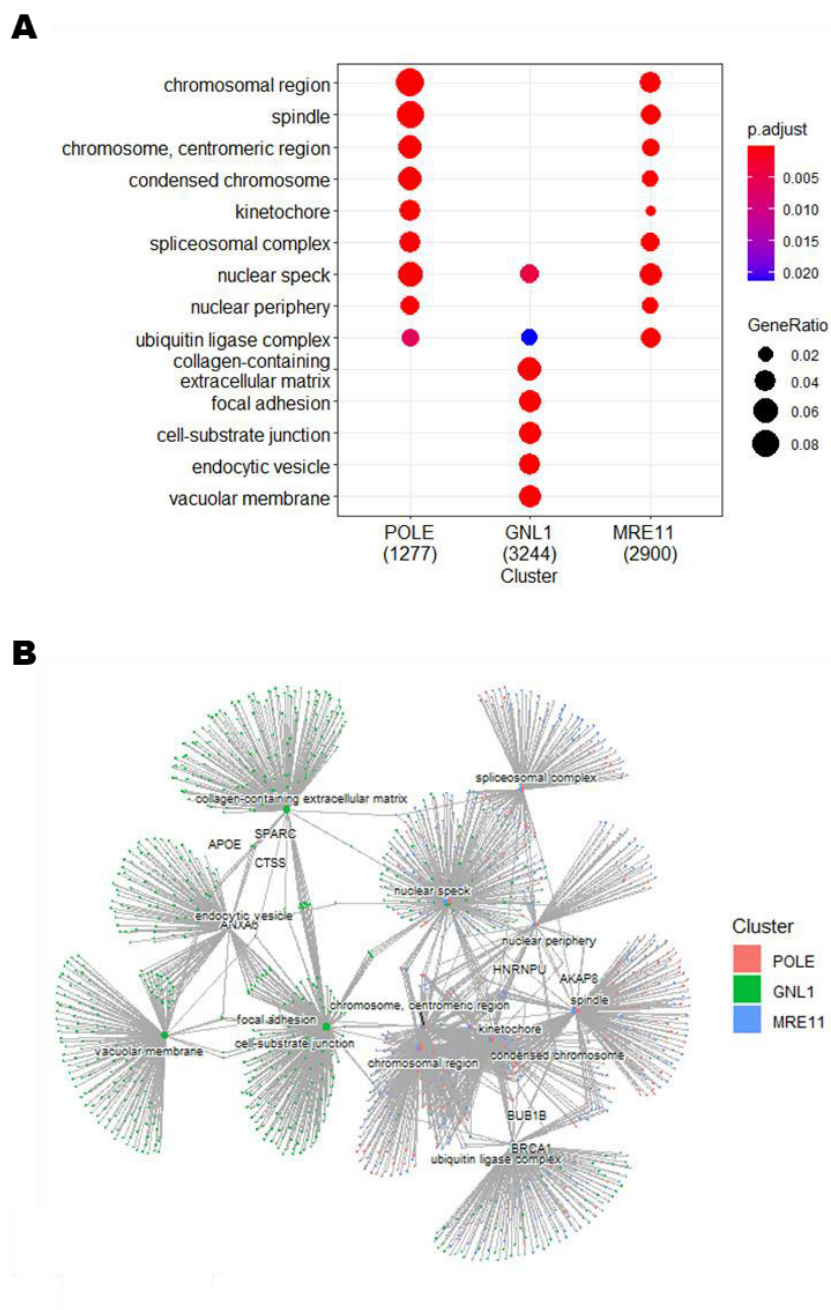
*Gene Ontology - Molecular Function: Análisis de enriquecimiento por funciones moleculares y co-expresión génica positiva según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), funciones moleculares relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNLI*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNLI*.

## Figura 15

*Gene Ontology – Cellular Component: Análisis de enriquecimiento por componentes celulares y co-expresión génica positiva según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), componentes moleculares relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este estudio utilizamos tres bases de datos de gran impacto en cáncer (COSMIC, TCGA y CBIOPORTAL). La Tabla 1 nos muestra el número de muestras registradas correspondiente a cada base de datos en CCR, podemos notar que la base de datos COSMIC presenta un mayor número de muestras registradas siguiéndole CBIOPORTAL y por último TCGA. Según Forbes (2017) COSMIC es la base de datos más amplia de mutaciones en cáncer, esto es debido a que abarca un gran número de estudios científicos de todo el mundo con más de 4 millones de mutaciones codificantes descritas.

En comparación con cBioPortal Unberath (2019) nos menciona que esta base de datos es un software de código abierto que permite el análisis interactivo, exploratorio y multidimensional a gran escala de conjuntos de datos genómicos públicos obtenidos de otras bases de datos (COSMIC, TCGA e ICGC). Y por último Tomczak (2015) nos menciona el TCGA es una base de datos propia de EE UU que involucra científicos y gerentes del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los NIH y del Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano (NHGRI) financiado por el gobierno de los Estados Unidos.

En la Figura 6 observamos la incidencia de las mutaciones en *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* en 1351 muestras de pacientes con CCR pertenecientes a los principales estudios del DCFI, PanCancer Atlas TCGA y MSKCC. El gen *POLE* presentó el mayor perfil de alteración con un 7% y dentro de este perfil destacan las mutaciones de sentido erróneo ya que están presentes en 70/83 casos. Según Hernández (2016) anteriormente se ha descrito una mutación de sentido erróneo recurrente en el gen *POLE* (p. Leu424Val) como responsable de un pequeño porcentaje de casos de CCR y polipósis no clasificados, pero, debido a la escasez de casos descritos hasta la

fecha, el fenotipo clínico exacto no se ha definido. Estos datos sugieren que las mutaciones de sentido erróneo en *POLE* podría promover el desarrollo en las células tumorales.

En segundo lugar, está el gen *SAMHD1* con un perfil de alteración del 6 %. En este perfil destacamos las mutaciones de amplificación presentes en 45/75 pacientes y las mutaciones de sentido erróneo presentes en 23/75 casos, creemos que las mutaciones por amplificación aumentan la expresión del gen *SAMHD1* y por consecuencia favorecen el desarrollo tumoral. Lee (2017) realizó 2 experimentos para determinar la sobreexpresión por acetilación de *SAMHD1* y su implicancia en el desarrollo del cáncer. Primero, midieron la expresión de *SAMHD1* en tejido tumoral y no tumoral de pacientes con hepatocarcinoma, notaron que los niveles de *SAMHD1* eran más elevados en el tejido tumoral junto a la expresión de *ARD1* que se elevó a la par. Segundo, construyeron 2 líneas celulares cancerosas estables con expresión de *SAMHD1* salvaje (acetilada) y la mutante K405R (mutante de *SAMHD1*, lisina sustituida por arginina) no acetilada. En la mutante K405R se generó una regulación a la baja de *SAMHD1*, esto hizo que las células HeLa crecieran lentamente, en comparación con la sobreexpresión de *SAMHD1* de tipo salvaje, esta resultó en una mayor tasa de crecimiento de células HeLa. Estos resultados demostrarían que la sobreexpresión de *SAMHD1* mejora su capacidad para promover la proliferación en células cancerosas.

En tercer lugar, está el gen *ASXL2* con un perfil de alteración del 3%. Este perfil presenta en su mayoría mutaciones de sentido erróneo presentes en 28/38 casos. Daou (2015) menciona que el complejo de unión *BAP1/ASXL2* es esencial como supresor tumoral, pero mutaciones sin sentido y deleciones asociadas al cáncer evitan la unión ubiquitina de *BAP1*. Por lo tanto, la pérdida de función de *ASXL2* es un evento muy común en cánceres que también presentan mutaciones en *BAP1*. En cuarto lugar, se encuentra el gen *MRE11* con un perfil de alteración del 2.2%. Mostrando

en mayoría mutaciones de sentido erróneo en 15/27 casos y mutaciones truncadas en 10/27 casos. Según McPherson (2014) en el caso de *MRE11*, deleciones en la región poli-T11 dentro del intrón 4 da como resultado un empalme aberrante y la producción de una proteína truncada. Esta mutación se encuentra en el 93% de los tumores de CCR con MSI (Inestabilidad microsatelital). Debido a esto sugerimos que las mutaciones en *MRE11* están fuertemente relacionadas a la proliferación de células cancerígenas.

Y en último lugar se encuentra el gen *GNL1* con un perfil de alteración de 1.8%. Este perfil presenta principalmente mutaciones de sentido erróneo presentes en 17/22 casos y mutaciones de amplificación en 3/22 casos. Krishnan (2018) realizó un experimento con líneas celulares de cáncer de colon y gástrico, como resultados obtuvo que la sobreexpresión por amplificación de *GNL1* junto a la proteína RPS20 indujo la capacidad de formación de colonias de líneas celulares de cáncer. También reportaron una relación inversa entre la expresión de *GNL1/RPS20* y la supervivencia de los pacientes. Todos estos datos sugieren que *GNL1* desempeña un papel crítico para el desarrollo de la carcinogénesis.

Comparando los anteriores datos con la Figura 7, esta nos muestra la frecuencia de alteración presente en los estudios del DCFI y PanCancer Atlas TCGA. En el caso del estudio del DCFI, los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* mostraron una frecuencia de alteración del 18.35% de los cuales el 10.1% corresponde a mutaciones de sentido erróneo, 7.58% amplificaciones, 0.34% de deleciones y 0.34% de múltiples alteraciones. El estudio del PanCancer Atlas TCGA presentó una frecuencia de alteración del 14.38% y el total corresponde a mutaciones de sentido erróneo. Según Pérez-Cala (2017) las mutaciones de sentido erróneo ocurren con mayor frecuencia en comparación con otras mutaciones y se dan en regiones del genoma con alta



inestabilidad microsatelital. Mutaciones en estos genes se asocian con cánceres colorrectales somáticos y hereditarios.

En la Figura 6 observamos que el paciente con la ID “TCGA-DY-A1DG” mostró una variante de amplificación en *SAMHD1* y *GNL1* presentando así una coocurrencia mutacional. También resaltamos las siguientes coocurrencias mutacionales: El paciente “TCGA-AZ-4315” presentó una mutación de sentido erróneo en *SAMHD1* y *POLE*, el paciente “TCGA-CK-4951” presentó una mutación de sentido erróneo en *GNL1* y *POLE*, el paciente “coadread\_dfci\_2016\_578” presentó una mutación de sentido erróneo en *GNL1* y *MRE11*, Los pacientes “TCGA-AG-A002” y “TCGA-EI-6917” presentaron comutaciones en *SAMHD1*, *MRE11* y *ASXL2*, etc.

Si comparamos los datos de la Figura 6 con los de la tabla 2, en esta podemos observar con mayor facilidad la coocurrencia mutacional presente en las 1351 muestras tomadas de los estudios del DCFI, PanCancer Atlas TCGA y MSKCC en base al Log2 Odds Ratio. Según Hoppe (2018) el Log2 Odds Ratio es una estadística que cuantifica la fuerza de la asociación y la dependencia entre dos eventos, A y B. Por ejemplo, la relación de coocurrencia entre *MRE11* y *POLE* mostro un Log2 Odds Ratio  $> 3$  esto nos indica que la presencia de las mutaciones en *MRE11* aumentan las probabilidades de las mutaciones en *POLE* y viceversa. Este caso también se cumple para la coocurrencia entre *POLE/ASXL2*, *MRE11/ASXL2*, *GNL1/POLE*, *GNL1/MRE11* y *SAMHD1/ASXL2*. La coocurrencia entre *SAMHD1* y *MRE11* nos dio un Log2 Odds Ratio = 1, esto nos indica que las mutaciones en *SAMHD1* son independientes a las mutaciones en *MRE11* y no guardan relación. Y por último la coocurrencia entre *SAMHD1/POLE* y *GNL1/ASXL2* mostro un Log2 Odds Ratio  $< 1$ , esto nos da una correlación negativa y nos indica que las mutaciones en *SAMHD1* reducen las probabilidades de mutaciones en *POLE* y a viceversa. El mismo caso se aplica para

*GNLI/ASXL2*. En base a estos datos creemos que la asociación y la coocurrencia mutacional entre genes con bajo perfil de alteración podrían cumplir un rol significativo en la carcinogénesis.

La Figura 8A nos muestra la incidencia de las mutaciones en *SAMHD1*, *GNLI*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* tanto en la población masculina como femenina. Notamos que la población masculina presenta un mayor conteo mutacional en comparación con la población femenina, esta diferencia es significativa con un valor de  $p < 0.01$ . GLOBOCAN y la OMS para el año 2020 reportaron una mayor incidencia de CCR para la población masculina (23.4%) en comparación con la población femenina (16.2%) y si hablamos de mortalidad la población masculina presenta mayor porcentaje de mortalidad (11%) en comparación con la población femenina (7.2%) (Bray et al., 2018).

Además, en ese mismo año GLOBOCAN reportó al CCR en el 4to lugar de incidencia en Perú con 4 636/69 849 nuevos casos (6.6.%) para ambos sexos, siendo superado por el cáncer de próstata, mama, y estómago. En la población masculina el CCR ocupa el 3er lugar con un 6.9% de incidencia y en la población femenina ocupa el 4to lugar con 6.4% de incidencia, a su vez, ocupa el 6to lugar de mortalidad con un 5.4%. Proponemos que las mutaciones en *SAMHD1*, *GNLI*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* actúan como posibles mini impulsores y aumenta la incidencia de CCR en la población masculina.

La Figura 8B nos muestra una comparación en base a la categoría CIMP. Según Mojarad (2013) el fenotipo metilador de islas CpG (CIMP) es una hipermetilación del genoma global, lo que resulta en la inactivación de los genes supresores de tumores y, por ende, al desarrollo del CCR. En nuestro análisis determinamos que los pacientes con bajo CIMP presentaron un mayor conteo mutacional de los 5 genes propuestos en comparación a las muestras con alto CIMP, pero, igual consideramos que el conteo mutacional presente en ambas categorías es considerable. En los

estudios de Yagi (2010) nos mencionan que algunos grupos de pacientes con CCR y CIMP-alto se asocian a un mal pronóstico y, por otro lado, los pacientes con CIMP-bajo presentaron un peor pronóstico en comparación con los pacientes con CIMP-negativo. Creemos que para ambos casos (CIMP-alto y CIMP-bajo) la hipermetilación junto a las mutaciones en *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* podrían presentar un efecto significativo en el inicio del desarrollo del CCR.

La Figura 8C nos muestra una comparación entre dos diferentes tipos de muestra: muestras de tejido tumoral con metástasis y tejido tumoral primario. Notamos que en los tejidos tumorales con metástasis el conteo mutacional de los 5 genes propuesto es casi nulo, al contrario, los tejidos tumorales primarios presentaron un alto conteo mutacional. Según la *Estadificación Del Cáncer - Instituto Nacional Del Cáncer*, (n.d.) un tumor primario es el tumor original o el primer tumor en aparecer, mientras que la metástasis es la diseminación de células cancerosas desde el lugar donde se formó el cáncer por primera vez hasta otra parte del cuerpo. Estos conceptos, sumados a nuestros resultados, respaldan nuestra teoría de que los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* podrían actuar como mini impulsores en la carcinogénesis de los tumores primarios, mas no estarían involucrados en la propagación o metástasis del cáncer.

La Figura 8D nos muestra el conteo mutacional presente en muestras de tumores con peor diagnóstico y muestras de tumores con un diagnóstico bueno o moderado. Observamos que las mutaciones en los 5 genes propuestos están presentes con mayor frecuencia en pacientes con un diagnóstico bueno o moderado en comparación con los que presentan un peor diagnóstico, esta diferencia es muy significativa con un valor de  $p < 0.0001$ . Rodríguez (2009) nos menciona que el pronóstico del cáncer de colon está muy relacionado con el grado de penetración del tumor a través de la pared intestinal. A su vez, Maqueda (2021) nos menciona que un mal pronóstico en su mayoría se relacionan a los estadios III y IV en cáncer de colon con presencia de metástasis y un

avanzado desarrollo del tumor. Estos datos respaldan nuestra hipótesis, ya que los 5 genes propuestos solo cumplirían con la función de impulsar el inicio del desarrollo tumoral, por lo tanto, el conteo mutacional sería mayor en aquellos pacientes con tumores en estadios iniciales (Estadios I o II) acompañados de un pronóstico bueno o moderado. Al contrario, el conteo mutacional sería menor en los pacientes con peor pronóstico, ya que, un mal pronóstico está más relacionado a los Estadios III o IV, estadios donde se empieza el desarrollo y propagación del tumor con fines metastásicos.

En la Figura 8E analizamos el estado del cáncer de la neoplasia en la persona y comparamos el conteo mutacional de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* entre pacientes libres de tumor y pacientes con tumor. Los pacientes con tumor presentaron un mayor conteo mutacional en comparación los que estaban libres de tumor, estos valores son bastante significativos con un valor de  $p=0.001$ . (Tao et al., 2019) nos explica que los pacientes con estado de cáncer de neoplasia positivos (con tumor) son mucho más propensos a la muerte o metástasis en comparación con los pacientes libres de tumor, los pronósticos son significativamente más optimistas cuando no se observa tumor en general. Por lo tanto, suponemos que la presencia de los 5 genes mini impulsores propuestos, junto a los impulsores principales, generarían una ventaja significativa para el desarrollo tumoral aumentando el número de mutaciones.

La Figura 8F expone el conteo mutacional de los 5 genes propuestos presente en 2 sitios anatómicos de la enfermedad tumoral: colon y recto. Los pacientes con presencia de tumor en el recto presentaron un mayor conteo mutacional en comparación con los pacientes que presentan tumor en el colon. Sung (2021) menciona que según la base de datos GLOBOCAN el cáncer de colon presenta una mayor incidencia en nuevos casos (6%) en comparación con el cáncer de recto (3.8%) y si hablamos de mortalidad el cáncer de colon sigue presentado una mayor incidencia

(5.8%) en comparación con el cáncer de recto (3.4%). En base a nuestra hipótesis creemos que *SAMHD1*, *GNLI*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* tienen una implicancia significativa en ambos tipos de cáncer, pero no lo suficiente como para tener un impacto en la incidencia de nuevos casos y mortalidad.

Creemos que es muy importante examinar la frecuencia mutacional según el sitio del cáncer de colon. Para esto, en la Figura 9A realizamos una comparación de 4 regiones diferentes del colon: colon transversal ascendente, ciego, recto y el ángulo esplénico del colon sigmoideo. El ángulo esplénico del colon sigmoideo presentó un mayor conteo mutacional y en segundo lugar encontramos al recto, estas 4 regiones mostraron una diferencia bastante significativa con un valor de  $p < 0.0001$  pero mencionamos que al comparar por separado colon transversal ascendente y ciego no se encontró una diferencia significativa, este mismo caso se aplica al comparar por separado al recto y al ángulo esplénico del colon sigmoideo.

Cuevas (2017) realizó estudio observacional descriptivo, retrospectivo, transversal de 40 pacientes con diagnóstico histológico de cáncer de colon en el Servicio de Cirugía del Hospital Central de IPS. En este estudio reportó una incidencia de cáncer de colon sigmoides 50%, ciego 20%, ascendente 15%, transversal 7.5%, esplénico 5% y descendente 2.5%. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en la Figura 9A ya que el mayor porcentaje de incidencia en cáncer lo obtuvo el colon sigmoides y a su vez en nuestros resultados el ángulo esplénico del colon sigmoideo presentó el mayor conteo mutacional de los genes *SAMHD1*, *GNLI*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2*. Creemos que las mutaciones presentes en los 5 genes propuestos podrían tener cierta implicancia en la elevada incidencia de cáncer de colon en la región sigmoides.

La Figura 9B representa 4 diferentes subtipos tumorales: COAD/READ CIN, COAD/READ GS, COAD/READ MSI y COAD/READ POLE. Además, observamos una

comparación del conteo mutacional presente en cada uno de estos subtipos. El subtipo COAD/READ POLE presento mayor frecuencia mutacional y le sigue el subtipo COAD/READ MSI. Resaltamos que los subtipos COAD/READ CIN y COAD/READ GS no presentaron conteo mutacional.

La Figura 9C nos muestra el número de mutaciones según el tipo de cáncer diagnosticado en los pacientes. Se tomaron en cuenta 4 tipos de cáncer detallados: adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma colorrectal, adenocarcinoma mucinoso de colon/recto y adenocarcinoma rectal. Obtuvimos un mayor conteo mutacional para adenocarcinoma rectal y en segundo lugar al adenocarcinoma mucinoso de colon/recto, estos resultados concuerdan con la Figura 8F que también nos muestra un mayor conteo mutacional en el tejido rectal. El tipo histopatológico más común es el adenocarcinoma colorrectal con un 95% (Cuevas, 2017). También resaltamos que el adenocarcinoma mucinoso (AM) es comúnmente estudiado histológicamente como un subtipo de adenocarcinoma colorrectal cuyo diagnóstico tardío frecuentemente se presenta en el 85% de los pacientes en estadios III y IV al momento del diagnóstico (Tamayo et al., 2017).

En el Anexo A, B y figura 10 realizamos un análisis para medir la expresión del mRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* en muestras de pacientes con CCR usando GEO y GEO2R, hicimos comparaciones entre tejido normal adyacente (control) y tejido tumoral (test). El Anexo A nos muestra la expresión de mRNA de los genes propuestos en 6 muestras de pacientes con CCR, no encontramos una diferencia significativa de la expresión de los genes entre la muestra control y la muestra tumoral. En el Anexo B realizamos el mismo análisis, pero con 12 muestras de pacientes con CCR, tampoco encontramos una diferencia significativa entre la muestra control y la muestra tumoral. Por último, la Figura 10 nos muestra la expresión de mRNA de los genes propuestos en 327 muestras de pacientes con CCR, en este análisis encontramos que los

genes *POLE*, *MRE11* y *GNL1* mostraron una diferencia significativa con un valor de  $p < 0.01$  mientras que *SAMHD1* y *ASXL2* no mostraron diferencias significativas con un valor de  $p > 0.01$ . Por lo cual creemos que *POLE*, *MRE11* y *GNL1* junto a otras mutaciones con baja frecuencia mutacional, podrían dar una ventaja significativa para el desarrollo de la carcinogénesis.

Las Figuras 11A y B nos muestra un análisis de enriquecimiento por rutas metabólicas basado en la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG). Para empezar, nos centraremos en las rutas asociadas al cáncer con expresión génica positiva y un p-Valor significativo para los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. Entre los más importantes, notamos que *MRE11* y *POLE* están relacionados con vías de vigilancia de mRNA, mecanismos de replicación de DNA, proteólisis mediada por ubiquitina, mecanismos de reparo y transición entre las fases del ciclo celular. Mientras que *GNL1* mostró vías metabólicas asociadas a la respuesta inmunológica como la diferenciación de células Th17 y vías de señalización de quimosinas.

Según Martínez (2012) dentro de las vías de vigilancia del mRNA podemos mencionar al factor de iniciación de la traducción eucariota (eIF4E), esta proteína presenta mayor expresión en cáncer y esta sobreexpresión puede promover la oncogénesis incrementando selectivamente la traducción de una serie de mRNAs que tienen un 5'UTR muy estructurado. Cabe destacar que esta sobreexpresión incrementa el reclutamiento selectivo de mRNAs que codifican proteínas relacionadas al cáncer de colon. Dentro de los mecanismos de replicación del DNA Cardona et al. (2015) nos menciona que las células cuentan con mecanismos complejos que vigilan la integridad del ADN, activando mecanismos de reparación cuando hay deficiencias o errores durante la replicación.

Una consecuencia potencial de los daños son las alteraciones permanentes en la estructura del ADN que pueden generar mutaciones, transformación carcinogénica y muerte celular. La

Figura 11B nos muestra con mayor claridad la relación entre *POLE*, *MRE11* y *GNL1* por medio de la ruta metabólica de la proteólisis mediada por ubiquitina, siendo esta más significativa para el gen *MRE11*. Galindo (2019) nos menciona que la proteólisis mediada por ubiquitina permite degradar rápidamente los componentes reguladores de los mecanismos moleculares, contribuyendo a la precisa sincronización de los complejos procesos celulares. La desregulación de la degradación de las proteínas está implicada en la transformación tumoral, entre otras enfermedades.

León (2019) indica que la carcinogénesis condiciona a que las células adquieran una proliferación celular exacerbada independientemente de las señales que regulan la activación del ciclo celular también menciona que las mutaciones deletéreas o la inhibición parcial o total de la expresión de los genes supresores tumorales estimulan la proliferación celular, al reducir la efectividad de los puntos de control que regulan el ciclo celular. Por otro lado, *GNL1* está asociado a respuestas inmunológicas como la diferenciación de linfocitos Th17 productores de citocinas IL17. Los estudios de Rial (2016) nos mencionan que la inflamación crónica puede facilitar el desarrollo de un cáncer o el crecimiento de los tumores, ya hace algún tiempo se reportó que IL-17 favorece la promoción de la carcinogénesis, crecimiento tumoral y angiogénesis en células tumorales.

En diversos estudios se ha llegado a la conclusión de que IL17 promueve el desarrollo de cáncer debido a sus efectos anti-apoptóticos y angiogénicos. Todos estos datos nos indican que las vías metabólicas asociadas a *MRE11*, *POLE* y *GNL1* podrían estar involucrados en la carcinogénesis. Las Figuras 12A y B nos muestra un análisis de enriquecimiento por rutas metabólicas según la Base de datos de rutas de Reactoma (REACTOME). Al igual que en la Figura 11, los genes *MRE11* y *POLE* presentan asociación a vías de vigilancia de mRNA, reparación de



DNA y ciclo celular. Pero en este caso, la Figura 12A nos muestra asociaciones mucho más específicas como los *Checkpoints* (punto de control) dentro del ciclo celular.

Se sabe que la desregulación del ciclo celular es un sello distintivo del cáncer y sus componentes han sido objetivo de estrategias inmunoterapéuticas. Según el *National Cancer Institute* (2019) la función de un punto de control es evitar que una respuesta inmunitaria sea tan fuerte que destruya las células sanas del cuerpo. Cuando el punto de control y las proteínas asociadas se unen, envían una señal de "apagado" a las células T disminuyendo la acción inmunológica y así evitan el daño a las células sanas, pero a su vez, puede evitar que el sistema inmunitario destruya el cáncer. Existen 3 principales puntos de control durante el ciclo celular: al final de la fase G1, al final de la fase G2 y durante la metafase en la Mitosis. Estos datos concuerdan con nuestros resultados ya que la Figura 12A nos muestra una asociación de *MRE11* y *POLE* con las vías metabólicas pertenecientes a la metafase, prometafase y anafase mitótica.

Otra vía que podemos mencionar es la “vía principal de *Splicing* de mRNA”. Según Di (2018) el empalme de pre-mRNA también es la clave para la patología de numerosas enfermedades, especialmente cánceres, esto es debido a que existen diferentes isoformas de empalme aberrante que regulan con precisión tres aspectos funcionales básicos en el cáncer: proliferación, metástasis y apoptosis. Por otro lado, la organización de la matriz extracelular (MEC) también cumple un rol importante en el desarrollo de la oncogénesis.

Según Caon (2020) la desregulación de la matriz extracelular altera el microambiente celular desencadenando el inicio o la rápida progresión de varias enfermedades, entre ellas el cáncer. El microambiente tumoral está constituido por: la matriz extracelular, células del estroma y la propia respuesta inmune que vendrían a ser determinantes de la morfología y clasificación tumoral, agresividad clínica, pronóstico y respuesta al tratamiento del tumor. Naranjo (2009) nos

menciona que las condiciones fisiológicas como patológicas, la comunicación recíproca entre células del estroma y el parénquima dirigen la expresión génica. Debido a esto creemos que la relación de la expresión de *MRE11* y *POLE* tendría algún efecto significativo en la función de la MEC en el tumor.

Para el gen *GNL1* en la Figura 12 podemos observar la relación con las vías de señalización por interleucinas e interferón gamma. Briukhovetska (2021) menciona que las interleucinas pueden actuar de dos formas en el microambiente tumoral, pueden nutrir un entorno que permita y favorezca el crecimiento del cáncer o, al mismo tiempo, sean esenciales para una respuesta inmunitaria productiva dirigida al tumor. El interferón gamma (IFN $\gamma$ ) es una de las interleucinas más estudiadas para la inmunoterapia contra el cáncer, Ni (2018) informaron que varios estudios reportaron una regulación positiva de IFN $\gamma$  y, a su vez, a la eliminación de células tumorales luego del bloqueo de algunos puntos de control. También se reportó que la resistencia a la inmunoterapia se atribuye a defectos en la señalización de IFN $\gamma$ , debido a esto, creemos que las mutaciones en *GNL1* podrían estar relacionadas a la desregulación de las interleucinas y la baja producción de IFN $\gamma$ .

La base de datos del Recurso de Ontología Genética (GENE ONTOLOGY) nos ayuda a entender la implicancia de *MRE11*, *POLE* y *GNL1* en procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares. La Figura 13A y B nos muestra que las mutaciones en *MRE11* y *POLE* están asociadas a procesos biológicos como división celular y replicación de DNA, la Figura 14A y B nos muestra las funciones moleculares correspondientes para ambos genes: actividad DNA helicasa, actividad ATPase y unión de DNA monocatenario. Y, por último, la Figura 15A y B nos muestra los componentes celulares a los cuales están asociados estos dos genes: Cromosoma y cinetocoro.

Anteriormente ya hemos mencionado la importancia de la división celular y la replicación de DNA en el desarrollo de la oncogénesis, pero, en este caso vamos a resaltar puntos más específicos, ¿Cómo es que *MRE11* y *POLE* influyen en las regiones del cromosoma? O ¿Cuál es la influencia de *POLE* y *MRE11* en la acción de la helicasa y la actividad ATPasa? Haschka (2018) nos menciona que una mitosis exacerbada es esencial para el desarrollo del cáncer, debido a esto, se ha usado diferentes tipos de fármacos como tratamiento para interferir con la mitosis. Últimamente se han desarrollado fármacos de segunda generación, a menudo denominados "bloqueadores mitóticos", cuyo objetivo es interferir con la formación adecuada del huso acromático, cinetocoro, la segregación cromosómica y/o la salida mitótica.

Creemos que *POLE* y *MRE11* actúan como impulsores mitóticos propiciando una salida mitótica prematura, forzando la segregación cromosómica o el deslizamiento mitótico con falla de citocinesis, aumentando la inestabilidad cromosómica y desarrollando características propias de la evolución del cáncer. Por otra parte, podemos mencionar al factor eIF4A, Sáez (2019) informa que eIF4A es una RNA helicasa con actividad ATPasa cuya función durante el inicio de la traducción consiste en desenrollar la estructura secundaria del RNAm en la región 5'-UTR, y así promover la unión al ribosoma 40S. Creemos que las mutaciones en *POLE* y *MRE11* conllevarían a fallos en el desenrollado de la estructura secundaria del RNAm, por lo tanto, esto conllevaría a una mala traducción y formación de proteínas aberrantes que darían lugar carcinogénesis.

Otro proceso biológico a considerar dentro del Recurso de Ontología Genética son las reacciones de transesterificación en las vías de RNA *splicing* mostradas es la Figura 13A y B, los genes *POLE* y *MRE11* muestran mayores valores de significancia para estas vías. A la par, en la Figura 14A y B observamos las funciones moleculares correspondientes: Actividad catalítica actuando sobre RNA, actividad del corregulador de la transcripción y la actividad del regulador

GTPasa. Y, por último, la Figura 15A y B nos muestra los componentes celulares relacionados como el complejo spliceosoma. Anteriormente, en la Figura 12, ya habíamos mencionado la importancia del RNA splicing, este proceso gobierna muchos aspectos de la proliferación, supervivencia y diferenciación celular teniendo en cuenta múltiples alteraciones con implicancia en muchos cánceres.

Según Wang (2020) el empalme previo al ARNm se produce mediante una reacción química conocida como transesterificación, en la que se eliminan los intrones para crear una molécula de ARNm maduro. La aparición de mutaciones somáticas en las proteínas del empalme o la expresión desregulada de los factores de empalme de la proteína de unión al ARN (RBP) contribuyen a que las transcripciones del ARNm se empalmen incorrectamente y apoyen el crecimiento del cáncer. Esto podría indicar que las mutaciones somáticas presentes en *MRE11* y *POLE* propician un alza en la desregulación del empalme previo del mRNA aumentando así las condiciones necesarias para el desarrollo del tumor.

Las Figuras 13, 14 y 15 también nos muestran asociación significativa entre *GNL1* y la organización de la matriz extracelular. Este proceso biológico presenta implicancia en el desarrollo del microambiente tumoral, la función molecular correspondiente a esta vía es la constitución estructural de la matriz y las uniones de colágeno. Como componentes celulares podemos mencionar a la adhesión focal de la matriz y la unión célula sustrato. Durante la metástasis se dan 4 fenómenos importantes: angiogénesis, migración celular, evasión de la respuesta inmunitaria y degradación de la matriz extracelular (MEC).

Según Leal (2021) para que la célula madre cancerígena pueda llegar al torrente sanguíneo y desde ahí invadir otros tejidos, es necesario que pueda atravesar la red molecular hecha de tejido conectivo, la cual contiene una serie de proteínas estructurales. Así, tanto las células tumorales

como las inflamatorias que circundan el tumor, liberan enzimas que van cortando y digiriendo todo este entramado molecular degradando así la matriz extracelular. Estas enzimas corresponden por lo general a metaloproteasas y se sabe que están aumentadas de manera generalizada en los procesos neoplásicos. Probablemente la acción de las mutaciones somáticas en *GNL1* promueva la liberación de metaloproteasas por parte de las células tumorales e inflamatorias ayudando así en el inicio y progresión del microambiente tumoral.

Otro proceso biológico asociado a *GNL1* es la activación de células T con la función molecular de activación y unión de citoquinas, además, la acción de componentes celulares como la vesícula endocítica y membrana vacuolar. Normalmente los linfocitos T citotóxicos reconocen los antígenos tumorales presentados por las células dendríticas y así poder atacar a las células cancerígenas. Pero, según Waldman et al., (2020) las células tumorales desarrollan distintos mecanismos para inactivar parcialmente la función de los linfocitos CD8+, presentándoles señales como PD-L1 que se unen a receptores PD-1 de las CD8+, con lo cual logran limitar su activación, haciendo creer al sistema inmune que el tumor “no es un agente extraño/externo”. Posiblemente las mutaciones en *GNL1* aumentan la acción de este sello distintivo del cáncer para evadir el sistema inmunológico y promover el crecimiento tumoral.

## VI. CONCLUSIONES

➤ Al usar tres bases de datos de alto impacto en cáncer (COSMIC, TCGA, cBioPortal) damos al estudio un óptimo grado de validez y aceptación de nuestros resultados.

➤ El gen *POLE* mostró la mayor frecuencia mutacional (7%) y como principal alteración obtuvimos las mutaciones de sentido erróneo en muestras de tejido tumoral.

➤ El gen *SAMHD1* mostró la segunda mayor frecuencia mutacional (6%) y como principal alteración mostró el mayor número de mutaciones por amplificación, la sobreexpresión de *SAMHD1* podría estar relacionada a la proliferación de células cancerosas.

➤ Los estudios del DFCI y PanCancer Atlas TCGA mostraron una frecuencia de alteración con un mayor número de mutaciones de sentido erróneo, siendo estas las que ocurren con mayor incidencia sobre todo en regiones del genoma con alta inestabilidad microsatelital (MSI) normalmente asociadas a tejidos tumoral.

➤ La coocurrencia mutacional entre *POLE* y *MRE11* presentaron mayores valores del Log2 Odds Ratio, debido a esto, aumentarían las probabilidades de mutaciones en *GNL1*, *AXL2* y *SAMHD1* generando un efecto mini impulsor en cadena.

➤ Los 5 genes propuestos presentaron un mayor conteo mutacional en la población masculina en comparación con la femenina indicando una mayor incidencia de CCR en hombres.

➤ Los pacientes con bajos valores de CIMP mostraron un mayor conteo mutacional mostrando que *SAMHD1*, *GNL1*, *MRE11*, *POLE* y *ASXL2* solo participarían durante el inicio de la carcinogénesis, que es donde se muestran niveles bajos de CIMP, respaldando su efecto como mini impulsores.

➤ Las muestras de pacientes con buen pronóstico y tejido tumoral primario mostraron un mayor conteo mutacional respaldando la hipótesis del efecto mini impulsor de los 5 genes propuestos como iniciadores de la carcinogénesis.

➤ Al comparar las muestras de pacientes libres de tumor y pacientes con presencia tumoral, claramente notamos la diferencia significativa al encontrar un mayor conteo mutacional en los pacientes con presencia de tumor, estos resultados nos indicarían que los 5 genes propuestos tienen cierta implicancia en la carcinogénesis.

➤ Al comparar los diferentes sitios del tumor encontramos un mayor conteo mutacional en la región sigmoideas del colon. En los diferentes tipos de cáncer detallado, el adenocarcinoma rectal mostro un mayor conteo mutacional.

➤ Los genes *GNL1*, *MRE11* y *POLE* están asociado a vías metabólicas con gran implicancia en el desarrollo del cáncer, entre las más importantes mencionamos a: Los defectos de reparación del DNA, *Checkpoints* del Ciclo celular, proteólisis mediada por ubiquitina, fallos durante el splicing del mRNA, organización de la matriz extracelular, diferenciación de células Th17, señalización del interferón gamma y señalización de citoquinas. Estas vías moleculares están directamente asociadas a algunos *Hallmarks* (sellos distintivos del cáncer) como: el mantenimiento de la señal proliferativa, resistencia a la muerte celular y la evasión del sistema inmunológico. Esta relación directa con los *Hallmarks* podría confirmarnos el significativo papel de *GNL1*, *MRE11* y *POLE* como mini impulsores en la aparición del Adenocarcinoma Colorrectal.

## VII. RECOMENDACIONES

➤ El presente estudio, es netamente bioinformático, a partir de datos previamente producidos y publicados. A causa de esto, las interpretaciones generadas proponen potenciales puntos de partida para futuros estudios experimentales. En dependencia de la disponibilidad de muestra, estos estudios podrían incluir material de pacientes (biopsias sólidas o líquidas), linajes celulares y/o modelos animales. La incidencia de CCR en Perú es bastante considerable, por eso, sería bueno empezar a desarrollar metodologías para optimizar el diagnóstico preventivo de CCR, mejorando el sistema de salud, así como la expectativa y calidad de vida de estos pacientes.

➤ También, se propone el análisis de otros genes que podrían ser considerados como mini impulsores en CCR: El gen *ARD1*, encargado de la acetilación de *SAMHD1* y de regular su actividad como dNTPasa. El gen *RPS20*, que junto a *GNL1* promueven la proliferación y supervivencia celular durante la carcinogénesis. Por último, *RAD50* y *NBS1* que junto a *MRE11* forman un complejo multiprotéico y participan en la reparación del DNA.



## VIII. REFERENCIAS

- American Cancer Society (2018). ¿ What is colorectal cancer? Atlanta, Ga: American Cancer Society [Archivo PDF].  
<https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8928.00.pdf>.
- About GEO DataSets - GEO - NCBI.* (2021).  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/datasets.html>
- Ballester, V., Rashtak, S., & Boardman, L. (2016). Clinical and molecular features of young-onset colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 22(5), 1736.  
<https://doi.org/10.3748/WJG.V22.I5.1736>
- Bennett, L., Howell, M., Memon, D., Smowton, C., Zhou, C., & Miller, C. J. (2018). Mutation pattern analysis reveals polygenic mini-drivers associated with relapse after surgery in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33276-3>
- Boddapati, N., Anbarasu, K., Suryaraja, R., Tendulkar, A. V., & Mahalingam, S. (2012). Subcellular Distribution of the Human Putative Nucleolar GTPase GNL1 is Regulated by a Novel Arginine/Lysine-Rich Domain and a GTP Binding Domain in a Cell Cycle-Dependent Manner. *Journal of Molecular Biology*, 416(3), 346–366.  
<https://doi.org/10.1016/J.JMB.2011.12.066>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018a). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424.  
<https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018b). Global

cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424.

<https://doi.org/10.3322/CAAC.21492>

Briukhovetska, D., Dörr, J., Endres, S., Libby, P., Dinarello, C. A., & Kobold, S. (2021).

Interleukins in cancer: from biology to therapy. *Nature Reviews Cancer* 2021 21:8, 21(8), 481–499. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00363-z>

Caon, I., Bartolini, B., Parnigoni, A., Caravà, E., Moretto, P., Viola, M., Karousou, E., Vigetti,

D., & Passi, A. (2020). Revisiting the hallmarks of cancer: The role of hyaluronan.

*Seminars in Cancer Biology*, 62, 9–19.

<https://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2019.07.007>

Cardona, Y. T., Aparecida, M., & Morales, M. (2015). *Recibido: noviembre 4 de 2014-*

*Aceptado: enero 30 de 13(2)*, 95–110.

Castro-Giner, F., Ratcliffe, P., & Tomlinson, I. (2015). The mini-driver model of polygenic cancer evolution. *Nature Reviews. Cancer*, 15(11), 680–685.

<https://doi.org/10.1038/NRC3999>

*cBioPortal for Cancer Genomics*. (n.d.). Retrieved February 11, 2022, from

<https://www.cbioportal.org/>

Chandrashekar, D. S., Bashel, B., Balasubramanya, S. A. H., Creighton, C. J., Ponce-Rodriguez, I., Chakravarthi, B. V. S. K., & Varambally, S. (2017). UALCAN: A Portal for Facilitating

Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses. *Neoplasia (United States)*, 19(8), 649–658. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.05.002>

Chibaudel, B., Tournigand, C., Bonnetain, F., Richa, H., Benetkiewicz, M., André, T., & de

Gramont, A. (2015). Therapeutic strategy in unresectable metastatic colorectal cancer: An

updated review. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 7(3), 153–169.

[https://doi.org/10.1177/1758834015572343/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_1758834015572343-FIG2.JPEG](https://doi.org/10.1177/1758834015572343/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1758834015572343-FIG2.JPEG)

Chubb, D., Broderick, P., Dobbins, S. E., Frampton, M., Kinnersley, B., Penegar, S., Price, A., Ma, Y. P., Sherborne, A. L., Palles, C., Timofeeva, M. N., Bishop, D. T., Dunlop, M. G., Tomlinson, I., & Houlston, R. S. (2016). Rare disruptive mutations and their contribution to the heritable risk of colorectal cancer. *Nature Communications*, 7.

<https://doi.org/10.1038/NCOMMS11883>

Ciardiello, F., Ciardiello, D., Martini, G., Napolitano, S., Tabernero, J., & Cervantes, A. (2022). Clinical management of metastatic colorectal cancer in the era of precision medicine. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(4), 372–401. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21728>

Cuevas, D. R. (2017). Caracterización de cáncer de colon. *Órgano Científico de La Sociedad Paraguaya de Cirugía*, 41, 8–13. [www.sopaci.org.py](http://www.sopaci.org.py)

Cui, R., Yang, L., Wang, Y., Zhong, M., Yu, M., & Chen, B. (2020). Elevated Expression of ASXL2 is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancer by Enhancing Tumorigenesis and Inducing Cell Proliferation. *Cancer Management and Research*, 12, 10221. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S266083>

Daou, S., Hammond-Martel, I., Mashtalir, N., Barbour, H., Gagnon, J., Iannantuono, N. V. G., Nkwe, N. Sen, Motorina, A., Pak, H., Yu, H., Wurtele, H., Milot, E., Mallette, F. A., Carbone, M., & Affar, E. B. (2015). The BAP1/ASXL2 Histone H2A Deubiquitinase Complex Regulates Cell Proliferation and Is Disrupted in Cancer. *The Journal of Biological Chemistry*, 290(48), 28643–28663. <https://doi.org/10.1074/JBC.M115.661553>

Dekker, E., Tanis, P. J., Vleugels, J. L. A., Kasi, P. M., & Wallace, M. B. (2019). Colorectal

cancer. *Lancet (London, England)*, 394(10207), 1467–1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)

Di, C., Syafrizayanti, Zhang, Q., Chen, Y., Wang, Y., Zhang, X., Liu, Y., Sun, C., Zhang, H., & Hoheisel, J. D. (2018). Function, clinical application, and strategies of Pre-mRNA splicing in cancer. *Cell Death & Differentiation* 26:7, 26(7), 1181–1194. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0231-3>

Domingo, E., Freeman-Mills, L., Rayner, E., Glaire, M., Briggs, S., Vermeulen, L., Fessler, E., Medema, J. P., Boot, A., Morreau, H., van Wezel, T., Liefers, G. J., Lothe, R. A., Danielsen, S. A., Sveen, A., Nesbakken, A., Zlobec, I., Lugli, A., Koelzer, V. H., ... Church, D. N. (2016). Somatic POLE proofreading domain mutation, immune response, and prognosis in colorectal cancer: a retrospective, pooled biomarker study. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 1(3), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30014-0/ATTACHMENT/3AB211D0-ED66-4D5E-B0EF-7B63DCD062CA/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30014-0/ATTACHMENT/3AB211D0-ED66-4D5E-B0EF-7B63DCD062CA/MMC1.PDF)

Du, X., Subba Rao, M. R. K., Chen, X. Q., Wu, W., Mahalingam, S., & Balasundaram, D. (2006). The homologous putative GTPases Grn1p from fission yeast and the human GNL3L are required for growth and play a role in processing of nucleolar pre-rRNA. *Molecular Biology of the Cell*, 17(1), 460–474. <https://doi.org/10.1091/MBC.E05-09-0848>

*Estadificación del cáncer - Instituto Nacional del Cáncer*. (n.d.). Retrieved February 11, 2022, from <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/estadificacion>

Fang, H., Barbour, J. A., Poulos, R. C., Katainen, R., Aaltonen, L. A., & Wong, J. W. H. (2020). Mutational processes of distinct POLE exonuclease domain mutants drive an enrichment of a specific TP53 mutation in colorectal cancer. *PLoS Genetics*, 16(2), e1008572.

<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1008572>

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018:

GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, *144*(8), 1941–1953.

<https://doi.org/10.1002/IJC.31937>

Forbes, S. A., Beare, D., Boutselakis, H., Bamford, S., Bindal, N., Tate, J., Cole, C. G., Ward, S., Dawson, E., Ponting, L., Stefancsik, R., Harsha, B., YinKok, C., Jia, M., Jubb, H., Sondka, Z., Thompson, S., De, T., & Campbell, P. J. (2017, January 1). *COSMIC: Somatic cancer genetics at high-resolution*. Nucleic Acids Research; Oxford University Press.

<https://doi.org/10.1093/NAR/GKW1121>

Galindo Moreno, M. (2019). *Importancia de la desregulación de la degradación de proteínas del ciclo celular en el cáncer* [Tesis de Doctorado, Universidad de Sevilla, España].

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=233445&info=resumen&idioma=SPA>

Gao, J., Lindsay, J., Watt, S., Bahceci, I., Lukasse, P., Abeshouse, A., Chen, H.-W., Bruijn, I. de, Gross, B., Li, D., Kundra, R., Heins, Z., Reis-Filho, J., Sumer, O., Sun, Y., Wang, J., Wang, Q., Zhang, H., Kumari, P., ... Schultz, N. (2016). Abstract 5277: The cBioPortal for cancer genomics and its application in precision oncology. *Cancer Research*, *76*(14 Supplement), 5277–5277.

<https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2016-5277>

Guerra, J., Pinto, C., Pinto, D., Pinheiro, M., Silva, R., Peixoto, A., Rocha, P., Veiga, I., Santos, C., Santos, R., Cabreira, V., Lopes, P., Henrique, R., & Teixeira, M. R. (2017). POLE somatic mutations in advanced colorectal cancer. *Cancer Medicine*, *6*(12), 2966–2971.

<https://doi.org/10.1002/CAM4.1245>

Haschka, M., Karbon, G., Fava, L. L., & Villunger, A. (2018). Perturbing mitosis for anti-cancer

therapy: is cell death the only answer? *EMBO Reports*, *19*(3), e45440.

<https://doi.org/10.15252/EMBR.201745440>

Henrikson, N. B., Webber, E. M., Goddard, K. A., Scrol, A., Piper, M., Williams, M. S., Zallen, D. T., Calonge, N., Ganiats, T. G., Janssens, A. C. J. W., Zauber, A., Lansdorp-Vogelaar, I., Van Ballegooijen, M., & Whitlock, E. P. (2015). Family history and the natural history of colorectal cancer: systematic review. *Genetics in Medicine*, *17*(9), 702–712.

<https://doi.org/10.1038/GIM.2014.188>

Hernández Illán, E. (2016). *Profundizando en el riesgo (epi)genético a cáncer colorrectal: Nuevos genes responsables y marcadores moleculares para el cribado* [Tesis de Doctorado, Universidad de Alicante, España]. <http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/57220>

Herold, N., Rudd, S. G., Sanjiv, K., Kutzner, J., Myrberg, I. H., Paulin, C. B. J., Olsen, T. K., Helleday, T., Henter, J. I., & Schaller, T. (2017). With me or against me: Tumor suppressor and drug resistance activities of SAMHD1. *Experimental Hematology*, *52*, 32–39.

<https://doi.org/10.1016/J.EXPHEM.2017.05.001>

Hindorff, L. A., Gillanders, E. M., & Manolio, T. A. (2011). Genetic architecture of cancer and other complex diseases: lessons learned and future directions. *Carcinogenesis*, *32*(7), 945–954. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGR056>

Hoppe, F. M., Hoppe, D. J., & Walter, S. D. (2018). Explaining odds ratios as conditional risk ratios. *Journal of Clinical Epidemiology*, *97*, 123–124.

<https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.10.009>

Ihara, K., Yamaguchi, S., Ueno, N., Tani, Y., Shida, Y., Ogata, H., Domeki, Y., Okamoto, K., Nakajima, M., Sasaki, K., Tsuchioka, T., Mitomi, H., & Kato, H. (2016). Expression of DNA double-strand break repair proteins predicts the response and prognosis of colorectal

cancer patients undergoing oxaliplatin-based chemotherapy. *Oncology Reports*, 35(3), 1349–1355. <https://doi.org/10.3892/OR.2015.4488/HTML>

*Immune Checkpoint Inhibitors - National Cancer Institute*. (2019).

<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/checkpoint-inhibitors>

Ji, X., Tang, C., Zhao, Q., Wang, W., Xiong, Y., & Goff, S. P. (2014). Structural basis of cellular dNTP regulation by SAMHD1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(41), E4305–E4314.

<https://doi.org/10.1073/PNAS.1412289111/-/DCSUPPLEMENTAL>

Ji, X., Wu, Y., Yan, J., Mehrens, J., Yang, H., Delucia, M., Hao, C., Gronenborn, A. M., Skowronski, J., Ahn, J., & Xiong, Y. (2013). Mechanism of allosteric activation of SAMHD1 by dGTP. *Nature Structural & Molecular Biology*, 20(11), 1304–1309.

<https://doi.org/10.1038/NSMB.2692>

Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, C., Xie, M., Zhang, Q., McMichael, J. F., Wyczalkowski, M. A., Leiserson, M. D. M., Miller, C. A., Welch, J. S., Walter, M. J., Wendl, M. C., Ley, T. J., Wilson, R. K., Raphael, B. J., & Ding, L. (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502(7471), 333–339. <https://doi.org/10.1038/NATURE12634>

Kane, D. P., & Shcherbakova, P. V. (2014). A common cancer-associated DNA polymerase  $\epsilon$  mutation causes an exceptionally strong mutator phenotype, indicating fidelity defects distinct from loss of proofreading. *Cancer Research*, 74(7), 1895.

<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2892>

Katoh, M. (2013). Functional and cancer genomics of ASXL family members. *British Journal of Cancer*, 109(2), 299. <https://doi.org/10.1038/BJC.2013.281>

- Krishnan, R., Boddapati, N., & Mahalingam, S. (2018). Interplay between human nucleolar GNL1 and RPS20 is critical to modulate cell proliferation. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29802-y>
- Krishnan, R., Murugiah, M., Lakshmi, N. P., & Mahalingam, S. (2020). Guanine nucleotide binding protein like-1 (GNL1) promotes cancer cell proliferation and survival through AKT/p21CIP1 signaling cascade. *Molecular Biology of the Cell*, 31(26), 2904–2920. <https://doi.org/10.1091/MBC.E20-04-0267/ASSET/IMAGES/LARGE/MBC-31-2904-G009.JPEG>
- Leal, J. R., Zavala, V., Garrido, F., Zolezzi, J., Barake, M. F., Labbé, T., Roje, D., & García-Bloj, B. (2021). Biological bases of cancer: a proposal of minimum contents for health schools. *International Journal of Medical and Surgical Sciences*, 8(3), 1–11. <https://doi.org/10.32457/IJMSS.V8I3.1606>
- Lee, E. J., Seo, J. H., Park, J.-H., Vo, T. T. L., An, S., Bae, S.-J., Le, H., Lee, H. S., Wee, H.-J., Lee, D., Chung, Y.-H., Kim, J. A., Jang, M.-K., Ryu, S. H., Yu, E., Jang, S. H., Park, Z. Y., Kim, K.-W., Ji Lee, E., ... Kim, K.-W. (2017). SAMHD1 acetylation enhances its deoxynucleotide triphosphohydrolase activity and promotes cancer cell proliferation. *Oncotarget*, 8(40), 68517–68529. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.19704>
- León, J. de, & Pareja, A. (2019). Inmunología del cáncer II: bases moleculares y celulares de la carcinogénesis. *Horizonte Médico (Lima)*, 19(2), 84–92. <https://doi.org/10.24265/HORIZMED.2019.V19N2.11>
- Maqueda Merino, A. (2021). *Estudio molecular mediante el método osna del ganglio centinela en el cáncer de colon* [Tesis de Doctorado, Universidad del País Vasco - Euskal Herriko Unibertsitatea, España].



<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=287673&info=resumen&idioma=SPA>

Martínez Reyes, I. (2012). *Mecanismos y vías de señalización implicados en la reprogramación metabólica en cáncer de colon* [Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Madrid, España].

[https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/12813/61672\\_martinez\\_reyes\\_inmaculada.pdf?sequence=1](https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/12813/61672_martinez_reyes_inmaculada.pdf?sequence=1)

Martínez, S. C. (2019). *Factores pronósticos y heterogeneidad tumoral en cáncer colorrectal esporádico. Estudio mediante técnicas morfológicas, arrays y secuenciación masiva* [Tesis de Doctorado, Universidad de Salamanca, España].

<https://doi.org/10.14201/GREDOS.140392>

McGranahan, N., Favero, F., De Bruin, E. C., Birkbak, N. J., Szallasi, Z., & Swanton, C. (2015). Clonal status of actionable driver events and the timing of mutational processes in cancer evolution. *Science Translational Medicine*, 7(283).

<https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAA1408>

McPherson, L. A., Shen, Y., & Ford, J. M. (2014). Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor LT-626: Sensitivity correlates with MRE11 mutations and synergizes with platinum and irinotecan in colorectal cancer cells. *Cancer Letters*, 343(2), 217–223.

<https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2013.10.034>

Mojarad, E. N., Kuppen, P. J. K., Aghdaei, H. A., & Zali, M. R. (2013). The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, 6(3), 120. <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v6i3.383>

Naranjo, T., Noguera-Salvá, R., Guerrero, F. (2009). *La matriz extracelular: morfología, función y biotensegridad (parte I)*. <http://www.patologia.es/volumen42/vol42-num4/42-4n02.htm>

- Ni, L., & Lu, J. (2018). Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Medicine*, 7(9), 4509–4516. <https://doi.org/10.1002/CAM4.1700>
- Ortiz, C., Carrillo, B., Dongo-Pflucker, K., Martín-Cruz, L., Barletta Carrillo, C., Mora-Alferez, P., & Arias, A. (2016). Inestabilidad de microsatélites en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, 36(1), 15–22. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1022-51292016000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292016000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Park, U. H., Kang, M. R., Kim, E. J., Kwon, Y. S., Hur, W., Yoon, S. K., Song, B. J., Park, J. H., Hwang, J. T., Jeong, J. C., & Um, S. J. (2015). ASXL2 promotes proliferation of breast cancer cells by linking ER $\alpha$  to histone methylation. *Oncogene* 2016 35:28, 35(28), 3742–3752. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.443>
- Peng, H., Prokop, J., Karar, J., Park, K., Cao, L., Harbour, J. W., Bowcock, A. M., Malkowicz, S. B., Cheung, M., Testa, J. R., & Rauscher, F. J. (2018). Familial and Somatic BAP1 Mutations Inactivate ASXL1/2-Mediated Allosteric Regulation of BAP1 Deubiquitinase by Targeting Multiple Independent Domains. *Cancer Research*, 78(5), 1200–1213. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2876>
- Pérez-Cala, T., Camargo, M., Martínez, A., Pérez-Cala, T., Camargo, M., & Martínez, A. (2017). Factores genéticos y epigenéticos del cáncer gástrico. *Actualidades Biológicas*, 39(106), 5–20. <https://doi.org/10.17533/UDEA.ACBI.V39N106A01>
- Rayner, E., Van Gool, I. C., Palles, C., Kearsley, S. E., Bosse, T., Tomlinson, I., & Church, D. N. (2016). A panoply of errors: polymerase proofreading domain mutations in cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 16(2), 71–81. <https://doi.org/10.1038/NRC.2015.12>
- Rentoft, M., Lindell, K., Tran, P., Chabes, A. L., Buckland, R. J., Watt, D. L., Marjavaara, L.,

- Nilsson, A. K., Melin, B., Trygg, J., Johansson, E., & Chabes, A. (2016). Heterozygous colon cancer-associated mutations of SAMHD1 have functional significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(17), 4723–4728. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1519128113/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Rial, A., & César, J. (2016). *Linfocitos TH17 Función e importancia en patologías*. *9*, 69–75. [http://revbiga.webs.uvigo.es/images/revbiga/2017/Revbiga\\_2017\\_04.pdf](http://revbiga.webs.uvigo.es/images/revbiga/2017/Revbiga_2017_04.pdf)
- Rodríguez, F., Roswell, E., González-Rodiles, H., Casaus, A. (2009). Cáncer de colon recurrente: consideraciones actuales. *SciELO*, *48*. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74932009000100012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74932009000100012)
- Sáez, D. B. (2019). *Coactivación de la RNA-helicasa eIF4A por el factor de iniciación eIF4B* [Tesis de Maestría, Universidad de Valencia, España]. [https://digital.csic.es/bitstream/10261/229220/1/TFM\\_DEFINITIVO\\_BorjaSaez.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/229220/1/TFM_DEFINITIVO_BorjaSaez.pdf)
- Shen, R., Li, P., Li, B., Zhang, B., Feng, L., & Cheng, S. (2020). Identification of Distinct Immune Subtypes in Colorectal Cancer Based on the Stromal Compartment. *Frontiers in Oncology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/FONC.2019.01497>
- Shinbrot, E., Henninger, E. E., Weinhold, N., Covington, K. R., Göksenin, A. Y., Schultz, N., Chao, H., Doddapaneni, H. V., Muzny, D. M., Gibbs, R. A., Sander, C., Pursell, Z. F., & Wheeler, D. A. (2014). Exonuclease mutations in DNA polymerase epsilon reveal replication strand specific mutation patterns and human origins of replication. *Genome Research*, *24*(11), 1740–1750. <https://doi.org/10.1101/GR.174789.114>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *70*(1), 7–30. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21590>
- Sinicrope, F. A. (2022). Increasing Incidence of Early-Onset Colorectal Cancer. *New England*

*Journal of Medicine*, 386(16), 1547–1558.

[https://doi.org/10.1056/NEJMRA2200869/SUPPL\\_FILE/NEJMRA2200869\\_DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJMRA2200869/SUPPL_FILE/NEJMRA2200869_DISCLOSURES.PDF)

Situ, Y., Chung, L., Lee, C. S., & Ho, V. (2019a). MRN (MRE11-RAD50-NBS1) Complex in Human Cancer and Prognostic Implications in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/IJMS20040816>

Situ, Y., Chung, L., Lee, C. S., & Ho, V. (2019b). MRN (MRE11-RAD50-NBS1) Complex in Human Cancer and Prognostic Implications in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 816, 20(4), 816.

<https://doi.org/10.3390/IJMS20040816>

Su, Y., Li, C., Liu, K., Wei, L., Li, D., Wang, W., Xu, Y., Pan, H., & Teng, L. (2020).

*Upregulation of Pole2 Promotes Clear Cell Renal Cell Carcinoma Progression via AKT/mTOR Pathway and Predicts a Poor Prognosis*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-35733/v1>

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21660>

Syed, A., & Tainer, J. A. (2018). The MRE11–RAD50–NBS1 Complex Conducts the Orchestration of Damage Signaling and Outcomes to Stress in DNA Replication and Repair. *Annual Review of Biochemistry*, 87, 263. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-062917-012415>

Tamayo, E. F., Gener, B. A. M., & Hernández, T. E. (2017). Transformación de pólipos

hiperplásicos a adenocarcinoma mucinoso ulcerado de colon. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar Del Río*, 21(3), 422–427.

<http://www.revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/2868/html>

Tao, Y., Rajaraman, A., Cui, X., Cui, Z., Eaton, J., Kim, H., Ma, J., & Schwartz, R. (2019).

*Improving personalized prediction of cancer prognoses with clonal evolution models.*

<https://doi.org/10.1101/761510>

Temko, D., Van Gool, I. C., Rayner, E., Glaire, M., Makino, S., Brown, M., Chegwidde, L.,

Palles, C., Depreeuw, J., Beggs, A., Stathopoulou, C., Mason, J., Baker, A. M., Williams, M., Cerundolo, V., Rei, M., Taylor, J. C., Schuh, A., Ahmed, A., ... Tomlinson, I. (2018).

Somatic POLE exonuclease domain mutations are early events in sporadic endometrial and colorectal carcinogenesis, determining driver mutational landscape, clonal neoantigen burden and immune response. *The Journal of Pathology*, 245(3), 283.

<https://doi.org/10.1002/PATH.5081>

*The Cancer Genome Atlas Program - National Cancer Institute.* (2019).

<https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>

Thierry, A. R., Mouliere, F., El Messaoudi, S., Mollevi, C., Lopez-Crapez, E., Rolet, F., Gillet, B., Gongora, C., Dechelotte, P., Robert, B., Del Rio, M., Lamy, P. J., Bibeau, F., Nouaille, M., Lorient, V., Jarrousse, A. S., Molina, F., Mathonnet, M., Pezet, D., & Ychou, M. (2014).

Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA. *Nature Medicine* 2014 20:4, 20(4), 430–435. <https://doi.org/10.1038/nm.3511>

Tomeczak, K., Czerwińska, P., & Wiznerowicz, M. (2015). The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemporary Oncology*, 19(1A), A68.

<https://doi.org/10.5114/WO.2014.47136>

- Unberath, P., Knell, C., Prokosch, H. U., & Christoph, J. (2019). Developing new analysis functions for a translational research platform: Extending the cBioPortal for cancer genomics. In *Studies in Health Technology and Informatics* (Vol. 258). IOS Press. <https://doi.org/10.3233/978-1-61499-959-1-46>
- Vilar, E., Bartnik, C. M., Stenzel, S. L., Raskin, L., Ahn, J., Moreno, V., Mukherjee, B., Iniesta, M. D., Morgan, M. A., Rennert, G., & Gruber, S. B. (2011). MRE11 deficiency increases sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition in microsatellite unstable colorectal cancers. *Cancer Research*, *71*(7), 2632–2642. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1120>
- Waldman, A. D., Fritz, J. M., & Lenardo, M. J. (2020). A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nature Reviews. Immunology*, *20*(11), 651–668. <https://doi.org/10.1038/S41577-020-0306-5>
- Wang, E., & Aifantis, I. (2020). RNA Splicing and Cancer. *Trends in Cancer*, *6*(8), 631–644. <https://doi.org/10.1016/J.TRECAN.2020.04.011>
- Weng, J., Li, S., Zhu, Z., Liu, Q., Zhang, R., Yang, Y., & Li, X. (2022). Exploring immunotherapy in colorectal cancer. *Journal of Hematology & Oncology 2022 15:1*, *15*(1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/S13045-022-01294-4>
- Xu, G. (2021). Expresión de miRNA, mRNA y lncRNA en cáncer colorrectal. *National Center for Biotechnology Information, Gene Expression Omnibus*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi>
- Yagi, K., Akagi, K., Hayashi, H., Nagae, G., Tsuji, S., Isagawa, T., Midorikawa, Y., Nishimura, Y., Sakamoto, H., Seto, Y., Aburatani, H., & Kaneda, A. (2010). Three DNA Methylation Epigenotypes in Human Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, *16*(1), 21–33.

<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2006>

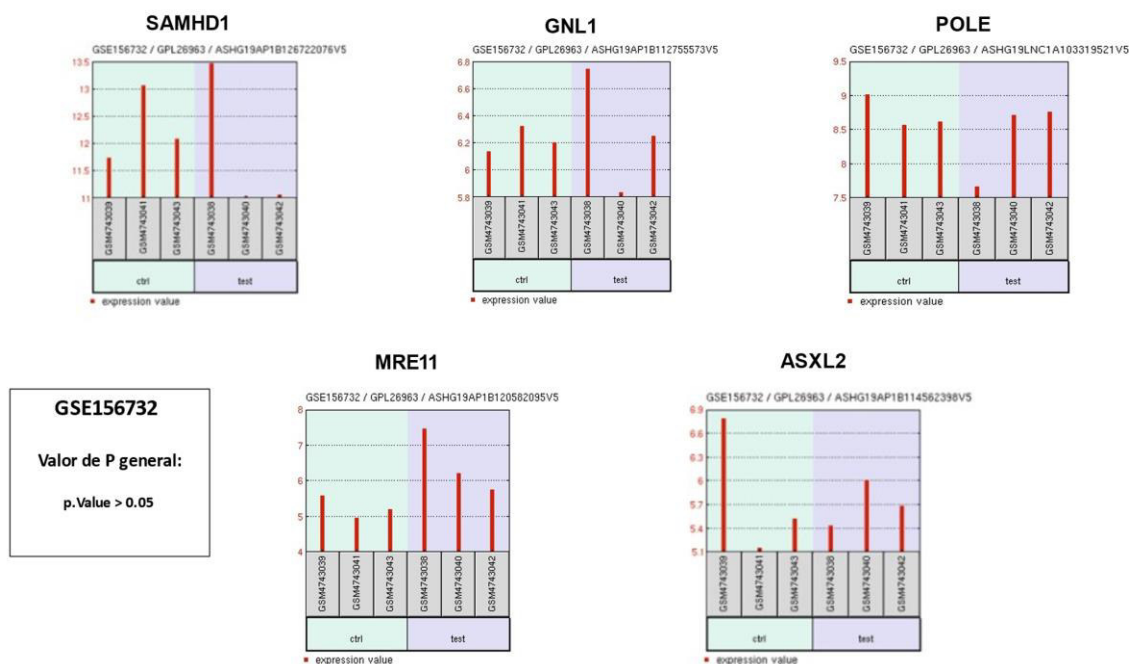
Yang, C. A., Huang, H. Y., Chang, Y. S., Lin, C. L., Lai, I. L., & Chang, J. G. (2017). DNA-Sensing and Nuclease Gene Expressions as Markers for Colorectal Cancer Progression. *Oncology*, 92(2), 115–124. <https://doi.org/10.1159/000452281>

## IX. ANEXOS

### Anexo A

#### Análisis con “GEO” y “GEO2R”

Valores de expresión de miRNA, mRNA y, lncRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* presentes en 6 muestras de pacientes con cáncer colorrectal (Xu, 2021).



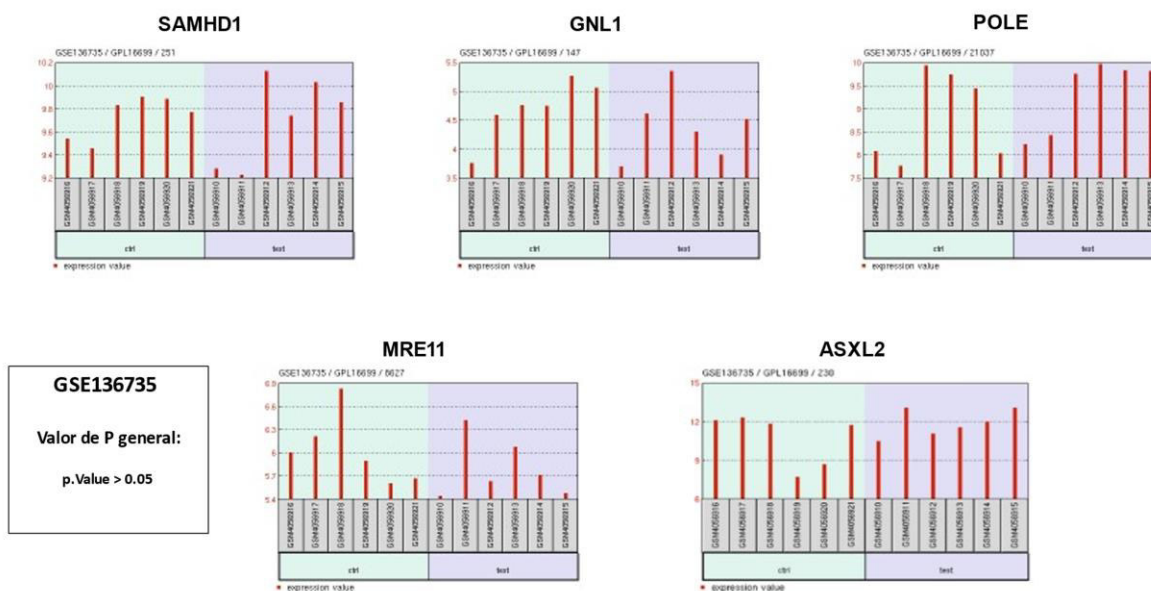
*Nota:* Como control se utilizó células del tejido normal adyacente al tumor y para las pruebas se usaron células del tejido tumoral.

En el Anexo A se analizó los valores de expresión de miRNA, mRNA y, lncRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* usando como control 3 muestras de tejido normal adyacente y como prueba 3 muestras de tejido tumoral extraídos de una biopsia de 6 pacientes con CCR. En esta prueba obtuvimos un p. Value > 0.05 lo cual nos indica que no hay una diferencia significativa entre la expresión de los genes mutados y no mutados.



## Anexo B

Valores de expresión de mRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* presentes en 12 muestras de pacientes con cáncer colorrectal (Shen et al., 2020).

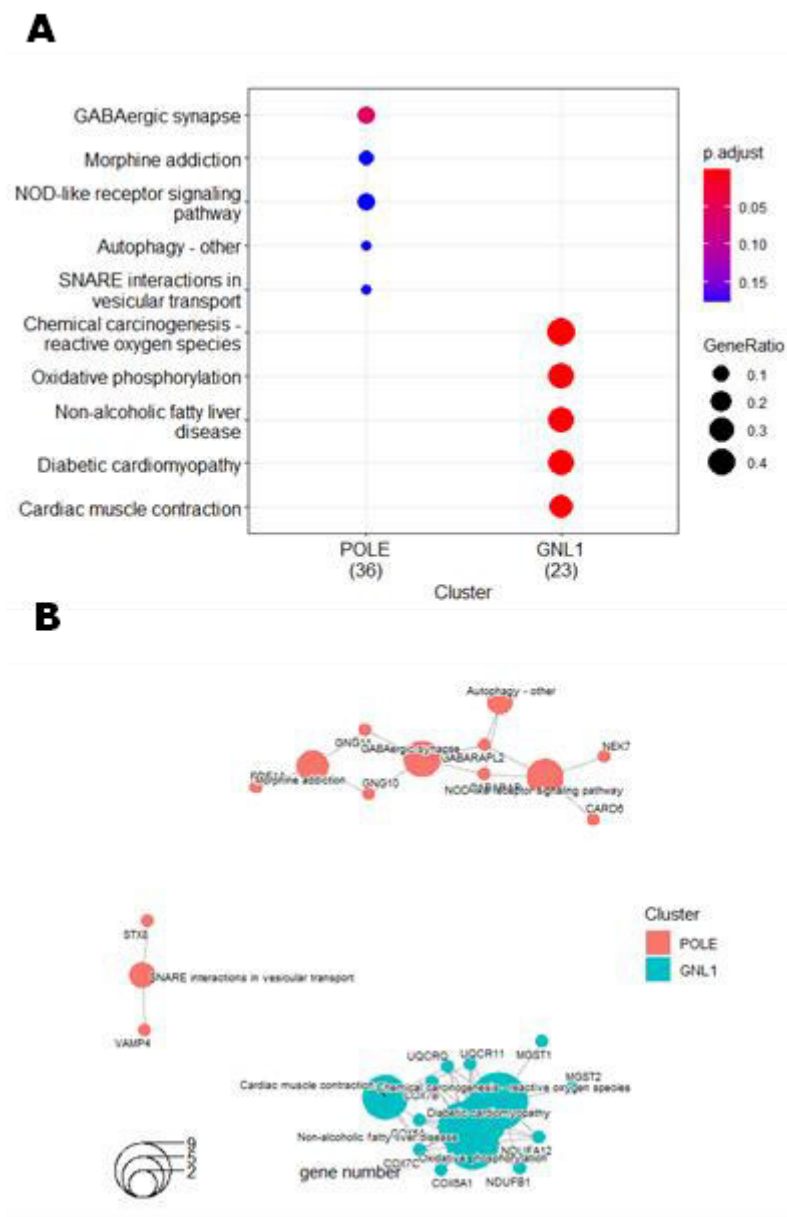


*Nota:* Como control se utilizó células del tejido normal adyacente al tumor y para las pruebas se usaron células del tejido tumoral.

En el Anexo B se analizó los valores de expresión de mRNA de los genes *SAMHD1*, *GNL1*, *POLE*, *MRE11* y *ASXL2* usando como control 6 muestras de tejido normal adyacente y como prueba 6 muestras tejido tumoral extraídos de biopsias de 12 pacientes con CCR. En este estudio obtuvimos un  $p$ . Value  $> 0.05$  lo cual nos indica que no hay una diferencia significativa entre la expresión de los genes mutados y no mutados.

## Anexo C

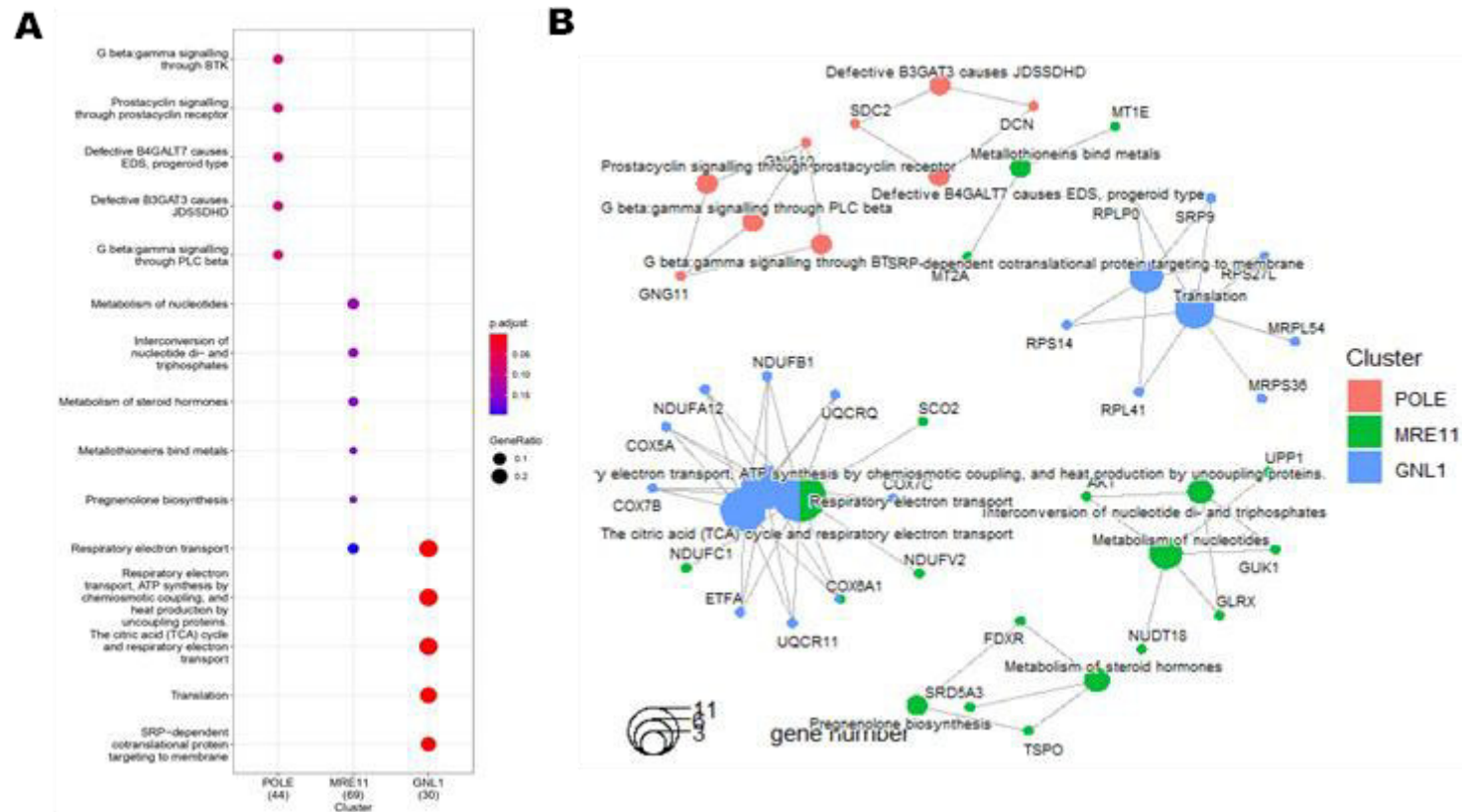
KEGG: Análisis de enriquecimiento por vías metabólicas y co-expresión génica negativa según la Enciclopedia de genes y genomas de Kioto.



Nota: (A) Diagrama de puntos (dotplot), vías metabólicas relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNLI*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNLI*.

## Anexo D

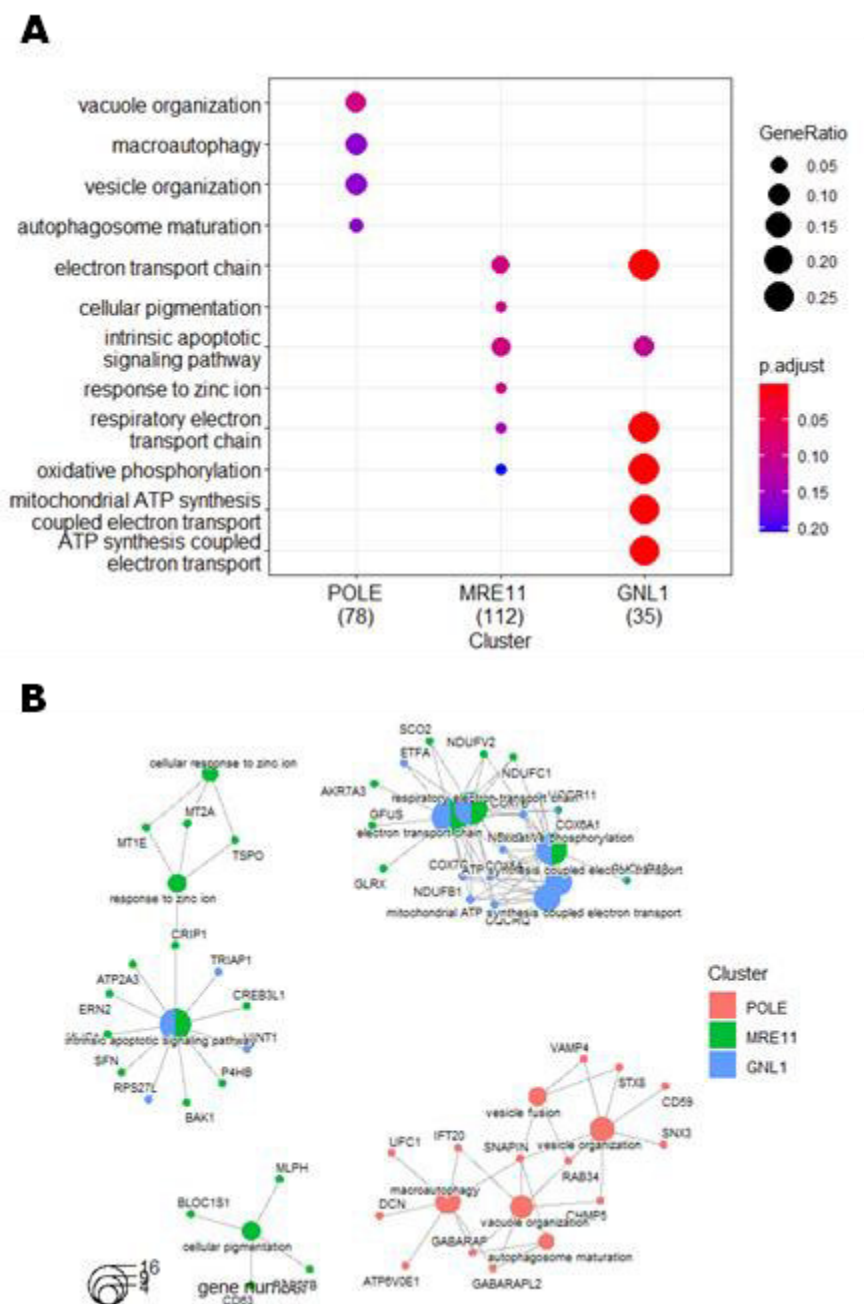
*REACTOME: Análisis de enriquecimiento por vías metabólicas y co-expresión génica según la Base de datos de rutas de Reactoma.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), vías metabólicas relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

## Anexo E

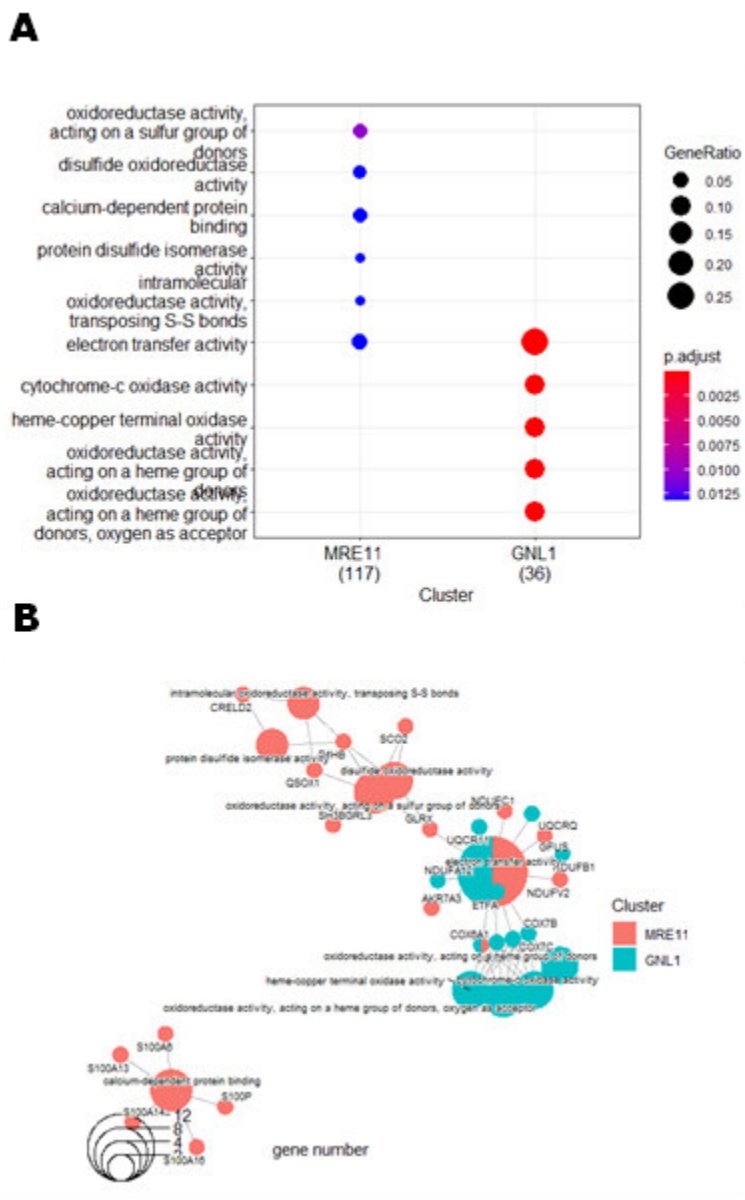
*Gene Ontology - Biological Process: Análisis de enriquecimiento por procesos biológicos y co-expresión génica negativa según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), procesos biológicos relacionados a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

## Anexo F

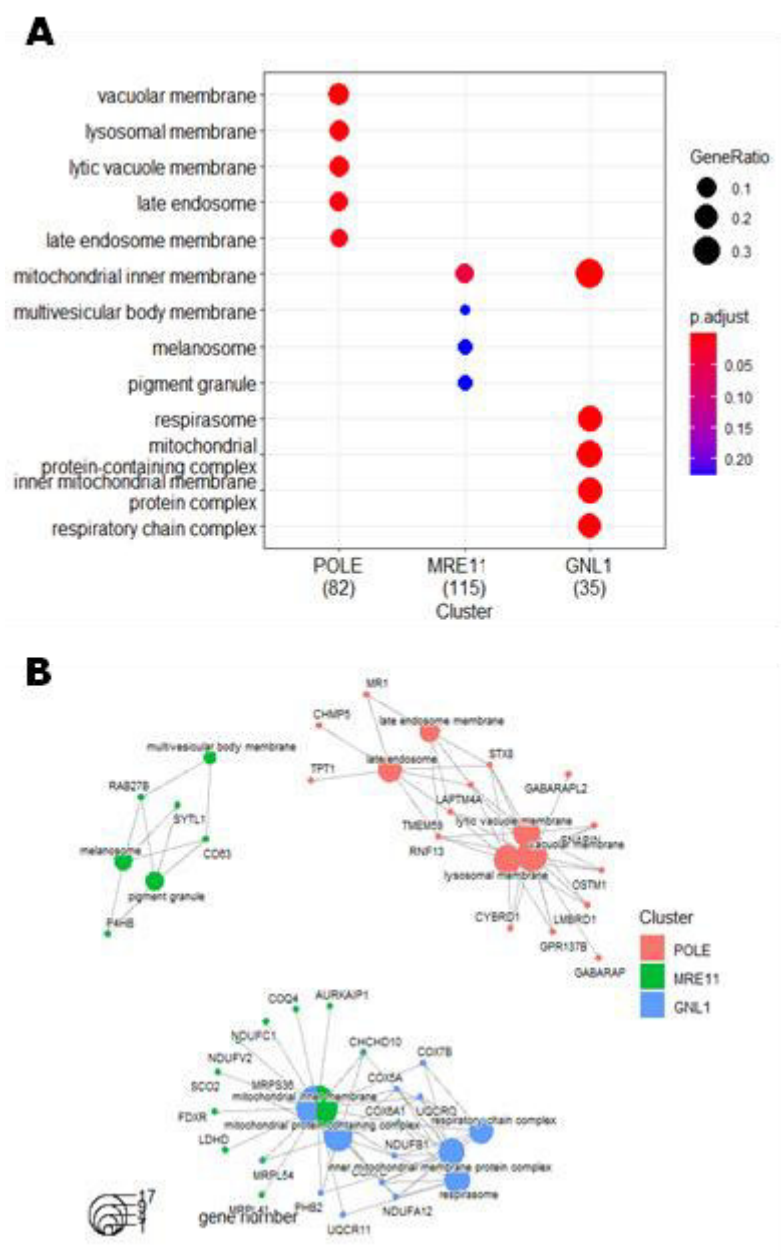
*Gene Ontology - Molecular Function: Análisis de enriquecimiento por funciones moleculares y co-expresión génica negativa según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), funciones moleculares relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica en *MRE11*, *POLE* y *GNL1*.

## Anexo G

*Gene Ontology – Cellular Component: Análisis de enriquecimiento por componentes celulares y co-expresión génica negativa según el Recurso de Ontología Genética.*



*Nota:* (A) Diagrama de puntos (dotplot), componentes moleculares relacionadas a los genes *MRE11*, *POLE* y *GNL1*. (B) Diagrama de redes (cnetplot), co-expresión génica.

**Anexo H**

*Datos de población y mediana correspondiente a los diferentes tipos de características clínicas evaluadas.*

Característica Clínica	Variable	Tamaño de muestra (n)	Mediana
Sexo	Femenino (A)	633	130
	Masculino (B)	512	117
Categoría CIMP	Bajo (A)	405	133
	Alto (B)	95	847
Tipo de Muestra	Metástasis (A)	69	6
	Primario (B)	597	97
Grado del Tumor	Peor (A)	47	492
	Bueno-Moderado (B)	503	141
Estado de Cáncer de Neoplasia en la Persona	Libre de tumor (A)	104	245
	Con tumor (B)	95.5	222
Sitio Anatómico de la Enfermedad Tumoral.	Colon (A)	388	112.5
	Recto (B)	134	91
Sitio del Tumor	Colon transversal ascendente (A)	201	184
	Ciego (B)	114	178
	Recto (C)	137	124
	Colon sigmoide del flexor esplénico (D)	166	119
Subtipo	COAD/READ CIN (A)	328	99.5
	COAD/READ GS (B)	58	102.5
	COAD/READ MSI (C)	63	1166
	COAD/READ POLE (D)	10	5760
Tipo Detallado de Cáncer	Adenocarcinoma de Colon (A)	335	107
	Adenocarcinoma Colorrectal (B)	757	124
	Adenocarcinoma mucinoso de colon y recto (C)	56	149
	Adenocarcinoma Rectal (D)	137	90

## Anexo I

