

UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE MOGROVEJO

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE MEDICINA HUMANA



**FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO RS67085638 DE LA REGIÓN
NO CODIFICANTE DEL ARN CCAT1 EN PACIENTES
DIAGNOSTICADOS DE CÁNCER COLORRECTAL EN UN HOSPITAL
DE CHICLAYO EN EL 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

VANESSA EDITH MEGO RUIZ

ASESOR

CRISTY MARGARET MANAYALLE TORRES

<https://orcid.org/0000-0002-1201-5555>

Chiclayo, 2021

**FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO RS67085638 DE LA
REGIÓN NO CODIFICANTE DEL ARN CCAT1 EN
PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE CÁNCER
COLORRECTAL EN UN HOSPITAL DE CHICLAYO EN EL
2019**

PRESENTADA POR
VANESSA EDITH MEGO RUIZ

A la Facultad de Medicina de la
Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
para optar el título de

MÉDICO CIRUJANO

APROBADA POR

Víctor Daniel Linares Baca
PRESIDENTE

José Alexander García Guerrero
SECRETARIO

Cristy Margaret Manayalle Torres
VOCAL

Dedicatoria

A Dios, por darme la vida, ser siempre mi guía y darme fortaleza en cada momento difícil.
A mi madre Edita, por ser siempre mi apoyo incondicional y darme sus consejos para nunca
 renderme hasta lograr mis metas.

 A mi padre, por siempre creer en mí y sentirse orgulloso de mis logros.

 A mis hermanos, por brindarme siempre su apoyo.

 A mi ángel, mi adorada hermana, que desde el cielo me ilumina en cada paso que doy.

A mi precioso hijo Sebastián, por ser mi mayor motivación para esforzarme hoy y siempre
 para que se sienta orgulloso de su madre.

 A Omar, mi compañero de vida, por su paciencia y amor en todo momento.

Agradecimientos

A mi asesora Cristy Margaret Manayalle Torres, por su dedicación y tiempo brindado durante
 el desarrollo de la presente investigación.

A los biólogos Luis Miguel Serquen López, Orlando Pérez Delgado y Alain Eduard Monsalve
 Mera, por brindarme sus conocimientos teórico-prácticas de polimorfismos durante el
 desarrollo de la presente investigación.

Índice

Resumen	5
Abstract	6
Introducción.....	7
Revisión de literatura.....	7
Materiales y métodos	8
Resultados y discusión	10
Conclusiones	12
Recomendaciones	12
Referencias bibliográficas.....	13
Anexos	16

Resumen

Objetivo: Determinar la frecuencia de polimorfismo rs67085638 de la región no codificante del ARN CCAT1 en pacientes con cáncer colorrectal en el Hospital Regional Lambayeque. **Materiales y métodos:** Estudio no experimental, descriptivo transversal prospectivo, con una muestra censal de 15 pacientes con diagnóstico de cáncer de colon y recto. Para el genotipado se empleó ADN de la mucosa labial, para la amplificación de la región de interés se emplearon cebadores CCAT1 F: TGAGAGTACCTACCACACAGAA y CCAT1 R: TCTCATAAGGAGCGCACAAC. Para la detección del polimorfismo rs67085638 de la variación de una citosina por timina (C >T) en la región no codificante CCAT1 se secuenció mediante el equipo HiSeq 2500 de ilumina. Para el análisis estadístico se empleó el software estadístico SPSS® versión 25.0 que determinó frecuencias absolutas y relativas. Es importante identificar este polimorfismo del gen CCAT 1 porque la sobreexpresión de este gen está relacionada con la sobrevida general y las posibles recurrencias. **Resultados:** La frecuencia de polimorfismo rs67085638 fue de 6 casos. De los cuales, 5 fueron heterocigotos (mutación en un solo alelo) y 1 homocigoto (mutación en los dos alelos). **Conclusiones:** Se concluyó que la frecuencia del polimorfismo rs67085638 (C >T) del CCAT1 se encuentra en el 40% de pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal, siendo predominante en el sexo femenino, estadio clínico III/IV y personas con Índice de Masa Corporal ≥ 25 .

Palabras clave: Polimorfismo de Nucleótido Simple, mutación, Neoplasias Colorrectales (Fuente: DeCS)

Abstract

Objective: To determine the frequency of rs67085638 polymorphism of the non-coding region of CCAT1 RNA in patients with colorectal cancer in Hospital Regional Lambayeque. **Materials and methods:** Non-experimental, prospective cross-sectional descriptive study, with a census sample of 15 patients diagnosed with colon and rectal cancer. For genotyping, labial mucosa DNA was used, for the amplification of the region of interest, primers CCAT1 F: TGAGAGTACCTACCACACAGAA and CCAT1 R: TTCATAAGGAGCGCACAAC were used. For the detection of the rs67085638 polymorphism of the variation of a cytosine by thymine (C> T) in the non-coding region CCAT1 was sequenced by means of the illumina HiSeq 2500 equipment. For statistical analysis the statistical software SPSS® version 25.0 was used, which determined absolute frequencies and frequencies. It is important to identify this polymorphism of the CCAT 1 gene because the overexpression of this gene is related to overall survival and possible recurrences. **Results:** The frequency of polymorphism rs67085638 was 6 cases. Of which, 5 were heterozygous (mutation in a single allele) and 1 homozygous (mutation in the two alleles). **Conclusions** It was concluded that the frequency of the rs67085638 (C> T) polymorphism of CCAT1 is found in 40% of patients with a diagnosis of colorectal cancer, being predominant in the female sex, clinical stage III / IV and people with Body Mass Index ≥ 25 .

Keywords: Polymorphism, Single Nucleotide, mutation, Colorectal Neoplasms (Source: MeSH)

Introducción

Según datos de GLOBOCAN 2018 (Global Cancer Observatory), el cáncer colorrectal es el segundo cáncer más común a nivel mundial, reportando una prevalencia de 62.8 por 100 000 habitantes. (1) Se prevé en el año 2030, aumente la incidencia en un 60%. (2) En el año 2018, en el Perú, el cáncer colorrectal es el tercero más común y se estimó una tasa de incidencia de este cáncer es de 13,3 casos por cada 100.000 habitantes. (1) En un perfil epidemiológico de las neoplasias malignas en Lambayeque 2012-2014, se describió una frecuencia de 4.3% de cáncer de colon. (3)

Las mutaciones en la secuencia del ADN pueden causar cáncer, conllevando a un crecimiento celular descontrolado, ya sea activando los oncogenes o inactivando los genes supresores de tumores (4).

Dentro de los genes involucrados en la patogenia del cáncer colorrectal, se describe el CCAT1 (Colorectal Cancer Associated Transcript 1), el cual fue caracterizado en un estudio de Nissan et al. en una población de Israel, demostrando que este gen se sobreexpresó en el 40% de pacientes en etapas premalignas y avanzadas de la enfermedad. (5) En otro estudio, Alaiyan et al. en una población de Israel, observaron la sobreexpresión del CCAT1 en el 90% de adenocarcinoma (6)

Ozawa et al. en Japón encontró que la alta expresión de CCAT1 se asoció significativamente con baja supervivencia general en pacientes con cáncer colorrectal. De los cuales, el 31% de pacientes se encontraban en estadio I-II y el 69% en estadio III/IV (7)

Asimismo, Li et al en China estudió la asociación de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) del CCAT1 con el cáncer colorrectal. Encontrando que el polimorfismo rs67085638 (C >T) se asoció con mayor riesgo de cáncer de colon. Asimismo, se encontró el polimorfismo rs67085638 en el 57% de pacientes en estadios I/II y en el 43% de pacientes estadios III/IV (8).

Los polimorfismos pueden variar según la raza y factores ambientales, ya sea por el riesgo basado en el genotipo de cada individuo, o por riesgo originado por la exposición al ambiente de esos genes polimórficos. (9) No se reporta hasta el momento búsqueda del polimorfismo rs67085638 en población peruana. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo de investigación es determinar la frecuencia del polimorfismo rs67085638 de la región no codificante del ARN CCAT1 en pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal en el Hospital Regional de Lambayeque; además, determinar su frecuencia según el sexo, la edad, el estadio clínico del cáncer e Índice de Masa Corporal (IMC).

Revisión de literatura

El tipo más frecuente de cáncer colorrectal es el adenocarcinoma (98%); mientras que otros menos frecuentes son linfoma, carcinoide y leiomiomasarcoma. (10)

Dentro de los factores de riesgo del cáncer colorrectal se encuentran a: edad mayor de 50 años; dieta rica en grasas con exceso consumo de carnes rojas y pobre en fibra; disminución de la ingesta de vitaminas A, C y E; alcoholismo y tabaquismo; historia personal de adenomas mayor de 2 cm de histología vellosa y multiplicidad; antecedente de enfermedad inflamatoria intestinal. (11,12)

Además, el 90% de casos de cáncer colorrectal son esporádicos y 10% restante se debe a síndromes hereditarios como poliposis colónica o adenomatosa familiar, cáncer colorrectal hereditario no polipósico o síndrome de Lynch y cáncer colorrectal familiar. (13)

Entre 50 a 90% de los cánceres colorrectales proviene de la transformación de epitelio colónico normal en pólipos displásicos o adenomas, lo cual tras diversas acumulaciones de cambios genéticos y epigenéticos progresa a tumores invasivos y metastásicos (14, 15)

En el año 2015, Guinney J et al realizaron un consenso para la clasificación molecular de cáncer colorrectal, describiendo cuatro subtipos: CMS1 (inestabilidad de microsatélites inmune, 14%) en la cual hay hipermutación en el gen BRAF y alta cantidad de alteraciones en el número de copias somáticas; tumores en CMS 2 (canónica, 37%) presentan diferenciación epitelial con mayor número de oncogenes y menor cantidad de genes supresores de tumores; CMS 3 (metabólico, 13%), donde hay baja cantidad de alteraciones en el número de copias somáticas y mayor sobreexpresión de mutaciones KRAS y finalmente; los tumores en CMS 4 (mesenquimal, 23%) que presentan sobreexpresión de genes implicados en la transición epitelial a mesenquimal, activación del factor de crecimiento transformante β (TGF- β), angiogénesis, sobreexpresión de proteínas implicadas en la infiltración estromal.(16)

Existen 3 mecanismos de mutación bien caracterizados en este tipo de cáncer: metilación del ADN, inestabilidad cromosómica (vía supresora) e inestabilidad de microsatélites (vía mutadora). La hipermetilación de citosinas localizadas en las islas CpG del promotor de determinados genes supresores de tumor conllevan a la inactivación transcripcional de estos genes. En la vía mutadora se produce la carcinogénesis por acúmulo de mutaciones en el genoma por alteración en el sistema de reparación del ADN, compuesto por siete genes: hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 y hPMS2. Por último, la inestabilidad cromosómica es el mecanismo más frecuente en el cáncer colorrectal y se caracteriza por presentar alteraciones cromosómicas con pérdidas y ganancias alélicas, causando inactivación de genes supresores de tumor (APC, SMAD4, DDC y TP53) y aumento de oncogenes (17,18)

Asimismo, dentro de las mutaciones involucradas en la etiopatogenia del cáncer colorrectal se ha encontrado polimorfismos del gen CCAT1 (Colorectal Cancer Associated Transcript 1), el cual es un ARN no codificante con una longitud de 2628 nucleótidos que se encuentra en el cromosoma 8q24.21, cerca del factor de transcripción c-MYC (5). Sin embargo, su función en la carcinogénesis aún no se define, pero se ha descrito que está sobreexpresado en fases premalignas y avanzadas del cáncer colorrectal. (6) Dentro de estas mutaciones en el CCAT1, se ha encontrado el polimorfismo de nucleótido simple (SNP) rs67085638 que se asocia a mayor riesgo de cáncer de colon, el cual es una variación de una citosina por timina (C >T). (8)

Cabe mencionar que los ARN largos no codificantes son un tipo de ARN que no se traduce a proteínas y tienen una longitud mayor de 200 pares de bases. (19) Además, se pueden aislar en diferentes fluidos corporales. (20)

Materiales y métodos

Estudio no experimental, descriptivo transversal prospectivo, realizado en el Hospital Regional Lambayeque (HRL), con una muestra censal de 16 pacientes con diagnóstico de cáncer de colon o recto atendidos entre mayo a agosto del 2019. Los criterios de inclusión fueron: pacientes con diagnóstico de cáncer de colon o recto en todos los estadios. Los criterios de exclusión fueron:

pacientes con diagnóstico concomitante de colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn y pacientes con resultado indeterminado para el polimorfismo rs67085638.

Se utilizó una ficha de recolección de datos en la que se incluyó variables como edad, sexo, grado de instrucción, estadio clínico del cáncer, sitio del tumor, historia familiar de cáncer e Índice de Masa Corporal (IMC), información que se tomó de la historia clínica y de la entrevista y se solicitó la firma del Consentimiento Informado a los pacientes que aceptaron participar del estudio.

Para el genotipado se empleó muestra de mucosa labial, el cual contiene ADN, suspendidas en 1 mL de suero fisiológico y almacenado a -30°C . El aislamiento de ADN se realizó mediante el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification (Promega). Para evaluar la calidad del ADN se amplificó con el control interno de betaglobina humana, se llevó a cabo en un volumen final de 12.5 uL, empleando ~20 ng de ADN; 1X PCR buffer; 0.2 mM dNTPs; 1.5mM MgCl₂; 0.2 uM de cada Primer(cebador) de betaglobina humana y 1 U Taq polimerasa, en un Termociclador Multigene (Labnet Inc.) bajo las siguientes condiciones 96°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 96°C durante 30 s, alineamiento a 56°C durante 30s, extensión a 72°C durante 30s , seguidos de un ciclo final de extensión final a 72°C durante 5 min. (21)

Para la amplificación de la región de interés se empleó los cebadores CCAT1 F: TGAGAGTACCTACCACACAGAA y CCAT1 R: TCTCATAAGGAGCGCACAAC. que fueron elaborados de Novo utilizando herramientas de análisis Bioinformático de secuencias como Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y UCSC In-Silico PCR (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>). (22)

Para estandarizar las amplificaciones por PCR con los primers CCAT1 se realizó un gradiente de temperatura de 54°C a 58°C y un gradiente de concentración de cloruro de Magnesio de 1.5mM - 4mM obteniéndose resultados óptimos a 57°C y 1.5mM de MgCl₂, posteriormente se realizó la amplificación de las 16 muestras a un volumen final de 40ul, empleando ~20 ng de ADN; 1X PCR buffer; 0.2 mM dNTPs; 1.5mM MgCl₂; 0.2 uM de cada Primer y 1 U Taq polimerasa bajo las siguientes condiciones 96°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 96°C durante 30s, alineamiento a 57°C durante 30s, extensión a 72°C durante 45s, seguidos de un ciclo final de extensión final a 72°C durante 5 min. Las reacciones de PCR fueron realizadas en un termociclador Termociclador Multigene (Labnet Inc.). (23)

Para detectar el polimorfismo C>T rs67085638 de la región no codificante del RNA CCAT1 se realizó el secuenciamiento del producto específico de amplificación de 307 pb, (8) secuenciado en las dos cadenas tanto en Forward como en Reverse, utilizando el equipo HiSeq 2500 de illumina (Macrogen). Para la detección de la mutación en la cadena Forward se empleó la secuencia flanqueante TGCT[C/T]ACCTCC y para la cadena reverse se empleó la secuencia flanqueante GGAGGT[G/A]AGCAG. (24) Posteriormente, estas secuencias obtenidas fueron analizadas en el programa informático MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis), se observó cada nucleótido de la secuencia editando manualmente de acuerdo al pico observado en el electroferograma.

Para el análisis estadístico se empleó el software estadístico SPSS® versión 25.0, de las variables cualitativas se empleó técnicas de estadística descriptiva para resumir los datos en frecuencias absolutas y relativas, medidas de tendencia central, medidas de dispersión.

La presente investigación fue aprobada por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo (USAT) y del Hospital Regional Lambayeque. Se hizo uso de un consentimiento informado. Los datos fueron codificados para mantener la confidencialidad de los mismos. Los resultados fueron entregados de manera personal por el médico tratante mediante vía telefónica y envío de los resultados por correo, el cual le explicó la presencia o ausencia del polimorfismo rs67085638 (C >T).

Resultados y discusión

La población total fue de 15 pacientes, se excluyó 1 paciente por presentar resultado indeterminado para el polimorfismo rs67085638. La mediana de edad fue de 64 años (RIQ: 41 – 68); 12 fueron mujeres. Las características demográficas y clínicas de acuerdo a la tabla 1. Once pacientes presentaron tumor a nivel de colon, diez con estadio clínico III y ocho con sobrepeso. Además, nueve pacientes respondieron tener antecedentes con cáncer en familiares de primer y segundo grado de consanguinidad: 3 cáncer gástrico, 2 cáncer de colon, 2 cáncer de útero, 1 cáncer de hígado y 1 cáncer de laringe.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes con cáncer colorrectal.

Variable	N
Sexo	
Femenino	12
Masculino	3
Edad (Mediana)	64 años
Grado de instrucción	
Sin estudios	1
Primaria	6
Secundaria	5
Superior	3
Estadio clínico	
II	2
III	10
IV	3
Sitio de tumor	
Colon	11
Recto	4
Historia familiar de cáncer	
Sí	9
No	6
IMC	
Bajo peso	1
Normal	4
Sobrepeso	8
Obesidad	2

La frecuencia de polimorfismo rs67085638 fue de 6/15 casos (Tabla 2). De los cuales, 5 fueron heterocigotos (mutación en un solo alelo) y 1 homocigoto (mutación en los dos alelos).

En la Tabla 2, de la frecuencia del polimorfismo rs67085638 para el sexo femenino 5 presentaron mutación. Además, 4/6 de los pacientes con polimorfismo tuvieron una edad mayor de 50 años. Para el estadio clínico II solo un paciente presentó mutación, estadio clínico III dos pacientes y estadio clínico IV tres pacientes. De acuerdo al IMC normal 2 pacientes presentaron la mutación y con sobrepeso 4 pacientes.

Tabla 2. Frecuencia de polimorfismo rs67085638 de la región no codificante del ARN CCAT1 en pacientes con cáncer colorrectal de acuerdo al sexo, estadio clínico e IMC

	Con Polimorfismo	Sin polimorfismo	Total
Sexo			
Femenino	5/12	7/12	12
Masculino	1/3	2/3	3
Edad			
< 50 años	2/4	2/4	4
≥ 50 años	4/11	7/11	11
Estadio clínico			
II	1/2	1/2	2
III	2/10	8/10	10
IV	3/3	–	3
IMC			
Bajo peso	–	1/1	1
Normal	2/4	2/4	4
Sobrepeso	4/8	4/8	8
Obesidad	–	2/2	2

Como se ha descrito, el polimorfismo rs67085638 del CCAT1 se encuentra en el 40% de pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Lo cual, es similar con una población China, Li et al. encontró este polimorfismo en el 36% de pacientes con cáncer colorrectal. (8)

Asimismo, cabe mencionar que este gen CCAT1 ha sido estudiado su sobreexpresión en otros países. En Israel, Nissan et al. encontró que está sobreexpresado en el 40% de pacientes con etapas premalignas y avanzadas del cáncer colorrectal. (5) Alaiyan en el mismo país mencionado, encontró que se encuentra altamente sobreexpresado en adenocarcinomas (90%). (6) Ozawa et al. en Japón encontró que se ha sobreexpresado en el 69% de cáncer colorrectal en estadio III/IV. (7)

Además, en nuestro estudio la mayor frecuencia del polimorfismo rs67085638 del CCAT1 fue en mujeres. Lo cual concuerda con el estudio de Alaiyan et al. encontrando mayor sobreexpresión del CCAT1 en mujeres. (6)

De acuerdo al estadio clínico del cáncer de colon, el polimorfismo no afecta al estadiaje porque es similar la frecuencia comparada con los que no lo tienen, presentándose 1 en estadio II, 2 en estadio III y 3 en estadio /IV. Lo cual fue coincidente con lo que encontrado en el estudio de Li et al, donde no encontraron asociación con el estadio clínico. Sin embargo, difiere con el estudio de Ozawa et al. donde encontraron asociación significativa la sobreexpresión del CCAT1 con el estadio clínico (sobreexpresado 69% en estadio III/IV).

También, de acuerdo con el IMC en nuestro estudio no hubo diferencias en las frecuencias entre los que presentan o no el polimorfismo rs67085638 del CCAT1. Similar a la población China, donde no se encontró asociación entre el polimorfismo y el IMC.

Este gen CCAT1 está en el cromosoma 8q24.21, conocido como el “desierto genético” porque hay pocos genes que codifiquen proteínas en esta región. Por lo tanto, hay varios ARN largos no codificantes que han demostrado mediante estudios que están sobreexpresados en diferentes cánceres. Pero, se desconoce el mecanismo exacto en la tumorigénesis de este cáncer. (7, 25)

La desregulación de CCAT1 se evidencia no sólo en pacientes con cáncer colorrectal, sino que también está presente en otros tipos de neoplasias como cáncer gástrico y carcinoma hepatocelular. (26)

Una limitación importante en este estudio fue la poca cantidad de pacientes que participaron. Esto se debe a que muchos pacientes con cáncer colorrectal del Servicio de Oncología del Hospital Regional Lambayeque habían fallecidos porque tenían cáncer colorrectal en estadios avanzados.

Asimismo, la sobreexpresión del CCAT 1 está relacionada con la sobrevida general y las posibles recurrencias, considerándose de utilidad su identificación como factor de riesgo y como un biomarcador para el pronóstico del cáncer colorrectal. (5)

Conclusiones

Se concluyó que la frecuencia del polimorfismo rs67085638 de la variación de una citosina por timina (C >T) en la región no codificante del ARN CCAT1 es de 40% en los pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Por ende, se debe incluir estudios genéticos en los pacientes porque la sobreexpresión del gen CCAT 1 está relacionado con menor sobrevida y mayor recurrencia de cáncer colorrectal.

Asimismo, este polimorfismo se presentó predominantemente en personas mayores de 50 años, el sexo femenino, estadio clínico III/IV y personas con Índice de Masa Corporal ≥ 25 .

Recomendaciones

Se sugiere realizar estudios genéticos y moleculares dentro del plan de trabajo en los Servicios de Oncología de los hospitales. Debido a la importancia del gen CCAT1, ya que interviene tanto en la carcinogénesis como en la proliferación, migración, resistencia de fármacos y supervivencia del paciente. (5)(27) Asimismo, se debe investigar los polimorfismos de nucleótido simple, como el polimorfismo rs67085638 descrito en el presente estudio, debido a que alteran la estructura y función de los ARN, regulación de traducción de ARNm a proteínas conllevando al cáncer. (28)

Además, se podría ampliar el estudio del polimorfismo rs67085638 del CCAT1 buscando asociación con los factores de riesgo del cáncer colorrectal.

Referencias bibliográficas

1. Global Cancer Observatory [Internet]. Francia: OMS; 2018 [acceso 23 de abril de 2019]. Cáncer colorrectal. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/home>
2. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud [Internet]. Estados Unidos: OPS/OMS [actualizado en mayo de 2017; acceso 14 de abril de 2018]. Cáncer colorrectal. Disponible en: <http://www.paho.org>
3. Barturen LE, Zafra JW. Perfil epidemiológico de las neoplasias malignas en el Hospital Regional Docente Las Mercedes y Hospital Regional Lambayeque 2012-2014 [tesis]. Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2015. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/623>
4. American Cancer Society [Internet]. Estados Unidos: ACS; 2017 [actualizado febrero del 2018; acceso 08 de mayo de 2018]. ¿Conocemos qué causa el cáncer colorrectal? Disponible en: <https://www.cancer.org>
5. Nissan A, Stojadinovic A, Mitrani-Rosenbaum S, Halle D, Grinbaum R, Roistacher M, et al. Colon cancer associated transcript-1: A novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues. *Int J Cancer* [Revista en internet]. 2012 [acceso 14 de abril de 2018]; 130 (7): 1598–606.
6. Alaiyan B, Ilyayev N, Stojadinovic A, Izadjoo M, Roistacher M, Pavlov V, et al. Differential expression of colon cancer associated transcript 1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence. *BMC Cancer* [Revista en internet]. 2013 [acceso 05 de abril de 2019]; 13 (1): 196.
7. Ozawa T, Matsuyama T, Toiyama Y, Takahashi N, Ishikawa T, Uetake H et al. CCAT1 and CCAT2 long noncoding RNAs, located within the 8q.24.21 ‘gene desert’, serve as important prognostic biomarkers in colorectal cancer. *Ann Onc* [Revista en internet]. 2017 [acceso 01 de mayo de 2018]; 28 (8).
8. Li Y, Fangyuan J, Dinga Y, Heb Q, Zhonga Y, Fan C. Long noncoding RNA CCAT1 polymorphisms are associated with the risk of colorectal cancer. *Rev Elsevier* [Revista en Internet]. 2018 [acceso 01 de mayo de 2018]; 222–223 (2018): 13–19.
9. Moran Y et al. Distribución de polimorfismos genéticos de interleuquina-1 en individuos de la región centroccidental de Venezuela. *Acta biol. Colomb* [Revista en internet]. 2009 [acceso 01 de julio de 2018]; 14 (01): 185-94.
10. Galiano MT. Cáncer colorrectal (CCR). *Rev Col* [Revista en Internet]. 2005 [acceso 25 de abril de 2018]; 20 (01): 43-53.
11. Vargas AJ, Thompson PA. Diet and nutrient factors in colorectal cáncer risk. *Nutr Clin Pract* [Revista en Internet]. 2012 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 27 (5): 613-23.
12. Molina R, Jiménez AM, López M, Álvarez M. Cáncer colorrectal. *Medicine* [Revista en internet]. 2017 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 12 (32): 1911-8.

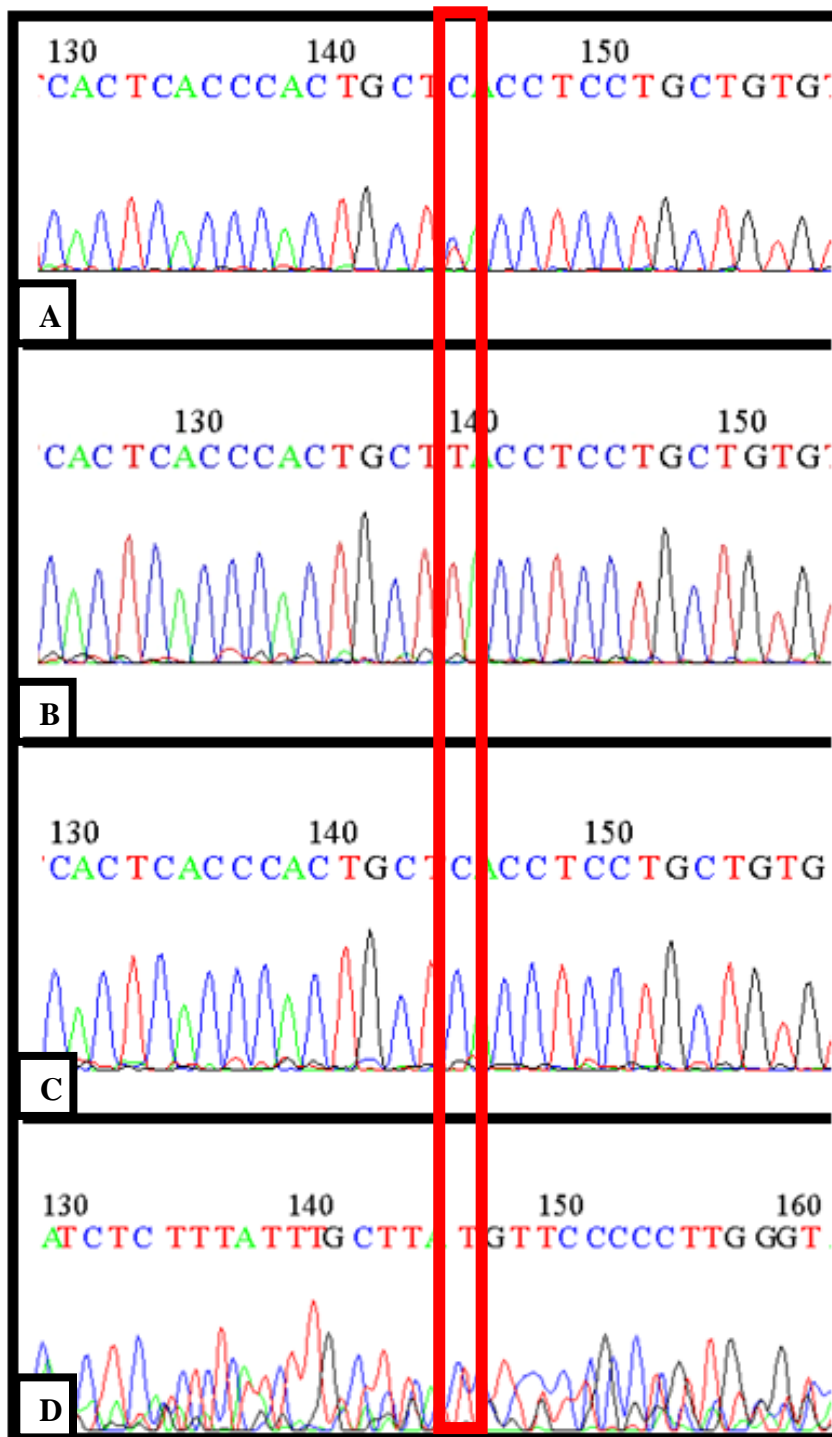
13. Hisamudding IM, Yang VW. Genetics of colorectal cancer. *Med Gen Med [Revista en Internet]*. 2004 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 6 (3): 13
14. Valinluck V, Grady W. Epigenetics and Colorectal Cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol [Revista en internet]*. 2011 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 8(12): 686–700.
15. Grady WM. Epigenetic events in the colorectum and in colon cancer. *Biochem Soc Trans. [Revista en internet]*. 2005 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 33(4): 684-8.
16. Guinney J. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature [Revista en internet]*. 2015 [acceso 30 de junio de 2020]; 21 (11): 1350-62
17. Palacio Rua AK, Muñeton Peña CM. Bases moleculares del cáncer colorectal. *Iatreia [Revista en internet]*. 2012 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 25 (2): 137-48
18. Perea J., Lomas M., Hidalgo M. Bases moleculares del cáncer colorrectal: ¿Hacia un manejo individualizado? *Rev. esp. enferm. dig. [Internet]*. 2011 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 103 (1): 29-35
19. Qi P., Du X. The long non-coding RNAs, a new cancer diagnostic and therapeutic gold mine, *Mod. Pathol.*, 2013, 26: 155-165
20. Schwarzenbach H., Nishida N., Calin G.A., Pantel K. Clinical relevance of circulation cell-free microRNAs in cancer, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2014, 11: 145-156.
21. Talmaci R, Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Coriu D, Colita D, Gavrilă L. Scanning of beta-globin gene for identification of beta-thalassemia mutation in Romanian population. *J Cell Mol Med [Internet]*. 2004 [acceso 15 de noviembre de 2018]; 8 (2): 232-240.
22. Roy N, Abraham A. Primer designing and In-Silico PCR for α_{1b} adrenergic receptors. *IJLTET [Internet]*. 2016 [acceso 15 de noviembre de 2018]; 25-30.
23. Parra E, Castañeda E, Moreno J. Identificación de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis* por reacción en cadena de la polimerasa. *Biomédica [Internet]*. 2007 [acceso 15 de noviembre de 2018]; 27 (3): 454-460.
24. NCBI. Reference SNP (rs) Report [Internet]. Estados Unidos: NCBI. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs67085638>
25. Grisanzio C, Freedman ML. Chromosome 8q24-associated cancers and MYC. *Genes Cancer [Internet]*. 2010 [acceso 15 de noviembre de 2019]; 1 (6): 555–9
26. Xin Y, Li Z, Shen J, Chan MT, Wu W. CCAT1: a pivotal oncogenic long non-coding RNA in human cancers. *Cell Prolif [Internet]*. 2016 [acceso 17 de abril de 2018]; 49 (3): 255–60.

27. Wang N, Yu Y, Xu B, Zhang M, Li Q, Miao L. Pivotal prognostic and diagnostic role of the long non-coding RNA colon cancer-associated transcript 1 expression in human cancer. *Mol Med Rep* [Internet]. 2019 [acceso 17 de abril de 2020]; 19 (2): 771-782

28. Gargallo C. Susceptibilidad genética del cáncer colorrectal. Influencia de polimorfismos genéticos en el desarrollo de cáncer colorrectal y lesiones preneoplásicas en familiares de primer grado de pacientes con cáncer colorrectal. [tesis]. España: Universidad de Zaragoza; 2016. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/48326/files/TESIS-2016-121.pdf>

Anexos

Figura 1. Electroferogramas del polimorfismo rs67085638 del CCAT1 en pacientes con cáncer colorrectal



- A) Electroferograma de presencia del polimorfismo rs67085638 (C >T): variante heterocigótico.
 B) Electroferograma de presencia del polimorfismo rs67085638 (C >T): variante homocigótico.
 C) Electroferograma sin presencia del polimorfismo rs67085638 (C >T)
 D) Electroferograma indeterminado