



Expertos Invitados

● ASPECTOS ACTUALES DEL TRATAMIENTO ANTIBIOTICO Y LA LIBERACION DE ENDOTOXINAS

Columnista Experto de SIIC

Dr. René Gordon Holzheimer

Director. Hernia – Phlebology – Proctology Surgery., Sauerlach, Alemania

La endotoxina es una de las causas principales de sepsis por gramnegativos en los seres humanos.¹ El significado clínico de la endotoxina y su relación con la mortalidad fueron demostrados en diversos estudios.²⁻⁶ Revisiones recientes analizaron la fiebre inducida por drogas –por ejemplo, antibióticos– como posible causa de la fiebre de origen desconocido.^{7,8} Desde que Jackson y Kropp (1992) demostraron que los antibióticos específicos de la proteína ligadora de penicilina (PLP) 2 (imipenem) pueden liberar menores cantidades de endotoxina libre que los antibióticos específicos de la PLP 3 (ceftazidima), que se asocian con la formación de filamentos por parte del patógeno, se ha asumido que el potencial de los antibióticos para liberar endotoxina e influir en la evolución de los pacientes con sepsis podría ser diferente. Sin embargo, otros componentes de la pared bacteriana como el ácido lipoteicoico (LTA), podrían estar involucrados en la respuesta del huésped luego del tratamiento antibiótico.¹⁰

Estudios *in vitro*

Se realizaron muchos estudios *in vitro* con diferentes patógenos y antibióticos. El efecto de la penicilina se investigó en *Neisseria meningitidis*, estreptococos del grupo A, *Staphylococcus aureus*, *Meningococcus* y *Streptococcus faecium*. En la mayoría de los ensayos, la penicilina liberó lipopolisacáridos (LPS), LTA, interleuquina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (FNT alfa) (tabla 1).

Tabla 1: Los efectos de la penicilina en la liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1980	Anderssen ¹¹	<i>N meningitis</i>	LPS+
1981	Kessler ¹²	<i>S grupo A</i>	LTA, sLTA +
1985	Gold ¹³	<i>S faecium</i>	IL-1 +
1986	Nealon ¹⁴	<i>S group A, S aureus</i>	LTA +
1987	Kiriyama ¹⁵	<i>S aureus</i>	LTA +
1991	Mellado ¹⁶	<i>N meningitis</i>	LPS+
1992	Iino ¹⁷	<i>LPS</i>	FNT +
1997	Prins ¹⁸	<i>Meningococcus</i>	LPS-

LPS Lipopolisacárido; LTA Acido lipoteicoico; IL-1 Interleuquina-1; FNT -alfa Factor de necrosis tumoral alfa

El efecto de la terapia con aminoglucósidos en la liberación de endotoxina se estudió principalmente en *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *E. cloacae*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. y *Neisseria* spp. Según qué patógeno se analizara, la gentamicina fue capaz de aumentar o disminuir la liberación de endotoxina o de no mostrar efecto en comparación con los controles.

La mayoría de los estudios demostraron la disminución de la liberación de FNT alfa luego del tratamiento con aminoglucósidos. La tobramicina causó una disminución de liberación de LPS y la amikacina indujo una disminución de la liberación de LPS y de FNT (tabla 2). En la mayoría de los estudios el imipenem, el compuesto mejor estudiado fue capaz de disminuir la liberación de endotoxina o la liberación de FNT alfa e IL-6. Sin embargo, en estudios recientes,^{35,39} el imipenem incrementó la liberación de endotoxina y FNT alfa o bien no tuvo efecto alguno. (tabla 3).

Tabla 2: Los efectos de la amikacina/gentamicina en la liberación de proteínas/ citoquinas/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Aminoglucósido	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1975	Rusmin ¹⁹	G	<i>E coli</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>P aeruginosa</i>	LPS+
1985	Shenep ²⁰	G	<i>E coli</i>	LPS+
1986	Coher ²¹	G	<i>E coli</i>	LPS-
1989	Stokes ²²	G		FNT +
1991	Simon ²²	A	<i>E coli</i> , célula THP	FNT-
1992	Binger ²³	A	<i>H influenzae</i>	LPS-
1992	Van den Berg ²⁴	G	<i>E coli</i>	LPS+
1993	Eng ²⁵	G	<i>E coli</i> <i>K pneumoniae</i> <i>E cloacae</i> <i>P aeruginosa</i> <i>S aureus</i>	LPS- LPS- Sin efecto Sin efecto Sin endotoxina
1993	Evans ²⁶	G	<i>E coli</i>	LPS+
1994	Crosby ²⁷	T	<i>E coli</i> , <i>E cloacae</i>	LPS-
1995	Prins ²⁸	G	<i>E coli</i>	FNT-
1996	Lamp ²⁹	A	<i>E coli</i> , <i>P aeruginosa</i>	LPS-
1998	Van Langevelde ³⁰	G	<i>S aureus</i>	LTA, PG +
1998	Trautmarm ³¹	T	<i>E coli</i>	LPS-
2000	Sjolin ³³	T	<i>E coli</i>	LPS-
2001	Xu ³⁴	A	<i>P aeruginosa</i> , <i>E coli</i>	LPS-
2002	Bentley ³⁵	A	<i>E coli</i> , Sangre entera	LPS-, FNT-
2002	Krehmeier ³⁶	G	PBMC	FNT-
2003	Tsumura ³⁷	G	<i>E coli</i>	LPS+
2003	Goscinski ³⁸	T	<i>E coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Neisseria</i>	LPS-

LPS Lipopolisacárido; LTA Acido lipoteicoico; IL-1 Interleuquina-1; FNT-alfa Factor de necrosis tumoral alfa
G gentamicina; A amikacina; T tobramicina

Tabla 3: Los efectos del imipenem en la liberación de proteínas/ citoquinas/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1991	Simon ²³	<i>E coli</i> , célula THP	FNT-
1991	Dofferhoff ⁴⁰	<i>E coli</i>	LPS-
1992	Jackson ^P	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
1993	Arditi ⁴¹	<i>H influenzae</i>	FNT-
1993	Evans ²⁶	<i>E coli</i>	LPS+
1993	Dofferhoff ⁴²	<i>E coli</i>	FNT 4h similar, 24h -
1993	Eng ²³	<i>E coli</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>E cloacae</i> , <i>P aeruginosa</i> <i>S aureus</i>	LPS- LPS- LPS- LPS- Sin endotoxin
1995	Prins ²³	<i>E coli</i> , sangre entera	LPS-, FNT-, IL-6-
1996	Yokochi ⁴³	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
1996	Inoue ⁴⁴	<i>E coli</i> , <i>S aureus</i> , <i>E cloacae</i> , <i>C freundii</i> , <i>P aeruginosa</i> , <i>S maltophilia</i>	LPS-
1996	Lamp ²⁹	<i>E coli</i> , <i>P aeruginosa</i>	LPS-
1997	Narita ⁴³	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
1997	Arditi ⁴⁶	<i>E coli</i>	IL-6-
1997	Takahashi ⁴⁷	<i>E coli</i>	LPS-
1998	Trautmann ²¹	<i>E coli</i>	LPS-
1998	Van Langevelde ⁴³	<i>S typhi</i>	Sin diferencia
1998	Horii ⁴⁹	<i>E coli</i> , <i>S marcescens</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>P aeruginosa</i> , <i>P mirabilis</i> , <i>P vulgaris</i>	LPS- (a excepción de <i>P aeruginosa</i>)
1998	Trautmann ²⁰	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
1999	Yamaguchi ²¹	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
1999	Trautmann ²²	<i>E coli</i> , Monocitos	LPS-, FNT-
1999	Horii ²³	<i>P aeruginosa</i>	LPS-
2000	Cui ²⁴	<i>E coli</i> , <i>S aureus</i>	Liberación de FNT+ en co-cultivo con <i>S aureus</i>
2001	Xu ²⁴	<i>P aeruginosa</i> , <i>E coli</i>	LPS-
2002	Bentley ²⁵	<i>E coli</i> , sangre entera	LPS+, FNT+
2003	Tsuji ²⁷	<i>P aeruginosa</i>	LPS sin diferencia

LPS Lipopolisacárido; IL-1 Interleuquina-1; TNF-alfa Factor de necrosis tumoral alfa; IL-6 Interleuquina-6

La ceftazidima es el compuesto que se utiliza en la mayor parte de los estudios *in vitro* sobre la liberación de endotoxina. En la mayoría de las investigaciones los niveles de endotoxina o de citoquinas proinflamatorias, como el FNT alfa, IL-6 e IL-1, aumentaron cuando se empleó la ceftazidima para el tratamiento. No obstante, este antibiótico disminuyó la liberación de LPS de *P. aeruginosa*²⁵ o no mostró diferencias al ser comparado con los controles^{37,49} (tabla 4).

Tabla 4: Los efectos de la ceftazidima en la liberación de proteínas/ citoquinas/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1991	Simon ²³	<i>E coli</i> , THP célula	FNT+
1991	Dofferhoff ⁴⁰	<i>E coli</i>	LPS+
1992	Jackson ⁹	<i>P aeruginosa</i>	LPS+
1993	Evans ²⁶	<i>E coli</i>	LPS+
1993	Dofferhoff ⁴²	<i>E coli</i>	FNT+
1993	Eng ²⁵	<i>E coli</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>E cloacae</i> , <i>P aeruginosa</i> <i>S aureus</i>	LPS+ o sin efecto LPS+ o sin efecto LPS+ o sin efecto LPS- Sin endotoxina
1994	Bucklin ⁵⁵	<i>E coli</i>	LPS+
1994	Leeson ⁵⁶	Monocitos <i>E coli</i>	FNT+
1995	Prins ²⁸	<i>E coli</i> , sangre entera	LPS+, FNT+, IL-6+
1996	Inoue ⁴⁴	<i>E coli</i> , <i>S aureus</i> , <i>E cloacae</i> , <i>C freundii</i> , <i>P aeruginosa</i> , <i>S maltophilia</i>	LPS+
1996	Lamp ²⁹	<i>E coli</i> , <i>p aeruginosa</i>	LPS+
1997	Narita ⁴⁵	<i>P aeruginosa</i>	LPS+
1998	Trautmann ³¹	<i>E coli</i>	LPS+
1998	Van Langevelde ⁴⁸	<i>S typhi</i>	LPS sin diferencia
1998	Hori ⁴⁹	<i>E coli</i> , <i>S marcescens</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>P aeruginosa</i> , <i>P vulgaris</i> , <i>P mirabilis</i>	LPS+ (a excepción de <i>P aeruginosa</i>)
1998	Trautmann ³⁰	<i>P aeruginosa</i>	LPS+
1999	Kishi ³⁷	<i>E coli</i>	LPS+, FNT+, IL-1+
1999	Yamaguchi ³¹	<i>P aeruginosa</i>	LPS+
1999	Trautmann ³²	<i>E coli</i> , Monocito	LPS+, FNT+
2000	Hori ³⁸	<i>E coli</i>	LPS+
2001	Xu ³⁴	<i>P aeruginosa</i> , <i>e coli</i>	LPS+
2003	Tsuji ³⁷	<i>P aeruginosa</i>	LPS sin diferencia
2003	Liang ³⁹	<i>P aeruginosa</i> , células RAW	LPS+, FNT+

LPS Lipopolisacárido; IL-1 Interleuquina-1; FNT-alfa Factor de necrosis tumoral alfa

La ciprofloxacina y la ofloxacina son las quinolonas mejor estudiadas. En algunos estudios recientes la ciprofloxacina y la ofloxacina fueron responsables de la disminución de la liberación de endotoxina o de la liberación de FNT alfa e IL-6. No obstante, algunos investigadores comunicaron el incremento en la liberación de endotoxina o de citoquinas inflamatorias o de ambas^{17,21,24,28,29} (tabla 5).

Tabla 5: Los efectos de la ciprofloxacina/ofloxacina en la liberación de proteínas/ citoquinas/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Quinolona	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1986	Cohen ²¹	C	<i>E coli</i>	LPS+
1991	Simon ²³	C	<i>E coli</i> , célula THP	FNT intermedio
1992	Iino ¹⁷	O	Monocitos	FNT+
1992	Van den Berg ²⁴	C	<i>E coli</i>	LPS+
1993	Eng ²⁵	C O	<i>E coli</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>E cloacae</i> , <i>P aeruginosa</i> <i>S aureus</i>	LPS- LPS- LPS- LPS+ o sin efecto Sin endotoxina
1994	Crosby ²⁷	C	<i>E coli</i> , <i>E cloacae</i>	LPS+
1995	Prins ²⁸	C	<i>E coli</i> , sangre entera	LPS+, FNT+, IL-6+
1996	Lamp ²⁹	O	<i>E coli</i> , <i>P aeruginosa</i>	LPS-
1998	Trautmann ³¹	C	<i>E coli</i>	LPS-
1999	Trautmann ³²	C	<i>E coli</i>	LPS-
2002	Krehmeier ³⁶	O C	PBMC PBMC	FNT-, IL-6- FNT-

LPS Lipopolisacárido; IL-1 Interleuquina-1; FNT-alfa Factor de necrosis tumoral alfa; IL-6 Interleuquina-6
C ciprofloxacina; O ofloxacina

La clindamicina y la eritromicina fueron capaces de reducir la liberación de LPS y citoquinas proinflamatorias en patógenos gramnegativos, pero también la liberación de LTA y citoquinas proinflamatorias en patógenos grampositivos en la mayoría de los estudios (tabla 6).

Tabla 6: Los efectos de la clindamicina/eritromicina en la liberación de proteínas/ citoquinas/ endotoxina *in vitro*

Año	Autor	Antibiótico	Patógeno o célula	Liberación de proteína/ citoquina/ endotoxina
1986	Nealon ¹⁴	C	<i>S grupo A</i> , <i>S aureus</i>	LTA <i>S aureus</i> -
1992	Iino ¹⁷	E	Monocitos	FNT-
1995	Khair ⁶⁰	E	<i>H influenzae</i> , CEBH	IL-6 -, IL-8 - ICAM-1 -
1998	Van Langevelde ³⁰	E C	<i>S aureus</i> , sangre entera	LTA -, PG sin cambios, FNT -, IL-10 -
1999	Kishi ³⁷	C	<i>E coli</i>	LPS -, IL-1 -, FNT -
2000	Ormar ⁶¹	C	<i>S pneumoniae</i> , macrófagos murinos	SONi -, FNT-
2000	Hori ³⁸	C	<i>E coli</i>	LPS-
2003	Gerber ⁶²	C	<i>S pneumoniae</i>	LTA -

E eritromicina, C clindamicina

CEBH células epiteliales bronquiales humanas

LPS Lipopolisacárido; LTA ácido lipoteicoico; IL-1 Interleuquina-1; FNT-alfa factor de necrosis tumoral alfa; IL-6 Interleuquina-6; IL-8 Interleuquina-8; IL-10 Interleuquina-10; PG Peptidoglicano; iNOS sintetasa de óxido nítrico inducible; ICAM-1 molécula de adhesión intercelular 1

Estudios en animales

Se consideraba que las cepas que liberan endotoxina eran más virulentas.¹¹ En 1984 Shenep observó el aumento de los niveles plasmáticos de endotoxina luego de la administración de antibióticos.⁶³ En 1986, Walterspiel demostró que las dosis subinhibidoras de polimixina B modulan los efectos letales de los LPS.⁶⁴ Shenep (1985) postuló que la liberación de LPS depende de la clase de antibiótico y no se correlaciona con el índice de destrucción bacteriana.²⁰ Johnston informó en 1984 que el nivel de endotoxemia era mayor en los sobrevivientes tratados con antibióticos que en los animales moribundos que no habían sido tratados.⁶⁵

El pretratamiento en los estudios animales

La descontaminación antibiótica selectiva conduce al incremento de los niveles de LPS.^{66,67} El pretratamiento con agentes que alteran el contenido intestinal redujo la endotoxemia y la mortalidad.⁶⁸ El aumento en la liberación de FNT puede asociarse con la mejoría de la respuesta hemodinámica pero no con el aumento de la mortalidad.⁶⁹ El pretratamiento con eritromicina puede tener efectos beneficiosos en la infección por *Candida albicans*.⁷⁰

Modo de aplicación y localización de la infección

El mecanismo de acción de las clases de antibióticos no es el único factor que influye en la liberación de LPS, también lo hacen la dosificación y la farmacodinamia.⁷¹ Se demostró que el imipenem aplicado en forma tópica ejerce un efecto bactericida notable, pero también aumenta la liberación de LPS y FNT alfa.⁷² El meropenem puede incrementar la liberación de LPS y la mortalidad, mientras que el imipenem ejerce el efecto contrario.⁴⁵ Los cambios morfológicos provocados por el tratamiento con imipenem pueden facilitar la fagocitosis por las células peritoneales.⁷³ En un modelo de lesiones por quemaduras el imipenem liberó menor cantidad de LPS pero no hubo relación con el efecto bactericida.⁷⁴ El imipenem indujo niveles más altos de LPS en las infecciones por *B. fragilis* y *Fusobacterium* spp.⁷⁵ El efecto bactericida podría no influir en la liberación de LPS: el poder bactericida del imipenem y la ceftazidima fue similar en modelos de ratas con sepsis, pero la liberación de LPS fue menor luego del tratamiento con imipenem.⁷⁶ En 2003, Tsuji y col. demostraron que el imipenem, el doripenem, el meropenem y la ceftazidima indujeron niveles séricos similares de LPS.³⁷ El tratamiento en animales con infección intraabdominal condujo al aumento en la supervivencia y a la disminución de los niveles de citoquinas en plasma y en el líquido peritoneal. La liberación de LPS fue mayor luego del tratamiento con imipenem que luego del tratamiento con ciprofloxacina.⁷⁷

Meningitis

En la meningitis, cefotaxima, cefpiroma, meropenem y gentamicina inducen la liberación de endotoxina. Sin embargo, los animales que no fueron tratados presentaron niveles de endotoxina más altos.⁷⁸ En la infección del oído medio por *H. influenzae* no se observó la liberación de endotoxina luego del tratamiento con ceftriaxona.⁷⁹ En conejos con meningitis por *S. pneumoniae*, el inicio de la terapia con clindamicina (inhibición de la síntesis de proteína) y la continuación con una combinación de ceftriaxona (antibiótico betalactámico) disminuyó el daño neuronal.⁶² Esto fue avalado por un estudio posterior realizado por Bottcher (2004).⁸⁰

Tratamiento antibiótico combinado y bacteriostático

Los antibióticos bacteriostáticos (lincomicina y clindamicina) inducen la liberación de LPS si se los compara con la ausencia de tratamiento.⁵⁸ La doxiciclina ejerce su efecto protector al inhibir la producción de nitratos en el modelo de LPS de ratón BALB.⁸¹ Estudios recientes investigaron el efecto de otros compuestos, como los, inhibidores de las metaloproteinasas de matriz –tetraciclina químicamente modificada– que evitan el daño pulmonar agudo luego de la cirugía de *bypass* cardiopulmonar.⁸² Estos compuestos pueden preservar la función mecánica cardíaca durante el *shock* séptico.⁸³ La combinación del tratamiento con otros compuestos neutralizadores de la endotoxina, por ejemplo las lipopoliaminas⁸⁴ o la proteína que aumenta la permeabilidad bactericida (BPI21)⁸⁵ pueden ayudar a evitar el incremento de la liberación de LPS inducido por las cefalosporinas y mejorar la supervivencia. Los ratones inoculados con *E. coli* muestran cambios en la producción de citoquinas inducida por LPS y tienen mayor supervivencia cuando se realiza el

pretratamiento con clindamicina.⁸⁶ Los antibióticos causaron cambios de aproximadamente 500 veces en la LD50 en un modelo de infección por *E.*

coli en ratones.⁸⁷ En 2003, Tsumura demostró en un modelo con conejos inoculados con *E. coli* que el flomoxef y la gentamicina reducen *in vivo* los niveles plasmáticos de LPS, FNT alfa y el recuento bacteriano en sangre, a niveles comparables. La liberación de LPS puede no ser un problema si se utilizan los agentes antimicrobianos apropiados.³⁷

Estudios clínicos

En 1983 Teklu informó los efectos beneficiosos del meptazinol, un antagonista opioide con propiedades agonistas, que disminuyó la reacción de Jarish- Herxheimer luego del tratamiento con tetraciclina en un estudio aleatorizado en pacientes con fiebre por tifus exantemático.⁸⁸

Meningitis

En la meningitis por *H. influenzae* el tratamiento con ceftriaxona conduce a la liberación de LPS libres con una respuesta inflamatoria asociada.⁸⁹ La gentamicina administrada por vía intraventricular puede producir la liberación de LPS y resultar en el incremento de las concentraciones de IL-1 y en la evolución desfavorable de los pacientes con meningitis por *Escherichia coli*.⁹⁰

Urosepsis

Se realizaron muchos estudios con pacientes con urosepsis. La liberación de LPS y los niveles séricos y urinarios de citoquinas son menores con imipenem si se lo compara con ceftazidima.⁹¹ En pacientes con pielonefritis aguda se observó incremento de la liberación de endotoxina y FNT. Esto puede ser la causa de la persistencia de la fiebre a pesar de los hemocultivos negativos.⁹² En ensayos controlados y aleatorizados con pacientes con urosepsis por gramnegativos no se observaron diferencias en la endotoxina plasmática y las citoquinas proinflamatorias dentro de las primeras 8 horas luego del tratamiento antibiótico con imipenem o ceftazidima.⁹³

Pacientes quirúrgicos y con traumatismos internados en cuidados intensivos

En los pacientes con traumatismos los antibióticos relacionados con mayor liberación de endotoxina y FNT (aztreonam, ceftazidima y cefotaxima) se asociaron con mayor liberación de endotoxina, de FNT y mayor mortalidad.⁴ En los pacientes quirúrgicos internados en cuidados intensivos se observó el incremento significativo en los niveles plasmáticos de endotoxina luego del tratamiento con cefotaxima y ceftriaxona en comparación con ciprofloxacina, tobramicina e imipenem.⁹⁴ Los pacientes sometidos a resección hepática no mostraron aumento en los niveles plasmáticos de endotoxina en sangre periférica luego del tratamiento con cefmetazol, latamoxef, flomoxef, cefazolina, cefoperazona y cefotiam. Los autores concluyeron que la endotoxina había sido removida de la sangre.⁹⁵ En 2001, Byl y col. observaron un efecto similar en la liberación de endotoxina y citoquinas en las infecciones por gramnegativos en pacientes tratados con imipenem y ceftazidima.⁹⁶ Maskin informó concentraciones plasmáticas elevadas de LPS, IL-6 y FNT alfa en pacientes sépticos luego del tratamiento con ceftazidima e imipenem. No obstante, los niveles plasmáticos del FNT alfa fueron significativamente menores a las 4 horas luego de la administración de imipenem.⁹⁷ En la reparación del aneurisma aórtico, un modelo clínico de daño-reperusión asociado con la liberación de endotoxina, la profilaxis con ofloxacina oral produjo la alteración de la capacidad neutralizadora de la endotoxina y de los niveles plasmáticos de IL-6, pero no tuvo efectos sobre los niveles plasmáticos de endotoxina y sobre otros mediadores de la inflamación.⁹⁸ En la melioidosis causada por *Burkholderia pseudomallei* el tratamiento con imipenem redujo la liberación de endotoxina en plasma sin afectar la supervivencia.⁹⁹ En pacientes con quemaduras la liberación de endotoxina y de FNT aumentó 2 horas después del tratamiento con cefoperazona en comparación con el imipenem¹⁰⁰ (tabla 7).

Tabla 7: Los estudios clínicos en la liberación de endotoxina inducida por antibióticos

Año	Autor	Tipo de estudio	Tipo de infección	Antibióticos
1983	Teklu	ECA	Tifus exantemático en recaída	Tetraciclina
1989	Arditi	Observación prospectiva	<i>H influenzae</i> meningitis	Ceftriaxona
1989	Mustafa	ECA	Meningitis coliforme	Gentamicina
1995	Prins	ECA	Urosepsis	Imipenem Ceftazidima
1995	Mock	Post-hoc analysis	Pacientes de trauma	Aztreonam Ceftazidima Cefotaxima
1996	Holzheimer	Observación prospectiva	Terapia intensiva quirúrgica	Ciprofloxacina Cefotaxima Tobramicina Ceftriaxona Vancomicina Imipenem
1999	Ishikawa	Observación prospectiva	Resección hepática	Cefmetazole Latamoxef Flomoxef Cefazolina Cefoperazona Cefotiam
1999	Giamarellou-Bourboulis	Observación prospectiva	Pielonefritis aguda	Cefuroxima
2000	Simpson	ECA	Melioidosis causada por <i>Burkholderia pseudomallei</i>	Ceftazidima Imipenem
2000	Luchi	ECA	Urosepsis por gram-negativos	Ceftazidima Imipenem
2001	Byl	ECA	Infección por gram-negativos	Ceftazidima Imipenem
2001	Jaber ¹⁰¹	Observación prospectiva		Gentamicina
2002	Maskin	ECA	Sepsis	Ceftazidima Imipenem
2003	Holzheimer	ECA	Reparación de AAA	Ofloxacina Cefotiam
2004	Wang	ECA	Pacientes quemados con infección por gram-negativos	Imipenem Cefoperazona

ECA Ensayo controlado aleatorizado

Sinopsis

La endotoxina es una de las causas principales de sepsis e insuficiencia multiorgánica en seres humanos. Si bien se administran antibióticos para tratar estas infecciones graves, estos agentes también pueden provocar daño si no se emplean correctamente o pueden producir la liberación de endotoxina de las paredes bacterianas, que a su vez puede afectar al paciente. Se consideraba que los antibióticos específicos de la proteína ligadora de penicilina (PLP) 2, como el imipenem, liberaban menores cantidades de endotoxina libre que los antibióticos específicos de la PLP 3 como ceftazidima. Este efecto contribuyó al incremento de la actividad bactericida de los antibióticos específicos de la PLP 2 y a los cambios consiguientes en la morfología de los patógenos, lo cual permitió la fagocitosis. Sin embargo, estudios recientes realizados *in vitro* no fueron capaces de reproducir estos resultados. La liberación de endotoxina inducida por los antibióticos puede depender de la cepa y la dosis de las drogas. En ensayos efectuados en animales, la liberación de endotoxina no estuvo influida por el efecto bactericida. La liberación de endotoxina inducida por los antibióticos y los resultados fueron diferentes según los modelos con animales, la localización de la infección, las cepas, la farmacodinamia y las dosis de las drogas. Los antibióticos bacteriostáticos como lincomicina y clindamicina provocaron la liberación de endotoxinas. En algunos estudios, el imipenem produjo una liberación de endotoxina similar a ceftazidima o mayor en comparación con ciprofloxacina. Las tetraciclinas modificadas químicamente o los antibióticos combinados evitaron el aumento en la liberación de endotoxinas. En pacientes con urosepsis se observaron resultados controvertidos cuando el imipenem se comparó con ceftazidima. En los ensayos clínicos de observación o en los análisis *post hoc* se informaron diferencias en la liberación de endotoxina después de la administración de imipenem y cefalosporinas. En conclusión, la liberación de endotoxinas inducida por antibióticos puede ser clínicamente relevante. El análisis de los estudios clínicos que no pudieron demostrar el efecto de la liberación de endotoxinas inducido por antibióticos puede contribuir a planificar ensayos futuros.

El autor no manifiesta "conflictos de interés."

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Leeuwen PA, Boermeester MA, Houdijk AP et al. Clinical significance of translocation. *Gut* 1994; 35(1 Suppl):S28-34.
2. Svoboda P, Kantorova I, Ochmann J. Dynamics of interleukin 1, 2, and 6 and tumor necrosis factor alpha in multiple trauma patients. *J Trauma* 1994; 36(3):336- 40.
3. Holzheimer RG, Schein M, Wittmann DH. Inflammatory response in peritoneal exudate and plasma of patients undergoing planned relaparotomy for severe secondary peritonitis. *Arch Surg* 1995; 130(12):1314-9.
4. Mock CN, Jurkovich GJ, Dries DJ et al. Clinical significance of antibiotic endotoxin-releasing properties in trauma patients. *Arch Surg* 1995; 130(11):1234- 40.
5. Van Deuren M, Van der Ven-Jongekrijg J, Bartelink AK et al. Correlation between proinflammatory cytokines and antiinflammatory mediators and the severity of disease in meningococcal infections. *J Infect Dis* 1995; 172(2):433-9.
6. Kelly JL, O'Sullivan C, O'Riordain M et al. Is circulating endotoxin the trigger for the systemic inflammatory response syndrome seen after injury? *Ann Surg* 1997; 225(5):530-41.
7. Amin K, Kauffman CA. Fever of unknown origin. *Postgrad Med* 2003; 114(3):69-75.
8. Roth AR, Basello GM. Approach to the adult patient with fever of unknown origin. *Am Fam Physician* 2003; 68(119):2223-8.
9. Jackson JJ, Kropp H. beta-Lactam antibiotic-induced release of ree endotoxin: in vitro comparison of penicillin-binding protein (PBP) 2-specific imipenem and PBP 3-specific ceftazidime. *J Infect Dis* 1992; 165(6):1033-41.

10. Ginsburg I. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(3):171-9.
11. Andersen BM, Solberg O. Release of endotoxin from *Neisseria meningitides*. A short survey with a preliminary report on virulence in mice. *NIPH Ann* 1980; 3(2):49-55.
12. Kessler RE, Van de Rijn I. Effects of penicillin on group A streptococci: loss of viability appears to precede stimulation of release of lipoteichoic acid. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 19(1):39-43.
13. Gold MR, Miller CL, Mishell RI. Soluble non-cross-linked peptidoglycan polymers stimulate monocyte-macrophage inflammatory function. *Infect Immun* 1985; 49(3):731-741.
14. Nealon TJ, Beachey EH, Courtney HS et al. Release of fibronectin-lipoteichoic acid complexes from group A streptococci with penicillin. *Infect Immun* 1986; 51(2):529-35.
15. Kiriya T, Miyake Y, Sugai M et al. Effects of mucopolysaccharides on penicillin-induced lysis of *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1987; 24(4):325-331.
16. Mellado MC, Rodríguez Contreras R, Mariscal A et al. Effect of penicillin and chloramphenicol on the growth and endotoxin release by *N. meningitides*. *Epidemiol Infect* 1991; 106(2):283-288.
17. Iino Y, Toriyama M, Kudo K et al. Erythromycin inhibition of lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor alpha production by human monocytes in vitro. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1992; 157:16-20.
18. Prins JM, Speelman P, Kuijper EJ et al. No increase in endotoxin release during antibiotic killing of meningococci. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39(1):13-18.
19. Rusmin S, DeLuca PP. Effect of antibiotics and osmotic change on the release of endotoxin by bacteria retained on intravenous inline filters. *Am J Hosp Pharm* 1975; 32(4):378-80.
20. Shenep JL, Barton RP, Mogan KA. Role of antibiotic class in the rate of liberation of endotoxin during therapy for experimental gram-negative bacterial sepsis. *J Infect Dis* 1985; 151(6):1012-8.
21. Cohen J, McConnell JS. Release of endotoxin from bacteria exposed to ciprofloxacin and its prevention with polymyxin B. *Eur J Clin Microbiol* 1986; 5(1):13-7.
22. Stokes DC, Shenep JL, Fishman M et al. Polymyxin B prevents lipopolysaccharide-induced release of tumor necrosis factor-alpha from alveolar macrophages. *J Infect Dis* 1989; 160(1):52-7.
23. Simon DM, Koenig G, Trenholme GM. Differences in release of tumor necrosis factor from THP-1 cells stimulated by filtrates of antibiotic-killed *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1991; 164(4):800-2.
24. Bingen E, Goury V, Bennani H et al. Bactericidal activity of beta-lactams and amikacin against *Haemophilus influenzae*: effect on endotoxin release. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30(2):165-72.
25. Van den Berg C, de Neeling AJ, Schot CS et al. Delayed antibiotic-induced lysis of *Escherichia coli* in vitro is correlated with enhancement of LPS release. *Scand J Infect Dis* 1992; 24(5):619-27.
26. Eng RH, Smith SM, Fan-Havard P et al. Effect of antibiotics on endotoxin release from gram-negative bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993; 16(3):185-9.
27. Evans ME, Pollack M. Effect of antibiotic class and concentration on the release of lipopolysaccharide from *Escherichia coli*. *J Infect Dis*. 1993; 167(6):1336-43.
28. Crosby HA, Bion JF, Penn CW et al. Antibiotic-induced release of endotoxin from bacteria in vitro. *J Med Microbiol* 1994; 40(1):23-30.
29. Prins JM, Kuijper EJ, Mevissen ML et al. Release of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 during antibiotic killing of *Escherichia coli* in whole blood: influence of antibiotic class, antibiotic concentration, and presence of septic serum. *Infect Immun* 1995; 63(6):2236-42.
30. Lamp KC, Rybak MJ, McGrath BJ et al. Influence of antibiotic and E5 monoclonal immunoglobulin M interactions on endotoxin release from *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(1):247-52.
31. Van Langevelde P, Van Dissel JT, Ravensberger E et al. Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus*: quantitative measurements and biological reactivities. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;

32. Trautmann M, Zick R, Rukavina T et al. Antibiotic-induced release of endotoxin: in-vitro comparison of meropenem and other antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(2):163-9.
33. Sjolín J, Goscinski G, Lundholm M et al. Endotoxin release from *Escherichia coli* after exposure to tobramycin: dose-dependency and reduction in cefuroxime-induced endotoxin release. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6(2):74-81.
34. Xu N, Yuan J, Xiao G et al. An experimental study on the release of endotoxin from gram negative bacteria induced by antibiotics. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2001; 17(2):75-9.
35. Bentley AP, Barton MH, Lee MD et al. Antimicrobial-induced endotoxin and cytokine activity in an in vitro model of septicemia in foals. *Am J Vet Res* 2002; 63(5):660-8.
36. Krehmeier U, Bardenheuer M, Voggenreiter G et al. Effects of antimicrobial agents on spontaneous and endotoxin-induced cytokine release of human peripheral blood mononuclear cells. *J Infect Chemother* 2002; 8(2):194-7.
37. Tsumura H, Hiyama E, Kodama T et al. Relevance of antimicrobial agent- induced endotoxin release from in vitro cultured *Escherichia coli* and in vivo experimental infection with Gram-negative bacilli. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21(5):463-70.
38. Goscinski G, Lundholm M, Odenholt I et al. Variation in the propensity to release endotoxin after cefuroxime exposure in different gram-negative bacteria: uniform and dose-dependent reduction by the addition of tobramycin. *Scand J Infect Dis* 2003; 35(1):40-6.
39. Tsuji M, Matsuda H, Miwa H et al. Antimicrobial-induced release of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of in vitro and animal models. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(2):353-9.
40. Dofferhoff AS, Nijland JH, De Vries-Hospers HG et al. Effects of different types and combinations of antimicrobial agents on endotoxin release from gram-negative bacteria: an in-vitro and in-vivo study. *Scand J Infect Dis* 1991; 23(6):745-54.
41. Arditi M, Kabat W, Yogev R. Antibiotic-induced bacterial killing stimulates tumor necrosis factor-alpha release in whole blood. *J Infect Dis* 1993; 167(1):240-4.
42. Dofferhoff AS, Esselink MT, De Vries-Hospers HG et al. The release of endotoxin from antibiotic-treated *Escherichia coli* and the production of tumour necrosis factor by human monocytes. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31(3):373-84.
43. Yokochi T, Kusumi A, Kido N et al. Differential release of smooth-type lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa* treated with carbapenem antibiotics and its relation to production of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(10):2410-2.
44. Inoue E, Komoto E, Taniyama Y et al. Antibacterial activity of sulopenem, a new parenteral penem antibiotic. *Jpn J Antibiot* 1996; 49(4):338-51.
45. Narita K, Koide N, Morikawa A et al. Differential release of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa* treated with beta-lactam antibiotics and its effect on the lethal activity. *Jpn J Med Sci Biol* 1997; 50(6):233-9.
46. Arditi M, Zhou J. Differential antibiotic-induced endotoxin release and interleukin-6 production by human umbilical vein endothelial cells (HUVECs): amplification of the response by cocubation of HUVECs and blood cells. *J Infect Dis* 1997; 175(5):1255-8.
47. Takahashi K, Narita K, Kato Y et al. Low-level release of Shiga-like toxin (verocytotoxin) and endotoxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* treated with imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(10):2295-6.
48. Van Langevelde P, Kwappenberg KM, Groeneveld PH, Mattie H, van Dissel JT. Antibiotic-induced lipopolysaccharide (LPS) release from *Salmonella typhi*: delay between killing by ceftazidime and imipenem and release of LPS. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(4):739-43.
49. Horii T, Kobayashi M, Sato K et al. An in-vitro study of carbapenem-induced morphological changes and endotoxin release in clinical isolates of gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41(4):435-42.
50. Trautmann M, Heinemann M, Zick R et al. Antibacterial activity of meropenem against *Pseudomonas aeruginosa*, including antibiotic-induced morphological changes and endotoxin-liberating effects. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17(11):754-60.
51. Yamaguchi S, Sato S, Toriya M et al. Effects of isepamicin and beta-lactam antibiotics on the release of endotoxin from

52. Trautmann M, Heinemann M, Moricke A et al. Endotoxin release due to ciprofloxacin measured by three different methods. J Chemother 1999; 11(4):248- 54.
53. Horii T, Ichiyama S, Ohta M et al. Relationship between morphological changes and endotoxin release induced by carbapenems in *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol. 1999; 48(3):309-15.
54. Cui W, Morrison DC, Silverstein R. Differential tumor necrosis factor alpha expression and release from peritoneal mouse macrophages in vitro in response to proliferating gram-positive versus gram-negative bacteria. Infect Immun 2000; 68(8):4422-9.
55. Bucklin SE, Fujihara Y, Leeson MC et al. Differential antibiotic-induced release of endotoxin from gram-negative bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13 Suppl 1:S43-51.
56. Leeson MC, Fujihara Y, Morrison DC. Evidence for lipopolysaccharide as the predominant proinflammatory mediator in supernatants of antibiotic-treated bacteria. Infect Immun. 1994; 62(11):4975-80.
57. Kishi K, Hirai K, Hiramatsu K et al. Clindamycin suppresses endotoxin released by ceftazidime-treated *Escherichia coli* 055:B5 and subsequent production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43(3):616-622.
58. Horii T, Kimura T, Nadai M et al. Lincomycin-induced endotoxin release in *Escherichia coli* sepsis: evidence for release in vitro and in vivo. Int J Infect Dis 2000; 4(3):118-122.
59. Liang AH, Xue BY, Liang RX et al. Inhibitory effect of egg white lysozyme on ceftazidime-induced release of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*. Xue Xue Bao 2003; 38(11):801-4.
60. Khair OA, Devalia JL, Abdelaziz MM et al. Effect of erythromycin on *Haemophilus influenzae* endotoxin-induced release of IL-6, IL-8 and sICAM-1 by cultured human bronchial epithelial cells. Eur Respir J 1995; 8(9):1451- 7.
61. Orman KL, English BK. Effects of antibiotic class on the macrophage inflammatory response to *Streptococcus pneumoniae*. J Infect Dis 2000; 182(5):1561-1565.
62. Gerber J, Pohl K, Sander V, Bunkowski S et al. Rifampin followed by ceftriaxone for experimental meningitis decreases lipoteichoic acid concentrations in cerebrospinal fluid and reduces neuronal damage in comparison to ceftriaxone alone. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(4):1313-7.
63. Shenep JL, Mogan KA. Kinetics of endotoxin release during antibiotic therapy for experimental gram-negative bacterial sepsis. J Infect Dis 1984; 150(3):380-8.
64. Walterspiel JN, Kaplan SL, Mason EO Jr. Protective effect of subinhibitory polymyxin B alone and in combination with ampicillin for overwhelming *Haemophilus influenzae* type B infection in the infant rat: evidence for in vivo and in vitro release of free endotoxin after ampicillin treatment. Pediatr Res 1986; 20(3):237-41.
65. Johnston CA, Greisman SE. Endotoxemia induced by antibiotic therapy: a mechanism for adrenal corticosteroid protection in gram-negative sepsis. Trans Assoc Am Physicians 1984; 97:172-81.
66. Rogers MJ, Moore R, Cohen J. The relationship between faecal endotoxin and faecal microflora of the C57BL mouse. J Hyg (Lond) 1985; 95(2):397-402.
67. Goris H, De Boer F, Van der Waaij D. Oral administration of antibiotics and intestinal flora associated endotoxin in mice. Scand J Infect Dis 1986; 18(1):55-63.
68. Van Leeuwen PA, Hong RW, Rounds JD et al. Hepatic failure and coma after liver resection is reversed by manipulation of gut contents: the role of endotoxin. Surgery 1991; 110(2):169-74.
69. Stockwell JA, Huang YC, Su YF et al. Bactericidal antibiotics increase tumor necrosis factor-alpha and cardiac output in rats after cecal ligation and puncture. Circ Shock 1994; 42(2):68-75.
70. Anderson R, Fernandes AC, Eftychis HE. Studies on the effects of ingestion of a single 500 mg oral dose of erythromycin stearate on leucocyte motility and transformation and on release in vitro of prostaglandin E2 by stimulated leucocytes. J Antimicrob Chemother 1984; 14(1):41-50.
71. Nitsche D, Schulze C, Oesser S et al. Impact of different classes antimicrobial agents on plasma endotoxin activity. Arch

72. Rosman C, Westerveld GJ, Van Oeveren W et al. Effect of intraperitoneal antimicrobials on the concentration of bacteria, endotoxin, and tumor necrosis factor in abdominal fluid and plasma in rats. *Eur Surg Res* 1996; 28(5):351-60.
73. Yokochi T, Narita K, Morikawa A et al. Morphological change in *Pseudomonas aeruginosa* following antibiotic treatment of experimental infection in mice and its relation to susceptibility to phagocytosis and to release of endotoxin. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(1):205-6.
74. Wang S, Wu B, Huang F. An experimental study of antibiotic – induced endotoxin release in *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in burned rats. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2000; 16(2):93-5.
75. Rotimi VO, Al-Sweih NN, Anim JT et al. Influence of in-vivo endotoxin liberation on antib-anaerobic antimicrobial efficacy. *J Chemother* 2001; 13(5):510-8.
76. Xu N, Yuan J, Xiao G et al. An experimental study of the LPS release from gram-negative bacteria induced by antibiotics (Part two). *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2002; 18(2):92-4.
77. Vianna RC, Gomes RN, Bozza FA et al. Antibiotic treatment in a murine model of sepsis: impact on cytokines and endotoxin release. *Shock* 2004; 21(2):115-20.
78. Friedland IR, Jafari H, Ehrett S et al. Comparison of endotoxin release by different antimicrobial agents and the effect on inflammation in experimental *Escherichia coli* meningitis. *J Infect Dis* 1993; 168(3):657-62.
79. Jauris-Heipke S, Leake ER, Billy JM et al. The effect of antibiotic treatment on the release of endotoxin during nontypable *Haemophilus influenzae*-induced otitis media in the chinchilla. *Acta Otolaryngol* 1997; 117(1):109-12.
80. Bottcher T, Ren H, Goigny M et al. Clindamycin is neuroprotective in experimental *Streptococcus pneumoniae* meningitis compared with ceftriaxone. *J Neurochem* 2004; 91(6):1450-60.
81. D'Agostino P, La Rosa M, Barbera C et al. Doxycycline reduces mortality to lethal endotoxemia by reducing nitric oxide synthesis via an interleukin-10- independent mechanism. *J Infect Dis* 1998; 177(2):489-92.
82. Carney DE, Lutz CJ, Picone AL et al. Matrix metalloproteinase inhibitor prevents acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 27;100(4):400- 6.
83. Lalu MM, Gao CQ, Schulz R. Matrix metalloproteinase inhibitors attenuate endotoxemia induced cardiac dysfunction: a potential role for MMP-9. *Mol Cell Biochem* 2003; 251(1-2):61-6.
84. Opal SM, Palardy JE, Parejo N et al. Lipopolyamines as a therapeutic strategy in experimental Gram-negative bacterial sepsis. *J Endotoxin Res* 2001; 7(1):35-8.
85. Lin Y, Leach WJ, Ammons WS. Synergistic effect of a recombinant N-terminal fragment of bactericidal/permeability-increasing protein and cefamandole in treatment of rabbit gram-negative sepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(1):65-9.
86. Hirata N, Hiramatsu K, Kishi K et al. Pretreatment of mice with clindamycin improves survival of endotoxin shock by modulating the release of inflammatory cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(9):2638-42.
87. Bucklin SE, Morrison DC. Bacteremia versus endotoxemia in experimental mouse leukopenia--role of antibiotic chemotherapy. *J Infect Dis* 1996; 174(6):1249-54.
88. Teklu B, Habte-Michael A, Warrell DA et al. Meptazinol diminishes the Jarisch- Herxheimer reaction of relapsing fever. *Lancet*. 1983; 1(8329):835-9.
89. Arditi M, Ables L, Yogev R. Cerebrospinal fluid endotoxin levels in children with *H. influenzae* meningitis before and after administration of intravenous ceftriaxone. *J Infect Dis* 1989; 160(6):1005-11.
90. Mustafa MM, Mertsola J, Ramilo O et al. Increased endotoxin and interleukin-1 beta concentrations in cerebrospinal fluid of infants with coliform meningitis and ventriculitis associated with intraventricular gentamicin therapy. *J Infect Dis* 1989; 160(5):891-5.
91. Prins JM, Van Agtmael MA, Kuijper EJ et al. Antibiotic-induced endotoxin release in patients with gram-negative urosepsis: a double-blind study comparing imipenem and ceftazidime. *J Infect Dis* 1995; 172(3):886-91.
92. Giamarellou-Bourboulis EJ, Perdios J et al. Impact of cefuroxime administration on endotoxin (LPS) and tumour necrosis

factor-alpha (TNFalpha) blood levels in patients suffering from acute pyelonephritis: a preliminary report. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11(2):115-9.

93. Luchi M, Morrison DC, Opal S et al. A comparative trial of imipenem versus ceftazidime in the release of endotoxin and cytokine generation in patients with gram-negative urosepsis. Urosepsis Study Group. *J Endotoxin Res* 2000; 6(1):25- 31.
94. Holzheimer RG, Hirte JF, Engelhardt W et al. Different endotoxin release and IL-6 plasma levels after antibiotic administration in surgical intensive care patients. *J Endotoxin Res* 1996; 3(3):261-267.
95. Ishikawa M, Miyauchi T, Yagi K et al. Clinical relevance of antibiotic-induced endotoxin release in patients undergoing hepatic resection. *World J Surg* 1999; 23(1):75-79.
96. Byl B, Clevenbergh P, Kentos A et al. Ceftazidime- and imipenem-induced endotoxin release during treatment of gram-negative infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20(11):804-7.
97. Maskin B, Fontan PA, Spinedi EG et al. Evaluation of endotoxin release and cytokine production induced by antibiotics in patients with Gram-negative nosocomial pneumonia. *Crit Care Med* 2002; 30(2):349-54.
98. Holzheimer RG. Oral antibiotic prophylaxis can influence the inflammatory response in aortic aneurysm repair: results of a randomized clinical study. *J Chemother* 2003; 15(2):157-64.
99. Simpson AJ, Opal SM, Angus BJ et al. Differential antibiotic-induced endotoxin release in severe melioidosis. *J Infect Dis* 2000; 181(3):1014-9.
100. Wang HM, Cao WF, Peng YZ et al. Changes in plasma levels of LPS, TNFalpha and IL-6 in burn patients with severe infection treated with imipenem or cefoperazone. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2004; 20(2):95-7.
101. Jaber BL. Pyrogenic reactions following gentamicin therapy: an alternative explanation. *Med Hypotheses* 2001; 57(6):727-8.

PATOGENIA GENETICA DEL CANCER COLORRECTAL. ACTUALIZACION



**Columnista Experto de SIIC
Dr. John P. Lynch**

Assistant Professor. Specialization field: Gastroenterology, Filadelfia, EE.UU.

Cada año fallecen cerca de 60 000 hombres y mujeres por cáncer colorrectal en los Estados Unidos, por lo cual es la segunda causa principal de muerte por cáncer. El estudio Global Burden of Disease estimó que en el año 2000 el cáncer de colon fue responsable del fallecimiento de cerca de medio millón de personas en el mundo.¹ Debido a estas cifras, esta neoplasia ha sido el centro de atención de intensas investigaciones. La investigación clínica básica realizada durante tres décadas ha arrojado ideas extraordinarias en cuanto a la base genética del cáncer colorrectal que ya han comenzado a tener influencia en el cuidado y atención de los pacientes. En los tres años que han transcurrido desde que revisamos este aspecto para *Hematology/Oncology Clinics of North America*,² hemos observado diversos avances, como la instauración de terapias de quimioprevención aprobadas para pacientes con poliposis adenomatosa familiar (PAF),³⁻⁵ el reconocimiento de un nuevo síndrome de cáncer de colon familiar –la poliposis adenomatosa MYH (PAM)–,⁶⁻⁹ la adopción de nuevas modalidades de pesquisa para el cáncer de colon¹⁰⁻¹¹ y el empleo de terapéuticas biológicas novedosas dirigidas hacia esta neoplasia.¹² Este trabajo recopila los conceptos principales de nuestro estudio previo e informa sobre los avances importantes ocurridos desde su publicación.

Conceptos de tumorigénesis colorrectal

Secuencia adenoma-carcinoma

La mayoría de los cánceres colorrectales de los seres humanos surgen de masas displásicas pero no malignas en el colon, llamadas adenomas.^{2,13- 16} Los pólipos adenomatosos se forman en el colon cuando los mecanismos que regulan la renovación del epitelio se interrumpen o desorganizan.² En los adenomas, estos mecanismos normales se van interrumpiendo progresivamente a medida que su tamaño y el grado de displasia se incrementan. La secuencia adenoma-carcinoma describe esta progresión desde la mucosa normal hasta el carcinoma invasivo y está bien avalada por numerosos estudios patológicos, epidemiológicos, clínicos observacionales y en animales.^{2,13-16}

Los focos crípticos aberrantes (FCA) son lesiones microscópicas que se cree son el paso intermedio entre la mucosa colónica normal

y el pólipo adenomatoso.17-19 La mayoría de los FCA son hiperplásicos (65% a 95%), aunque en una proporción significativa son displásicos y similares a los adenomas.20,21 El análisis genético de los FCA identificó mutaciones que se observan típicamente en los pólipos adenomatosos.17,20,22- 28 Debido a que se considera que los FCA son las lesiones precursoras más tempranas en la progresión hacia el cáncer de colon se los está empleando como biomarcadores tempranos para neoplasia, tanto en estudios en animales como en seres humanos.

La carcinogénesis colónica es un proceso progresivo

Las herramientas de la biología molecular ayudaron a establecer que la carcinogénesis colónica es un proceso escalonado.2,14,29,30 En cada paso del proceso se adquieren mutaciones somáticas o epigenéticas en el ADN celular. Es más probable que los fenómenos de mutación sean silentes, o que sean perjudiciales para la supervivencia de la célula, en vez de promover la neoplasia.

Sin embargo, algunas mutaciones activan vías promotoras del crecimiento (por ejemplo oncogenes) o inactivan supresores tumorales y vías apoptóticas.31,32 Estas clases de mutaciones aportan una ventaja en la supervivencia, lo que conduce a la expansión clonal y a la formación de una masa.33,34 En una revisión fundamental sobre las características sobresalientes del cáncer, Hanahan y Weinberg32 describieron seis características cardinales necesarias para la carcinogénesis, como la autosuficiencia en las señales proliferativas, la insensibilidad a las señales antiproliferativas, la evasión de las señales apoptóticas normales, el automantenimiento de la angiogénesis, la invasión tisular y metástasis, y finalmente, el potencial ilimitado de duplicación. De esta manera, es la combinación de las mutaciones del ADN y la selección natural la que básicamente conduce a la evolución de un clon celular que ha adquirido estas seis características y que han sido exitosas para la transformación en una célula cancerosa.33,34 Hanahan y Weinberg sugirieron además que las células cancerosas podrían adquirir estas características esenciales a través de vías temporal y mecánicamente distintivas. Esto pareció sugerir un gran grupo de vías posibles por las cuales un colonocito podría alcanzar su transformación neoplásica. Esto difirió marcadamente de una hipótesis previa de Fearon y Vogelstein,35 quienes en 1990 sugirieron que los pasos hacia la carcinogénesis eran limitados; que ciertas mutaciones en los genes eran adquiridas con frecuencia y en un orden específico.

Desde entonces numerosos estudios han avalado y mejorado posteriormente el modelo de Vogelstein.2,30 A pesar de su amplia aceptación, este modelo no puede explicar las diferencias considerables que se reconoce que existen entre los cánceres. Quizás una síntesis de estos modelos puede probar ser el mejor abordaje (figura 1). En numerosos estudios se vio que la invasión del tejido es una característica tardía de la carcinogénesis del colon, mientras que el incremento de la proliferación y la reducción de la apoptosis se observan con frecuencia en forma temprana en los FCA.24-26,28,36-39

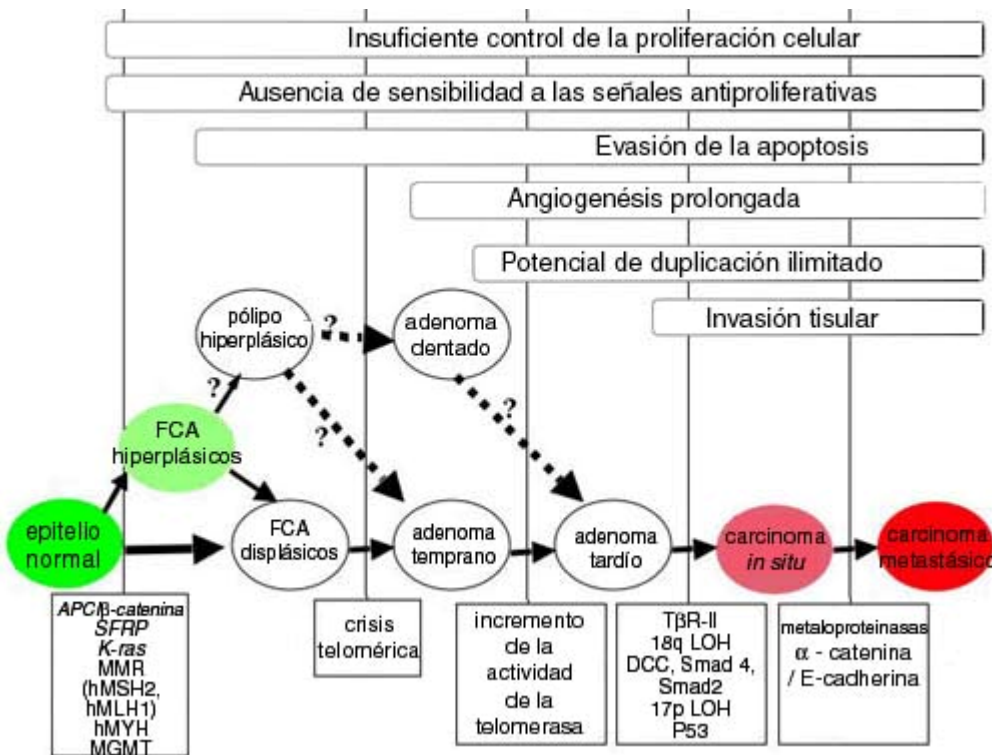


Figura 1. Progresión escalonada hacia la carcinogénesis del colon humano. Según las características morfológicas, la progresión desde la mucosa colónica normal hasta el carcinoma aparece en forma de un patrón bastante predecible. Los focos crípticos aberrantes (FCA) displásicos son los precursores más tempranos; sin embargo, datos recientes sugieren que los pólipos y los FCA hiperplásicos podrían progresar hacia FCA displásicos y adenomas. Además, diversos fenómenos genéticos se pueden observar con frecuencia en pasos similares de la vía. La inestabilidad genética, con inclusión de los defectos en CIN, MIN y BER, y la mutagénesis epigenética se presentan, de manera característica, durante el estadio inicial de la progresión y proveen un entorno permisivo para que las células adquieran mutaciones adicionales, lo que provoca la adquisición de caracteres necesarios para la transformación carcinogénica. Durante esta progresión, diversas vías de regulación y de señalización son blancos frecuentes en cualquiera de sus niveles, lo que puede alterar su expresión o función. Estas vías incluyen, entre otras, la Wnt/APC/ β -catenina, BMP/TGF- β /SMAD, Src, y K-ras.

La angiogénesis y el potencial de duplicación ilimitado se hallan por lo general incrementados en los pólipos tempranos a tardíos.40-42 En resumen, la transformación neoplásica es un proceso escalonado en el cual las mutaciones del ADN y la selección clonal resultan en la evolución de una célula que expresa las características comunes a todas las células cancerosas.

Síndromes familiares de cáncer de colon

El estudio de los síndromes familiares de cáncer de colon y la identificación de las mutaciones genéticas transmisibles han sido de gran utilidad para nuestra comprensión del proceso de la carcinogénesis colónica. Con frecuencia se ha hallado que los genes identificados en los síndromes de cáncer familiares estaban mutados o silenciados en los cánceres colónicos esporádicos.30,43- 45 Mientras que el síndrome familiar de cáncer transmisible, la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y el síndrome de cáncer de colon no polipoide (SCCNP) representan sólo el 5% de todos los cánceres de colon, la identificación de las mutaciones transmisibles predisponentes aportó luz sobre los genes cuya mutación es fundamental para la aparición de cánceres colónicos esporádicos.30,43 Más recientemente, se describió un nuevo síndrome de poliposis en los seres humanos, la poliposis adenomatosa MYH (PAM), y se identificaron las bases genéticas para diversos trastornos familiares asociados con cáncer colorrectal (tabla 1). Cuando se examinan minuciosamente, se puede notar en estos síndromes familiares el predominio de diversas vías de señalización o regulatorias: Wnt/APC/ β -catenina, TGF- β /BMP, falta de concordancia del ADN y mecanismos de reparación y escisión de bases. Todos los cánceres de colon familiares y esporádicos tendrán alteraciones significativas en al menos uno de estos mecanismos regulatorios y de señalización.

TABLA 1. Síndromes familiares asociados con predilección por el cáncer de colon en seres humanos

Nombre del síndrome	Gen Afectado	Vías regulatoria o de señalización alteradas
<i>PAF</i>	APC ¹¹⁹	vía de señalización WNT/APC/ β -catenina
<i>SCCNP</i>	hMLH1, hMSH2 menos frecuente: hMSH6 and hPMS2 58,76	Vía de reparación del ADN discordante
<i>PAM</i>	hMYH ⁶⁻⁸	Vía de excisión y reparación de bases
<i>Peutz-Jeghers</i>	STK11/LKB1 ¹²⁰⁻¹²²	Serina-Treonina-Quinasa, informada como reguladora de múltiples vías como proliferación, apoptosis mediada por p53, y señales Wnt-, TGF- β -, y Ras-
<i>Poliposis Juvenil</i>	HBMPRIA, MAD4/SMAD4 ¹²³ , 124	Vía de señalización TGF- β /BMP

Aunque estas vías son el blanco frecuente de fenómenos mutagénicos durante la carcinogénesis colorrectal no se las encuentra en todas las neoplasias. En consecuencia, deben existir otros mecanismos alternativos, todavía no reconocidos o no completamente comprendidos, para la progresión neoplásica del epitelio colónico.46-53 Los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal tienen riesgo de cáncer de colon a través de una vía alternativa, cáncer asociado a la colitis (CAC).54-57 Estas vías alternativas son importantes desde el punto de vista clínico y probablemente ampliarán nuestro conocimiento de la génesis tumoral. Sin embargo, nos concentraremos en el resto de los mecanismos de inestabilidad genética observados en la mayoría de los carcinomas colorrectales familiares y esporádicos.

Inestabilidad genética y epigenética

Aunque la acumulación de mutaciones somáticas del ADN es la fuerza de conducción detrás de la progresión al cáncer, la

inestabilidad genética es con frecuencia la característica del medio que da lugar a estos eventos mutagénicos críticos.^{33,58-60} La inestabilidad genética ha sido observada en las etapas más tempranas de la tumorigénesis, los FCA.^{22,28,61} Ahora reconocemos que existen diversas formas distintivas de inestabilidad genética.^{58,59,62} En el presente, nuestra comprensión de estas formas es limitado; a medida que aprendemos más, será más probable que su importancia se incremente para los modelos de cáncer colorrectal.

La vasta mayoría de los tumores en los seres humanos son aneuploides. La aneuploidía está marcada por la pérdida o ganancia de cromosomas completos, un fenotipo descrito como inestabilidad cromosómica (INC).⁵⁹ La pérdida de heterocigocidad (PDH) está asociada con este fenotipo; es la pérdida de un alelo de un gen. Así, solamente una copia de un gen necesita estar mutada somáticamente con la pérdida del alelo de tipo salvaje por la PDH. Las anomalías cromosómicas de los tumores con INC también incluyen la amplificación génica y la translocación cromosómica. Si bien las causas de la INC son desconocidas, en los últimos años se han logrado avances significativos en el tema. Sin lugar a dudas, el daño de los puntos de control del ADN desempeña un papel en este proceso.^{60,63,64} Más aun, la proteína APC, además de su papel central en la PAF y en la carcinogénesis esporádica, está involucrada en la segregación cromosómica.^{65,66} El trabajo realizado más recientemente sobre la investigación del mantenimiento de los telómeros en células normales, así como de la supervivencia y multiplicación de las células neoplásicas aportó nuevas ideas hacia otro mecanismo potencial para explicar las inestabilidades observadas en los cánceres con INC.⁴² Los telómeros son complejos nucleoproteicos en los extremos de los cromosomas que funcionan para mantener la extremidad de éstos.^{42,67} También funcionan para limitar el número absoluto de divisiones celulares. La actividad de la telomerasa en los adultos está limitada a los linfocitos activados, células germinales y células germinales tisulares. En ausencia de actividad de la telomerasa, los telómeros se acortan progresivamente con cada división celular.

Después de un número limitado de divisiones, los telómeros quedan acortados de manera crítica y son inestables e inducen la apoptosis celular o la senescencia.^{42,68} Este período que provoca el acortamiento de los telómeros se denomina "crisis telomérica". Si los puntos de control fallan, y si no son seguidos por senescencia o apoptosis, se observa inestabilidad cromosómica grave, con características similares a las observadas en las neoplasias humanas, como puentes cromosómicos, translocaciones no recíprocas, amplificación génica y rearrreglos cromosómicos complejos.^{42,69} Los estudios de pólipos colónicos y de cánceres humanos hallaron que la actividad de la telomerasa es baja y que la longitud de los telómeros estaba acortada en pólipos de tamaño pequeño a moderado. La actividad de la telomerasa está incrementada en los pólipos grandes y en los cánceres colorrectales,^{70,71} lo que permite un potencial duplicativo ilimitado, un "sello" del cáncer. Asociados con la baja actividad de la telomerasa, los estudios de hibridación genómica comparativa (HGC) y los histológicos informaron incremento en las tasas de rearrreglos cromosómicos, translocaciones no recíprocas y puentes en la anafase observados en los pólipos adenomatosos.⁷² Por último, los estudios en animales transgénicos avalan esta hipótesis.

Los cánceres epiteliales espontáneos son infrecuentes en ratones salvajes y en ratones con mutación de p53, sin embargo en los ratones con esta mutación y deficientes en telomerasa existe un incremento notable de tumores epiteliales de mama, piel y tracto gastrointestinal. Además, estos cánceres se caracterizan por translocaciones no recíprocas y por otras anomalías citogenéticas asociadas con los tumores con INC.^{42,69,73,74} En conjunto, los estudios de tumores en seres humanos y los estudios en transgénicos sugieren que la crisis telomérica puede ser un mecanismo importante que provoca INC en cánceres con INC.

Quizá la mejor comprendida de las inestabilidades genéticas involucradas en la progresión del cáncer de colon sea el error en la determinación de la compatibilidad (RD).⁷⁵⁻⁷⁷ El sistema de RD reconoce las incompatibilidades base a base y los apareamientos desiguales de inserción/delección que tienen lugar con la duplicación del ADN y con la recombinación homóloga. Estos errores deben ser corregidos antes de la duplicación del ADN, porque de otra manera las mutaciones pasarían a las células hijas. Segmentos cortos repetitivos de ADN, conocidos como microsatélites, son vulnerables a este tipo de error. En células con deficiencia por RD, con frecuencia estos sitios se encuentran mutados.^{58,59,76} Este tipo de inestabilidad genética se conoce como inestabilidad de microsatélites (INM o IMS). Los genes que contienen estas secuencias repetitivas en sus regiones de codificación son particularmente susceptibles a la inactivación de mutaciones durante la duplicación del ADN en neoplasias con IMS.⁷⁸⁻⁸¹ Los cánceres con IMS, a diferencia de los tumores con INC, tienden a ser diploides o casi diploides.^{59,76} La INM puede aparecer tanto en cánceres de colon familiares como esporádicos, aunque los mecanismos responsables son bastante diferentes. El síndrome de Lynch (SCCNP) es un síndrome familiar de cáncer de colon con transmisión dominante^{75,82,83} y se caracteriza por la aparición del tumor a una edad temprana (media de 45 años) y tasas elevadas de neoplasias extraintestinales,^{75,82,84} como estómago, ovario, uréter, pelvis renal, cerebro (principalmente glioblastoma multiforme – también conocido como síndrome de Turcot-),⁸⁵ intestino delgado, sistema hepatobiliar y piel (neoplasia de las glándulas sebáceas: síndrome de Muir-Torre).⁸⁶ Se observa inactivación de mutaciones en líneas germinales en hMLH1 o hMLH2 en casi el 60% de las familias con SCCNP, y estas mutaciones de las líneas germinales también fueron descritas, aunque con una frecuencia menor, para hPMS1, hPMS2, hMSH6 y hMLH3.⁸⁷⁻⁹³ En contraste, en tumores esporádicos con INM, son infrecuentes las mutaciones somáticas en hMLH1, hMSH2 y hPMS2.^{94,95} Con mayor frecuencia, los niveles proteicos de hMLH1 están marcadamente disminuidos por un silenciamiento específico del gen por hipermetilación de los promotores.^{96,98} Tomadas en conjunto, las formas familiares y esporádicas de INM representan cerca del 15% al 20% de los cánceres de colon.⁵⁹

Las bases del ADN se alteran continuamente por especies químicamente reactivas, desaminaciones hidrolíticas, metilaciones de guanina y alquilaciones. Esto puede llevar a la desigualdad en el apareamiento de los nucleótidos y a las mutaciones de transversión de bases (G \square A o C \square T) durante la duplicación del ADN si no se corrigen.⁹⁹ La vía de la reparación de escisión de bases (REB) es responsable de la identificación de estas bases con modificaciones químicas y de la iniciación de su reparación. Estas mutaciones de base única son con frecuencia silentes, sin embargo si tienen lugar en secuencias críticas de codificación pueden provocar mutaciones sin sentido. Las primeras pueden ser inactivadoras (por ejemplo en APC) o activadoras (por ejemplo, Ras).^{8,99,100} Las mutaciones sin sentido provocan acortamientos prematuros de la proteína si se encuentran dentro de la secuencia de codificación y son típicamente inactivadoras. Diversos componentes de la vía de REB han sido recientemente involucrados en la patogénesis de la carcinogénesis colorrectal, como MED1 (MBD4), MGMT y hMYH.^{6-8,51,52,99,101-103}

Mientras que las inestabilidades genéticas cromosómicas y microsatélites tienden a ser recíprocamente exclusivas, los defectos de escisión y reparación de bases pueden observarse en cánceres INC+ y INM+, así como en un pequeño subgrupo de cánceres que son INC-/INM-.^{51,52,99} MED1(MBD4) es una glucosilasa involucrada en la reparación de las desaminaciones de las metilcitosinas. Se halla con frecuencia mutada por la INM en tumores INM+.^{102,104} Por el contrario, las mutaciones de la línea germinal hMYH están asociadas con un nuevo síndrome familiar atenuado de cáncer de colon que se asemeja a la PAF, ahora denominado PAM (policiposis adenomatosa MYH).⁶⁻⁸ Estos pacientes presentan, como característica, desde 15 a más de 100 pólipos, con una edad promedio de presentación a partir de los 40 años. Resulta sorprendente que la transmisión sea autosómica recesiva, con una penetrancia del cáncer de al menos el 50%.^{6,8} Los tumores de colon asociados con PAM son diferentes de los esporádicos y de los que están vinculados con PAF. Son diploides o casi diploides, y estables desde el punto de vista genético a nivel cromosómico y

microsatelital. Además, se caracterizan por tasas frecuentes de mutaciones de transversión G \rightarrow T, lo que provoca la inactivación de APC y la activación de K-ras.6-8,100 La inactivación de MYH también se asoció, recientemente, con la patogénesis del cáncer de colon esporádico.103 La metilguanina metil transferasa (MGMT) es otra enzima reparadora del ADN y un componente de la vía de REB.51,52 La MGMT elimina las lesiones alquilantes de O6-metilguanina, las cuales, si no se corrigen, pueden resultar en mutaciones de transición G \rightarrow A. Las transiciones G \rightarrow A son una causa frecuente de mutaciones K-ras.

En cánceres esporádicos, el gen MGMT está con frecuencia silenciado por la hipermetilación del promotor,51,52,99 en particular en aquellos con fenotipos INC- e INM-. En resumen, la reparación de las bases químicamente modificadas del ADN es una función fundamental que puede ser una fuente importante de inestabilidad genética en células en las cuales estas vías se hallan interrumpidas.

Por último, la regulación epigenética de la expresión génica mostró desempeñar un papel importante en la carcinogénesis y puede ser el episodio crítico que conduce a la progresión en un subgrupo de cánceres de colon esporádicos.105- 110 Los mecanismos epigenéticos incluyen la metilación del ADN, el sello (imprinting) del gen, la acetilación de las histonas, y son con frecuencia empleados para el silenciamiento de los genes y para la represión de la transcripción viral y de los trasposones. Los dinucleótidos CpG están presentes en los promotores de muchos genes y están destinados a la metilación por una clase de enzimas conocidas como metiltransferasas del ADN.108,109,111 Una vez que fueron metilados, una familia de proteínas que se conoce como MBDs (del inglés methyl-CpG binding domain proteins [proteínas ligadoras de metil-CpG]) se unen a los dinucleótidos CpG metilados y reclutan otros factores para formar un complejo que altera la conformación del ADN y de la cromatina hacia una configuración más estable y silente.

Mientras que la metilación CpG es en sí mutagénica (la desaminación de la metil- citosina puede provocar transiciones de los nucleótidos de C por T si no se corrigen), se cree que el silenciamiento de los genes supresores de los tumores y de la reparación del ADN mediante la hipermetilación del promotor puede ser el mecanismo predominante que promueve la carcinogénesis.106 En el cáncer de colon, p16Ink4a </SU

P>(regula la actividad de ciclina D), MLH1 (un gen RD), p14ARF</SU

P> (reguladora en más de la actividad de p53), APC, y O6-MGMT (que repara las mutaciones de guanina a adenosina), han sido identificadas como blancos comunes para el silenciamiento mediante la metilación de promotores.96,98,112-115 Ya que la mayoría de los cánceres de colon tendrán algún grado de hipermetilación de promotores, un subgrupo tendrá un grado elevado de esta hipermetilación en varios supresores tumorales simultáneamente. Se ha propuesto que este subgrupo constituye una vía separada para la tumorigénesis colorrectal, llamada isla CpG del fenotipo metilador (CIMP, por sus siglas en inglés [CpG island methylator phenotype].105,116-118 Los tumores CIMP+ son típicamente diploides o casi diploides (INC-), y pueden ser INM+ (debido a la inactivación de hMLH1) o pueden tener la REB alterada debido a la reducción de los niveles de MGMT. Más aun, el fenotipo CIMP+ parece estar presente típicamente en adenomas dentados y en pólipos hiperplásicos grandes. La caracterización clínica y molecular de este fenotipo es un área de activas investigaciones.

Sinopsis

Desde la última vez que revisamos este tema se lograron grandes avances en relación con la comprensión de la carcinogénesis colorrectal. Quizá lo más interesante sea que mejoramos la idea que teníamos acerca de los mecanismos que gobiernan la inestabilidad genética y su papel en la progresión neoplásica.

Continuamos creyendo que esta progresión neoplásica tiene lugar en un número limitado de vías, en las cuales se hallan inactivados supresores tumorales específicos o los oncogenes están activados en una secuencia bastante definida.

Con la continuidad de las investigaciones veremos cambios sorprendentes en la forma de prevenir, diagnosticar y tratar esta enfermedad mortal.

Los autores no manifiestan "conflictos de interés".

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37 Suppl 8:S4-66.
2. Lynch JP, Hoops TC. The Genetic Pathogenesis of Colorectal Cancer. *Hematology - Oncology Clinics of North America* 2002; 16(4):1-36.
3. Meyskens FL, Jr. Chemoprevention of FAP with sulindac. *Curr Oncol Rep* 2002; 4(6):463.
4. Phillips RK, Wallace MH, Lynch PM, Hawk E, Gordon GB, Saunders BP, et al. A randomised, double blind, placebo controlled study of celecoxib, a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, on duodenal polyposis in familial adenomatous polyposis. *Gut* 2002; 50(6):857-60.
5. Asano TK, McLeod RS. Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and Aspirin for preventing colorectal adenomas and carcinomas. *Cochrane Database Syst Rev* 2004(2):CD004079.
6. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, Eccles D, Ellis A, Evans DG, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet* 2003; 362(9377):39-41.
7. Jones S, Emmerson P, Maynard J, Best JM, Jordan S, Williams GT, et al. Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C-->T:A mutations. *Hum Mol Genet* 2002; 11(23):2961-7.
8. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinimann K, Fidalgo P, Phillips RK, et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. *N Engl J Med* 2003; 348(9):791-9.

9. Halford SE, Rowan AJ, Lipton L, Sieber OM, Pack K, Thomas HJ, et al. Germline mutations but not somatic changes at the MYH locus contribute to the pathogenesis of unselected colorectal cancers. *Am J Pathol* 2003; 162(5):1545-8.
10. Pineau BC, Paskett ED, Chen GJ, Espeland MA, Phillips K, Han JP, et al. Virtual colonoscopy using oral contrast compared with colonoscopy for the detection of patients with colorectal polyps. *Gastroenterology* 2003; 125(2):304-10.
11. Mak T, Laloo F, Evans DG, Hill J. Molecular stool screening for colorectal cancer. *Br J Surg* 2004; 91(7):790-800.
12. Diaz-Rubio E. New chemotherapeutic advances in pancreatic, colorectal, and gastric cancers. *Oncologist* 2004; 9(3):282-94.
13. Kim EC, Lance P. Colorectal polyps and their relationship to cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; 26(1):1-17.
14. Carethers JM. The cellular and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1996; 25(4):737-54.
15. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329(27):1977-81.
16. Winawer SJ, Zauber AG, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Stewart ET, et al. The National Polyp Study. Design, methods, and characteristics of patients with newly diagnosed polyps. The National Polyp Study Workgroup. *Cancer* 1992; 70(5 Suppl):1236-45.
17. Takayama T, Katsuki S, Takahashi Y, Ohi M, Nojiri S, Sakamaki S, et al. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *N Engl J Med* 1998; 339(18):1277-84.
18. Roncucci L, Pedroni M, Vaccina F, Benatti P, Marzona L, De Pol A. Aberrant crypt foci in colorectal carcinogenesis. *Cell and crypt dynamics*. *Cell Prolif* 2000; 33(1):1-18.
19. Tudek B, Bird RP, Bruce WR. Foci of aberrant crypts in the colons of mice and rats exposed to carcinogens associated with foods. *Cancer Res* 1989; 49(5):1236-40.
20. Nucci MR, Robinson CR, Longo P, Campbell P, Hamilton SR. Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. *Hum Pathol* 1997; 28(12):1396-407.
21. Siu IM, Pretlow TG, Amini SB, Pretlow TP. Identification of dysplasia in human colonic aberrant crypt foci. *Am J Pathol* 1997; 150(5):1805-13.
22. Heinen CD, Shivapurkar N, Tang Z, Groden J, Alabaster O. Microsatellite instability in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res* 1996; 56(23):5339-41.
23. Pedroni M, Sala E, Scarselli A, Borghi F, Menigatti M, Benatti P, et al. Microsatellite instability and mismatch-repair protein expression in hereditary and sporadic colorectal carcinogenesis. *Cancer Res* 2001; 61(3):896-9.
24. Shivapurkar N, Huang L, Ruggeri B, Swalsky PA, Bakker A, Finkelstein S, et al. K-ras and p53 mutations in aberrant crypt foci and colonic tumors from colon cancer patients. *Cancer Lett* 1997; 115(1):39-46.
25. Shpitz B, Bomstein Y, Shalev M, Liverant S, Kaufman Z, Klein E, et al. Oncoprotein coexpression in human aberrant crypt foci and minute polypoid lesions of the large bowel. *Anticancer Res* 1999; 19(4B):3361-6.
26. Takayama T, Ohi M, Hayashi T, Miyanishi K, Nobuoka A, Nakajima T, et al. Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2001; 121(3):599-611.
27. Smith AJ, Stern HS, Penner M, Hay K, Mitri A, Bapat BV, et al. Somatic APC and K-ras codon 12 mutations in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res* 1994; 54(21):5527-30.
28. Suzuki H, Watkins DN, Jair KW, Schuebel KE, Markowitz SD, Dong Chen W, et al. Epigenetic inactivation of SFRP genes allows constitutive WNT signaling in colorectal cancer. *Nat Genet* 2004; 36(4):417-22.
29. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9(4):138-41.
30. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 2000; 119(3):854-65.
31. Ponder BA. Cancer genetics. *Nature* 2001; 411(6835):336-41.
32. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1):57-70.
33. Cahill DP, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C. Genetic instability and darwinian selection in tumours. *Trends Cell Biol*

34. Muto T, Bussey HJ, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1975; 36(6):2251-70.
35. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61(5):759-67.
36. Shiozawa J, Ito M, Nakayama T, Nakashima M, Kohno S, Sekine I. Expression of matrix metalloproteinase-1 in human colorectal carcinoma. *Mod Pathol* 2000; 13(9):925-33.
37. Adachi Y, Yamamoto H, Itoh F, Hinoda Y, Okada Y, Imai K. Contribution of matrilysin (MMP-7) to the metastatic pathway of human colorectal cancers. *Gut* 1999; 45(2):252-8.
38. Vermeulen SJ, Bruyneel EA, Bracke ME, De Bruyne GK, Vennekens KM, Vleminckx KL, et al. Transition from the noninvasive to the invasive phenotype and loss of alpha-catenin in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1995; 55(20):4722-8.
39. Portera CA, Jr., Berman RS, Ellis LM. Molecular determinants of colon cancer metastasis. *Surg Oncol* 1998; 7(3-4):183-95.
40. Zhang X, Gaspard JP, Chung DC. Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia. *Cancer Res* 2001; 61(16):6050-4.
41. Kaklamanis L, Kakolyris S, Koukourakis M, Gatter KC, Harris AL. From hyperplasia to neoplasia and invasion: angiogenesis in the colorectal adenoma- carcinoma model. *Adv Exp Med Biol* 2000; 476:249-66.
42. Sharpless NE, DePinho RA. Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J Clin Invest* 2004; 113(2):160-8.
43. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87(2):159-70.
44. Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997; 386(6627):761, 763.
45. Chung DC, Rustgi AK. DNA mismatch repair and cancer. *Gastroenterology* 1995; 109(5):1685-99.
46. Jass JR, Biden KG, Cummings MC, Simms LA, Walsh M, Schoch E, et al. Characterisation of a subtype of colorectal cancer combining features of the suppressor and mild mutator pathways. *J Clin Pathol* 1999; 52(6):455-60.
47. Hasegawa H, Ueda M, Watanabe M, Teramoto T, Mukai M, Kitajima M. K-ras gene mutations in early colorectal cancer ... flat elevated vs polyp-forming cancer. *Oncogene* 1995; 10(7):1413-6.
48. Olschwang S, Slezak P, Roze M, Jaramillo E, Nakano H, Koizumi K, et al. Somatically acquired genetic alterations in flat colorectal neoplasias. *Int J Cancer* 1998; 77(3):366-9.
49. Saitoh Y, Waxman I, West AB, Popnikolov NK, Gatalica Z, Watari J, et al. Prevalence and distinctive biologic features of flat colorectal adenomas in a North American population. *Gastroenterology* 2001; 120(7):1657-65.
50. Yashiro M, Carethers JM, Laghi L, Saito K, Slezak P, Jaramillo E, et al. Genetic pathways in the evolution of morphologically distinct colorectal neoplasms. *Cancer Res* 2001; 61(6):2676-83.
51. Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002; 123(3):862-76.
52. Jass JR. Hyperplastic polyps and colorectal cancer: is there a link? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2(1):1-8.
53. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJ, Lightfoot TJ, Coxhead J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53--alternative genetic pathways to colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(14):9433-8.
54. Hofseth LJ, Khan MA, Ambrose M, Nikolayeva O, Xu-Welliver M, Kartalou M, et al. The adaptive imbalance in base excision-repair enzymes generates microsatellite instability in chronic inflammation. *J Clin Invest* 2003; 112(12):1887-94.
55. Guo HH, Loeb LA. Tumbling down a different pathway to genetic instability. *J Clin Invest* 2003; 112(12):1793-5.
56. Walsh S, Murphy M, Silverman M, Odze R, Antonioli D, Goldman H, et al. p27 expression in inflammatory bowel disease-associated neoplasia. Further evidence of a unique molecular pathogenesis. *Am J Pathol* 1999; 155(5):1511-8.
57. Itzkowitz SH. Inflammatory bowel disease and cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; 26(1):129-39.
58. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004; 23(1-2):11-27.
59. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998; 396(6712):643-9.
60. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature* 1997; 386(6625):623-7.

61. Augenlicht LH, Richards C, Corner G, Pretlow TP. Evidence for genomic instability in human colonic aberrant crypt foci. *Oncogene* 1996; 12(8):1767-72.
62. Breivik J, Gaudernack G. Genomic instability, DNA methylation, and natural selection in colorectal carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 1999; 9(4):245-54.
63. Murray AW. The genetics of cell cycle checkpoints. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5(1):5-11.
64. Cahill DP, Lengauer C, Yu J, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz SD, et al. Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature* 1998; 392(6673):300-3.
65. Fodde R, Kuipers J, Rosenberg C, Smits R, Kielman M, Gaspar C, et al. Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nat Cell Biol* 2001; 3(4):433-8.
66. Kaplan KB, Burds AA, Swedlow JR, Bekir SS, Sorger PK, Nathke IS. A role for the Adenomatous Polyposis Coli protein in chromosome segregation. *Nat Cell Biol* 2001; 3(4):429-32.
67. Chan SR, Blackburn EH. Telomeres and telomerase. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004; 359(1441):109-21.
68. Stewart SA, Weinberg RA. Telomerase and human tumorigenesis. *Semin Cancer Biol* 2000; 10(6):399-406.
69. Artandi SE, Chang S, Lee SL, Alson S, Gottlieb GJ, Chin L, et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000; 406(6796):641-5.
70. Engelhardt M, Drullinsky P, Guillem J, Moore MA. Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3(11):1931-41.
71. Plentz RR, Wiemann SU, Flemming P, Meier PN, Kubicka S, Kreipe H, et al. Telomere shortening of epithelial cells characterises the adenoma-carcinoma transition of human colorectal cancer. *Gut* 2003; 52(9):1304-7.
72. Hermsen M, Postma C, Baak J, Weiss M, Rapallo A, Sciotto A, et al. Colorectal adenoma to carcinoma progression follows multiple pathways of chromosomal instability. *Gastroenterology* 2002; 123(4):1109-19.
73. Rudolph KL, Millard M, Bosenberg MW, DePinho RA. Telomere dysfunction and evolution of intestinal carcinoma in mice and humans. *Nat Genet* 2001; 28(2):155-9.
74. Chin L, Artandi SE, Shen Q, Tam A, Lee SL, Gottlieb GJ, et al. p53 deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis. *Cell* 1999; 97(4):527-38.
75. Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene* 2004; 23(38):6445-70.
76. Peltomaki P. Deficient DNA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer. *Hum Mol Genet* 2001; 10(7):735-40.
77. Kolodner RD, Marsischky GT. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9(1):89-96.
78. Huang J, Papadopoulos N, McKinley AJ, Farrington SM, Curtis LJ, Wyllie AH, et al. APC mutations in colorectal tumors with mismatch repair deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(17):9049-54.
79. Miyaki M, Iijima T, Kimura J, Yasuno M, Mori T, Hayashi Y, et al. Frequent mutation of beta-catenin and APC genes in primary colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res* 1999; 59(18):4506-9.
80. Parsons R, Myeroff LL, Liu B, Willson JK, Markowitz SD, Kinzler KW, et al. Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor beta type II receptor gene in colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55(23):5548-50.
81. Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, et al. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 1997; 275(5302):967-9.
82. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(4):261-8.
83. Lynch HT, Smyrk T, Lynch J. An update of HNPCC (Lynch syndrome). *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 93(1):84-99.
84. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116(6):1453-6.
85. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332(13):839-47.
86. Kruse R, Rutten A, Lamberti C, Hosseiny-Malayeri HR, Wang Y, Ruelfs C, et al. Muir-Torre phenotype has a frequency of

DNA mismatch-repair-gene mutations similar to that in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families defined by the Amsterdam criteria. *Am J Hum Genet* 1998; 63(1):63-70.

87. Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, Nicolaides NC, Lynch HT, Watson P, et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 1996; 2(2):169-74.
88. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, Kikuchi-Yanoshita R, Muraoka M, Yasuno M, et al. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 1997; 17(3):271-2.
89. Akiyama Y, Sato H, Yamada T, Nagasaki H, Tsuchiya A, Abe R, et al. Germ-line mutation of the hMSH6/GTBP gene in an atypical hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindred. *Cancer Res* 1997; 57(18):3920-3.
90. Huang J, Kuismanen SA, Liu T, Chadwick RB, Johnson CK, Stevens MW, et al. MSH6 and MSH3 are rarely involved in genetic predisposition to nonpolyptotic colon cancer. *Cancer Res* 2001; 61(4):1619-23.
91. Kolodner RD, Tytell JD, Schmeits JL, Kane MF, Gupta RD, Weger J, et al. Germ- line msh6 mutations in colorectal cancer families. *Cancer Res* 1999; 59(20):5068- 74.
92. Liu T, Yan H, Kuismanen S, Percesepe A, Bisgaard ML, Pedroni M, et al. The Role of hPMS1 and hPMS2 in Predisposing to Colorectal Cancer. *Cancer Res* 2001; 61(21):7798-802.
93. Wu Y, Berends MJ, Sijmons RH, Mensink RG, Verlind E, Kooi KA, et al. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 2001; 29(2):137- 8.
94. Liu B, Nicolaides NC, Markowitz S, Willson JK, Parsons RE, Jen J, et al. Mismatch repair gene defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nat Genet* 1995; 9(1):48-55.
95. Ma AH, Xia L, Littman SJ, Swinler S, Lader G, Polinkovsky A, et al. Somatic mutation of hPMS2 as a possible cause of sporadic human colon cancer with microsatellite instability. *Oncogene* 2000; 19(18):2249-56.
96. Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(12):6870-5.
97. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57(5):808-11.
98. Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, Ma AH, Lutterbaugh JD, Periyasamy S, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(15):8698-702.
99. Jiricny J, Marra G. DNA repair defects in colon cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13(1):61-9.
100. Lipton L, Halford SE, Johnson V, Novelli MR, Jones A, Cummings C, et al. Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. *Cancer Res* 2003; 63(22):7595-9.
101. Petronzelli F, Riccio A, Markham GD, Seeholzer SH, Stoerker J, Genuardi M, et al. Biphasic kinetics of the human DNA repair protein MED1 (MBD4), a mismatch- specific DNA N-glycosylase. *J Biol Chem* 2000; 275(42):32422-9.
102. Riccio A, Aaltonen LA, Godwin AK, Loukola A, Percesepe A, Salovaara R, et al. The DNA repair gene MBD4 (MED1) is mutated in human carcinomas with microsatellite instability. *Nat Genet* 1999; 23(3):266-8.
103. Kambara T, Whitehall VL, Spring KJ, Barker MA, Arnold S, Wynter CV, et al. Role of inherited defects of MYH in the development of sporadic colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 40(1):1-9.
104. Bader S, Walker M, Hendrich B, Bird A, Bird C, Hooper M, et al. Somatic frameshift mutations in the MBD4 gene of sporadic colon cancers with mismatch repair deficiency. *Oncogene* 1999; 18(56):8044-7.
105. Kondo Y, Issa JP. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004; 23(1-2):29-39.
106. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3(6):415-28.
107. Grady WM, Markowitz SD. Genetic and epigenetic alterations in colon cancer. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002; 3:101-28.
108. Tycko B. Epigenetic gene silencing in cancer. *J Clin Invest* 2000; 105(4):401-7.
109. Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16(4):168-74.
110. Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, Bachman KE, Schuebel K, Herman JG. Aberrant patterns of DNA methylation,

111. Robertson KD. DNA methylation, methyltransferases, and cancer. *Oncogene* 2001; 20(24):3139-55.
112. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001; 61(8):3225-9.
113. Esteller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, et al. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res* 2000; 60(16):4366-71.
114. Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, et al. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 2000; 60(9):2368-71.
115. Costello JF, Fruhwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, et al. Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. *Nat Genet* 2000; 24(2):132-8.
116. Rashid A, Shen L, Morris JS, Issa JP, Hamilton SR. CpG island methylation in colorectal adenomas. *Am J Pathol* 2001; 159(3):1129-35.
117. Toyota M, Ohe-Toyota M, Ahuja N, Issa JP. Distinct genetic profiles in colorectal tumors with or without the CpG island methylator phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(2):710-5.
118. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(15):8681-6.
119. Fearhead NS, Britton MP, Bodmer WF. The ABC of APC. *Hum Mol Genet* 2001; 10(7):721-33.
120. Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, Avizienyte E, Roth S, Loukola A, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature* 1998; 391(6663):184-7.
121. Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet* 1998; 18(1):38-43.
122. Dong SM, Kim KM, Kim SY, Shin MS, Na EY, Lee SH, et al. Frequent somatic mutations in serine/threonine kinase 11/Peutz-Jeghers syndrome gene in left-sided colon cancer. *Cancer Res* 1998; 58(17):3787-90.
123. Howe JR, Roth S, Ringold JC, Summers RW, Jarvinen HJ, Sistonen P, et al. Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. *Science* 1998; 280(5366):1086-8.
124. Zhou XP, Woodford-Richens K, Lehtonen R, Kurose K, Aldred M, Hampel H, et al. Germline mutations in BMPR1A/ALK3 cause a subset of cases of juvenile polyposis syndrome and of Cowden and Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndromes. *Am J Hum Genet* 2001; 69(4):704-11.