



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PETROLEOS MEXICANOS  
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD  
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

**ALTERACIÓN EN LA VÍA DE REPARACIÓN DE  
ERRORES DE APAREAMIENTO DEL ADN,  
DETECTADO POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN  
PACIENTES MENORES DE 55 AÑOS CON  
CARCINOMA COLORRECTAL EN EL HOSPITAL  
CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD DE  
2000 A 2016.**

**TESIS DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA  
PRESENTA:**

**DR. CHRISTIAN IVÁN LÓPEZ GARCÍA**

TUTOR DE TESIS: DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO



CIUDAD DE MÉXICO

2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---



DRA. ANA ELENA LIMÓN ROJAS  
DIRECTORA HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD



DR. JESÚS REYNA FIGUEROA  
JEFE DE DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN



DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO  
JEFE DE SERVICIO Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO  
DE ANATOMÍA PATOLÓGICA



DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO  
ASESOR DE TESIS

**DEDICATORIA:**

A mi mamá, Diego y Luis por su apoyo incondicional durante este tiempo.

A mis profesoras: Dra. Irene Rivera, Dra. Rosa María Vicuña, Dra. Verónica Bautista y Dra. Leticia Llamas por haber transmitido sus conocimientos.

A mis compañeros y personal de este Honorable servicio con los que compartí momentos memorables durante la Residencia: Ale, Lalo, Den, Gabriel, Alejandro, Viri, Manuy Pam y a Perita, Élida, Judith y Carito.

**RESUMEN:**

El carcinoma colorrectal es la tercera neoplasia maligna más frecuente a nivel mundial. La alteración en el sistema de reparación de errores de replicación del ADN, es el segundo evento molecular más frecuente en la carcinogénesis de esta neoplasia, la inmunohistoquímica es un método accesible para la determinación de esta alteración. El presente estudio analiza por este método la alteración en las proteínas MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 en 35 casos diagnosticados en personas menores de 55 años entre 2000-2016 en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad. **Resultados:** De los 35 casos estudiados, 14 presentaron positividad para los cuatro marcadores y ausencia de MLH-1 correspondiente a casos esporádicos a los que no se tienen que hacer pruebas complementarias, 15 casos con ausencia de MLH-1 y PMS-2 a los cuales se deberá realizar la detección de mutación de BRAF y 6 casos con ausencia de MSH-2 y/o MSH-6 o PMS-2 a los que se tendrá que llevar a cabo una prueba genética para confirmación de la mutación.

Colorectal carcinoma is the third most frequent malignancy worldwide. The alteration in the mismatch repair system of DNA is the second most frequent molecular event in the carcinogenesis of this neoplasia, immunohistochemistry is an accessible method for the determination of this alteration. The present study analyzes by this method the alteration in the proteins MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 in 35 cases in people under 55 years old between 2000-2016 in the Hospital Central Sur de Alta Especialiad. **Results:** Of the 35 cases studied, 14 presented positivity for the four markers and absence of MLH-1 corresponding to sporadic cases that do not need more supplementary tests, 15 cases with absence of MLH-1 and PMS-2 to which the detection of BRAF mutations must be done and 6 cases with absence of MSH-2 and/or MSH-6 or PMS-2 which a genetic test for confirmation of the mutation will have to be carried out.

Palabras clave: Carcinoma colorrectal; MLH1; PMS-2.

**ÍNDICE:**

Dedicatoria:.....	3
Resumen:.....	4
Título.....	6
Introducción:.....	6
Marco teórico.....	7
Justificación.....	14
Objetivos.....	15
Diseño del estudio.....	14
Materiales y Métodos:.....	16
Resultados:.....	18
Discusión:.....	36
Conclusiones:.....	38
Referencias bibliográficas.....	39

## **ALTERACIÓN EN LA VÍA DE REPARACIÓN DE ERRORES DE APAREAMIENTO DEL ADN, DETECTADO POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES MENORES DE 55 AÑOS CON CARCINOMA COLORRECTAL EN EL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD DE 2000 A 2016.**

### **INTRODUCCIÓN:**

El carcinoma colorrectal es la tercera neoplasia maligna más frecuente a nivel mundial. <sup>(1)</sup> En el Hospital Central Sur de Alta Especialidad representó la tercera neoplasia más frecuente en el periodo de 1999 a 2016.

Son tres los eventos moleculares principales que participan en la carcinogénesis del carcinoma colorrectal, uno de ellos es la inestabilidad cromosómica representada por la activación del oncogén KRAS e inhibición de genes supresores como APC o TP53 que suman el 65 al 90% de los casos. La alteración en el sistema de reparación de errores de apareamiento del ADN, que da lugar a inestabilidad de microsatélites ocupa el segundo lugar con cerca del 15% de los casos y está dado por alteraciones en las proteínas reparadoras principalmente MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 y en menor porcentaje MLH-3, MSH-3, PMS-1, en tercer lugar el fenotipo metilador. <sup>(1)(6)</sup>

La determinación de estas alteraciones por distintos métodos ha permitido clasificar a estos pacientes en diferentes grupos, pretendiendo lograr la detección oportuna de pacientes con Síndrome de Lynch.

## **MARCO DE REFERENCIA.**

El carcinoma colorrectal representa la tercera causa de muerte a nivel mundial. <sup>(1)</sup>

En México del año 2002 a 2012 el número de defunciones por año a causa de éste aumentó de 2,178 a 4,694, lo que implica un aumento del 50%.<sup>(2)</sup>

En el Hospital Central Sur de Alta Especialidad el cáncer colorrectal representó la tercera neoplasia más frecuente en el periodo de 1999 a 2016, el cáncer de próstata y de mama ocuparon el segundo y primer lugar respectivamente.

La incidencia y mortalidad por cáncer de colon y recto se ha duplicado debido a los cambios en el estilo de vida, de alimentación aunado a otros factores como sedentarismo, obesidad, tabaquismo, consumo elevado de proteínas de origen animal y de grasas saturadas, y la falta de fibra en la dieta. <sup>(3)</sup>

El CCR (carcinoma colorrectal) es una neoplasia de etiología multifactorial, que puede presentarse con una lesión precursora como los adenomas colónicos, o como una neoplasia esporádica o asociada a Síndromes Polipoides, a cáncer colorrectal hereditario no polipósico o Síndrome de Lynch.

La colonoscopia representa el “gold standard” para la detección de adenomas y adenocarcinomas de colon y recto, se observa una tasa de falsos negativos de 12 a 13% para pólipos de 5-10 mm, y de hasta un 26-28% para pólipos < 5 mm.



El riesgo de un individuo con un familiar de primer grado con CCR es 5-6 veces mayor para adenocarcinoma/adenomas de alto riesgo comparado con la población general, y 2-4 veces mayor para adenomas de cualquier tipo. Se recomienda realizar la colonoscopia a partir de los 30- 35 años de edad cada 2 o 3 años o cada 1- 2 años después de los 40 años o desde 10 años antes que la edad de diagnóstico en el familiar comprometido si se diagnostica antes de los 30 años. <sup>(3)(4)</sup>

El cáncer de colon es más frecuente en el sexo masculino. Los síntomas están relacionados con el estadio de la enfermedad, pudiendo ser asintomático al inicio de la enfermedad y manifestándose con rectorragia y obstrucción en los casos avanzados. <sup>(1)</sup>

Son tres los eventos moleculares que participan en la carcinogénesis del carcinoma colorrectal, la inestabilidad cromosómica representada por la activación del oncogén KRAS e inhibición de genes supresores como APC o TP53 suman el 65 al 90% de los casos. La alteración en el sistema de reparación de errores de apareamiento del ADN, que da lugar a inestabilidad de microsatélites ocupa el segundo lugar en cerca del 15% y está dado por alteraciones en las proteínas reparadoras MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 y en menor porcentaje MLH-3, MSH-3, PMS-1, en tercer lugar el fenotipo metilador. <sup>(1)(6)</sup> Sin embargo, pueden presentarse de forma conjunta eventos moleculares de la vía supresora con inestabilidad cromosómica y de la vía mutadora, tal como lo demuestra Samowitz y cols. en un estudio realizado en 497 casos de carcinoma colorrectal donde

encontraron que del 4.7 al 11.8% de los casos con inestabilidad de microsatélites presentaban también mutación de KRAS.

Las proteínas reparadoras son encargadas de identificar y reparar pares de bases discordantes dentro del genoma. MLH-1 y PMS-2, MSH-2 y MSH-6 forman heterodímeros respectivamente, y cuando se encuentra MLH-1 alterada en un alto porcentaje PMS-2 también se encontrará, lo mismo ocurre para MSH-2 con MSH-6. <sup>(7)(8)(9)</sup>

La alteración en las proteínas reparadoras, da lugar a la acumulación repetitiva de mutaciones, es decir, la inestabilidad de microsatélites en la cual las células neoplásicas son incapaces de corregir deleciones o inserciones en regiones repetitivas del ADN por el complejo de proteínas reparadoras. <sup>(7)</sup>

La inestabilidad de microsatélites se encuentra en un 12 a 15 % de carcinomas esporádicos y en cerca del 90% de casos asociados a Síndrome de Lynch. <sup>(10)</sup>

En un estudio realizado en España se encontró inestabilidad de microsatélites en un 7.4% de casos de carcinoma colorrectal de los cuales 83% pertenecían a casos esporádicos y el 17% al síndrome de Lynch. <sup>(6)</sup> Un trabajo realizado en población Africana se reporta IMS (inestabilidad de microsatélites) en un 60% de carcinomas de colon, sin embargo, ninguno se asoció a síndrome de Lynch. <sup>(11)</sup>

Hashmy y cols. estudiaron por inmunohistoquímica con técnica manual, casos en población de Pakistán, observando que el 34% presentaban mutaciones en las

proteínas reparadoras, y destacan una cifra alta del 39% de mutaciones en pacientes menores de 50 años.<sup>(12)</sup>

No existen estudios realizados en residentes de la República Mexicana, sin embargo Ricker y cols. publican los resultados obtenidos del estudio en población latina residente en el estado de California, en el cual cerca del 50% eran personas nacidas en México o de ascendencia mexicana, encontrando que el 13% del total de casos presentó la mutación, siendo en mayor frecuencia afección de MLH-1, seguida de MSH-2, MSH-6 y PMS2.<sup>(13)</sup>

La detección de tumores con inestabilidad de microsatélites se puede llevar a cabo a través del estudio directo de genes, el análisis de expresión de proteínas codificadas por medio de inmunohistoquímica, método de mayor acceso en la actualidad; así como, el análisis directo de microsatélites por PCR.<sup>(6)</sup>

El estudio directo de los genes mediante el análisis de mutaciones germinales, es un método relativamente sencillo, y tiene la gran ventaja que permite identificar portadores asintomáticos; sin embargo, el costo es una limitante importante para muchos centros de trabajo.<sup>(6)</sup>

El análisis de microsatélites por PCR que compara el tamaño de los alelos del tumor con su correspondiente ADN no tumoral, estudia cinco marcadores: D2S123, D5S346, D17S250, BAT25 Y BAT26, siendo estos últimos los más sensibles y encontrados en más del 95% del tumores con IMS; aquéllos casos con dos o más marcadores positivos se dice que presentan IMS-H (alta

inestabilidad de microsatélites) e IMS-L (baja inestabilidad) para aquéllos casos con un solo marcador positivo. <sup>(6)(14)</sup>

La alteración en la vía de reparación de errores de apareamiento del ADN, es posible llevarse a cabo mediante pruebas de inmunohistoquímica, a través del cual se detecta la ausencia de alguna de las proteínas MLH-1, MSH2, MSH6 o PMS2 dentro del núcleo de células neoplásicas las cuales se unen para formar complejos, MSH2 - MSH 6 son los más abundantes y MLH1 - PMS2 en segundo lugar. <sup>(6)</sup> La determinación por este método tiene una fuerte correlación con la determinación de inestabilidad de microsatélites por PCR; sin embargo, puede verse afectado por otros factores como la fijación mayor a 24 horas. <sup>(15)(17)(18)</sup>

La determinación por medio de inmunohistoquímica tiene una sensibilidad y especificidad general del 80 al 90%, y específicamente para MLH-2 y MSH-2 es del 90% y para MSH-6 y PMS-2 la sensibilidad es del 55 al 77% y la especificidad del 90%.<sup>(2)</sup> Se afirma que para los casos esporádicos la sensibilidad y especificidad es del 100%. <sup>(6)</sup>

El patrón de tinción es nuclear, si la tinción es débil, punteada o en la membrana nuclear deberá considerarse como expresión ausente. Si esto ocurre se deberá llevar a cabo una investigación adicional comparando la tinción con el estroma o linfocitos circundantes los cuales funcionan como control interno, o en su caso repetir la prueba en un bloque diferente o realizar la prueba para IMS por PCR.

Se considerará que la expresión está presente cuando hay positividad en más del 5 al 10% de los núcleos de las células neoplásicas. Es importante mencionar que

puede haber heterogeneidad de la tinción en diferentes áreas del tumor. Se debe tomar en cuenta que puede haber resultados erróneos en tumores que fueron tratados con quimioterapia adyuvante, especialmente en la proteína MSH-6. <sup>(1)(6)</sup>

Payá y cols. sugieren que el resultado de inmunohistoquímica se reporte con las palabras expresión presente o ausente, ya que los términos positivo o negativo puede generar confusión; así mismo, no es necesario reportar la intensidad ni porcentaje ya que esto no correlaciona con la presencia de inactivación génica. <sup>(6)</sup>

Aquéllos pacientes que presentan inestabilidad microsatelital tienen mayor sobrevida y en los casos esporádicos se ha encontrado que los pacientes tienen una respuesta deficiente al tratamiento de quimioadyuvancia con 5-fluoracilo. <sup>(6)(16)(17)</sup>

Se reporta que la mayoría de los tumores con IMS son más frecuentes en mujeres y en el lado derecho del colon. Los tipos histológicos relacionados con estas mutaciones son carcinomas mucinosos, también las variantes de células en anillo de sello y medular se han relacionado. Estos casos presentan algunas características histológicas particulares ya que en comparación con los tumores convencionales se ha visto que estos presentan en menor cantidad la necrosis sucia, también presentan un mayor número de linfocitos intratumorales llegando a formar grandes folículos. Tienen un margen expansivo en el 6% de los casos, incluso se afirma que el hallazgo de estas características histológicas tiene una sensibilidad del 100% para la alteración en las proteínas reparadores del ADN. <sup>(6)(19)</sup>

Sin embargo varios estudios han encontrado que la mayoría de los casos se relacionan con carcinomas convencionales y con mayor localización en lado izquierdo del colon. <sup>(7)(11)(13)</sup>

Diversos organismos recomiendan la detección de la alteración de las cuatro proteínas por inmunohistoquímica en todos los nuevos casos de diagnóstico de carcinoma colorrectal que se estima está presente entre 7 - 19% de casos de CCR <sup>(19)</sup> y en 2- 4 % con síndrome de Lynch. <sup>(2)(21)</sup>

Los casos esporádicos que presentan alguna alteración en las proteínas reparadoras del ADN es producto de la inactivación del gen promotor MLH-1, el cual será negativa para inmunomarcaje de esta proteína y para el síndrome de Lynch puede haber afección en cualquier proteína. <sup>(23)</sup>

Aquellos casos que presenten afección de MLH-1 o PMS-2 se realizará determinación de mutación de BRAF 600E por PCR. Si se encuentra presente, este corresponde a un caso esporádico en cual deberá considerarse ciertas opciones terapéuticas, estos representan el 10 - 15% de casos de CCR.

**JUSTIFICACIÓN:**

La determinación sistemática por inmunohistoquímica de la alteración en las proteínas reparadoras de apareamiento del ADN permite la identificación de pacientes con un alto riesgo de padecer una segunda neoplasia maligna. Esta técnica es de fácil acceso, económica y en el servicio de Patología se cuenta con los reactivos, y el material necesario para llevarlo a cabo.

## **OBJETIVO:**

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el número de pacientes menores de 55 años con Carcinoma Colorrectal que presentan alteraciones en la vía de reparación de errores de apareamiento del ADN en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de 2000 a 2016.



## **MATERIAL Y MÉTODOS:**

**Población de estudio:** Casos con diagnóstico de carcinoma colorrectal en pacientes menores de 55 años diagnosticados en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de 2000 a 2016.

Tamaño de la muestra.

- 78 casos con diagnóstico de adenocarcinoma en pacientes menores de 55 años en el sistema electrónico de Patología del Hospital Central Sur de Alta Especialidad.

A este número de casos se aplicaron los siguientes criterios de selección:

Criterios de Inclusión.

- Todos los casos con diagnóstico histopatológico de carcinoma colorrectal en pacientes de 55 años o menos.
- Todos los casos con los que se cuente con bloque de parafina.
- Casos que presenten mutación de KRAS, NRAS.

Criterios de exclusión.

- Todos los pacientes con diagnóstico histopatológico de CCR mayores de 55 años de edad.
- Casos de CCR asociado a Poliposis Adenomatosa Familiar.

- Biopsias que presenten alteraciones por tratamiento previo de Quimioterapia y/o radioterapia.

Criterios de eliminación.

- Casos en los que no se cuente con bloque de parafina.
- Casos en los que el tejido no sea representativo de la neoplasia
- Casos en que el tejido no sea útil para estudio de inmunohistoquímica

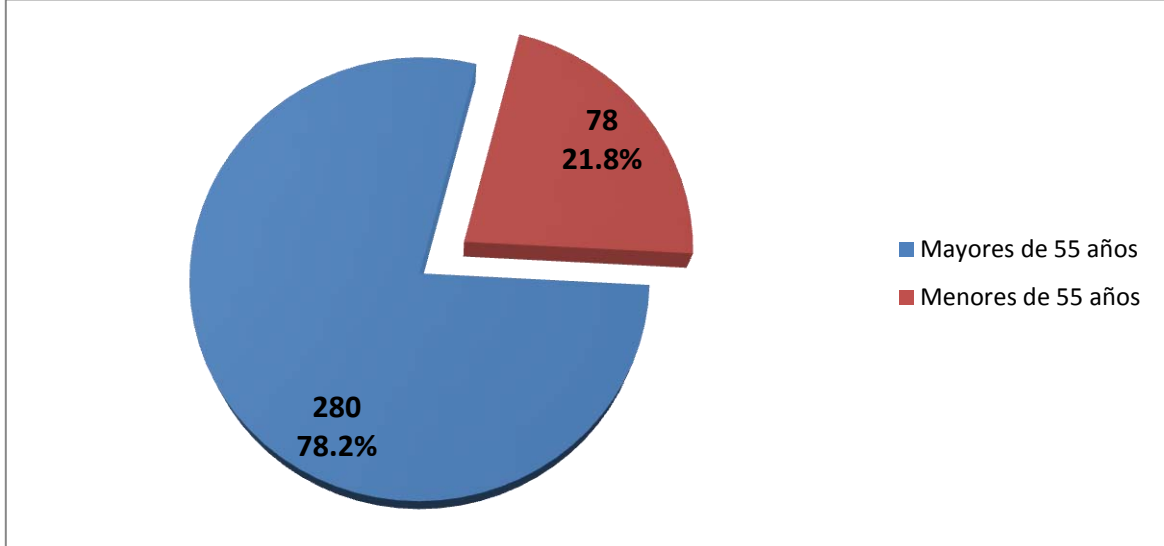
## RESULTADOS:

Se buscó en el sistema electrónico de Patología todos los casos con diagnóstico de carcinoma colorrectal entre los años 2000 a 2016 y arrojó un total de 358 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma en esta topografía, de los cuales 78 casos (21.8%) corresponden a personas menores de 55 años y de estos se eliminaron 28 ya que no se contaba con el bloque de parafina o el material era inadecuado para la realización de las pruebas de inmunohistoquímica (gráfica 1 y 2). Aplicando los criterios de Amsterdam II (Tabla 1) para el diagnóstico de Síndrome de Lynch, se tomó en cuenta el de la edad y se amplió 5 años más para dar la oportunidad a más pacientes de ser tamizados. La distribución total por género mostró una ligera mayor prevalencia en mujeres con 19 casos (54%) y para el sexo masculino 16 casos (46%) (gráfica 3). La edad al diagnóstico fue mayor en personas por arriba de los 40 años con 24 casos (68.57%), 10 casos (28.57%) entre 31 y 40 años y 1 caso (2.86%) menor a 30 años (gráfica 4).

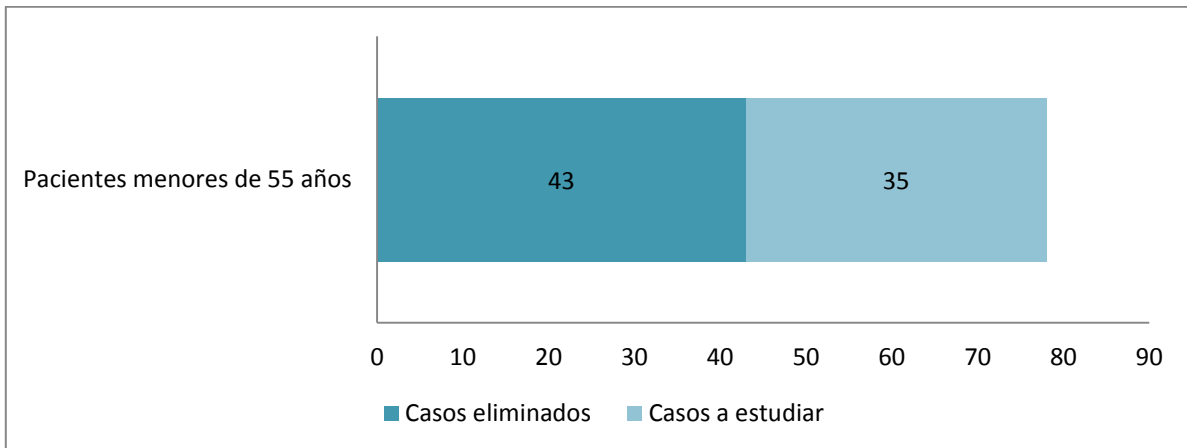
**Tabla 1.** Criterios de Amsterdam II para el diagnóstico de síndrome de Lynch

1. Tres individuos afectados por cáncer colorrectal, endometrial, intestinal, ureteral o vesical (uno de ellos familiar de primer grado en relación a los otros dos).
2. Un afectado antes de los 50 años de edad.
3. Afectación de dos generaciones consecutivas.
4. Exclusión de Poliposis Adenomatosa Familiar.

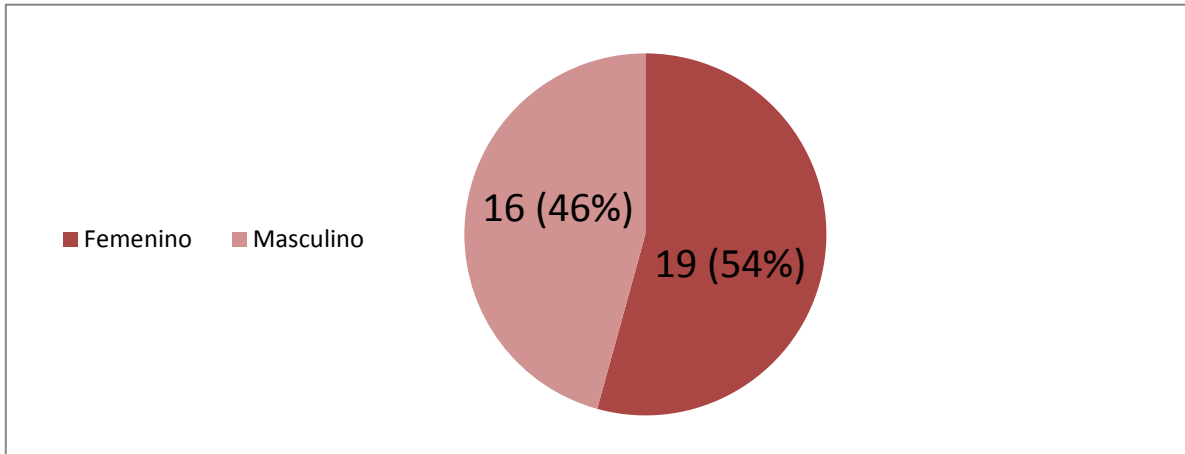
**Gráfica 1:** Casos totales con diagnóstico de carcinoma colorrectal y casos correspondientes a personas menores de 55 años.



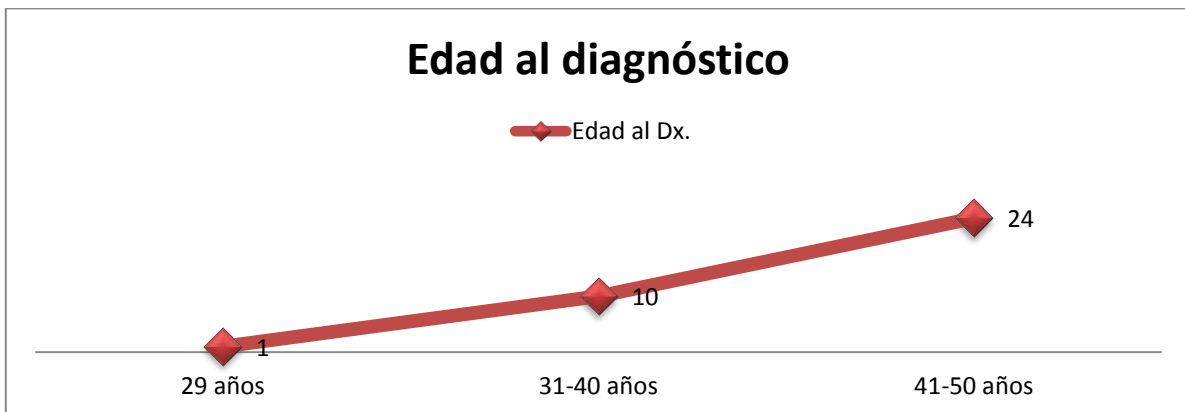
**Gráfica 2:** Total de casos de pacientes menores de 55 años y casos eliminados por ser insuficientes o inadecuados para estudio de inmunohistoquímica.



**Gráfica 3.** Distribución por género del total de casos correspondientes a personas menores de 55 años.



**Gráfica 4.** Edad al diagnóstico de carcinoma colorrectal encontrando que el menor fue a los 29 años y el mayor a los 50 años.



En cuanto a los tipos histológicos encontrados predomina el tipo intestinal con 32 casos (91%), dos casos (6%) mixtos (tipo intestinal y mucinoso) y un caso (3%) de tipo mucinoso (fig. 1) (gráfica 5).

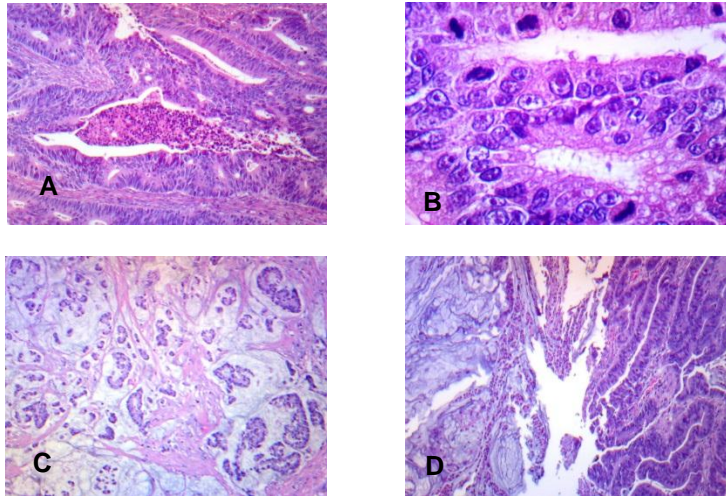
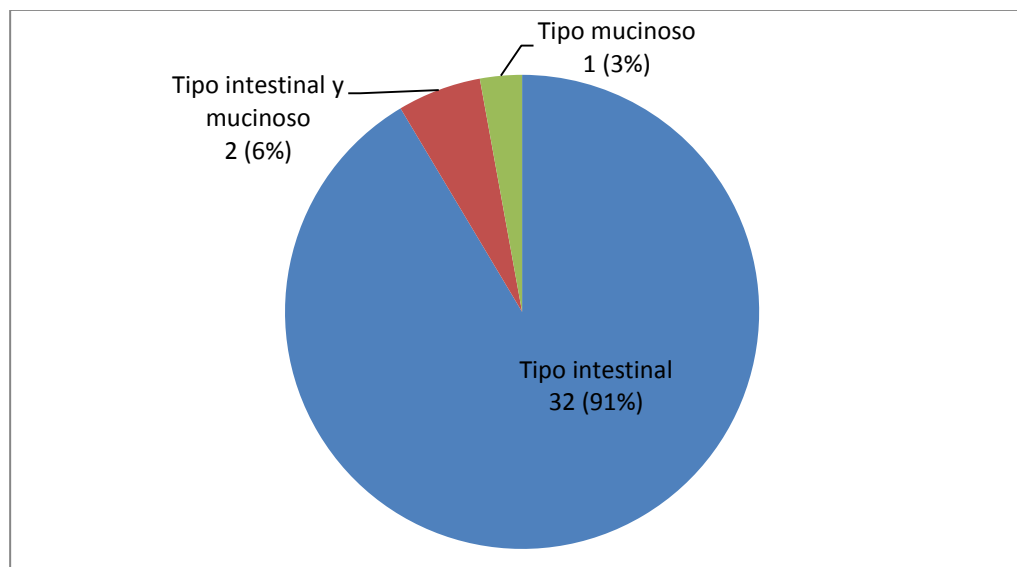
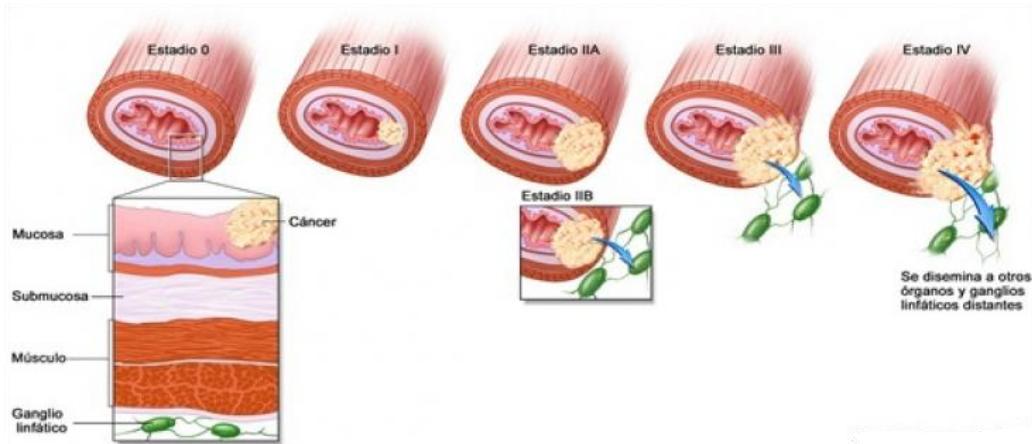


Figura 1. A) Adenocarcinoma de tipo intestinal, observe la necrosis sucia en la luz glandular, característico de esta neoplasia. B) Glándulas con células pleomórficas y presencia de mitosis. C) Adenocarcinoma de tipo mucinoso, presencia de células neoplásicas en lagos de moco. D) Adenocarcinoma mixto, observe de lado izquierdo la presencia de moco del componente mucinoso y en el otro lado en componente de tipo intestinal.

**Gráfica 5.** Tipos histológicos de Adenocarcinoma

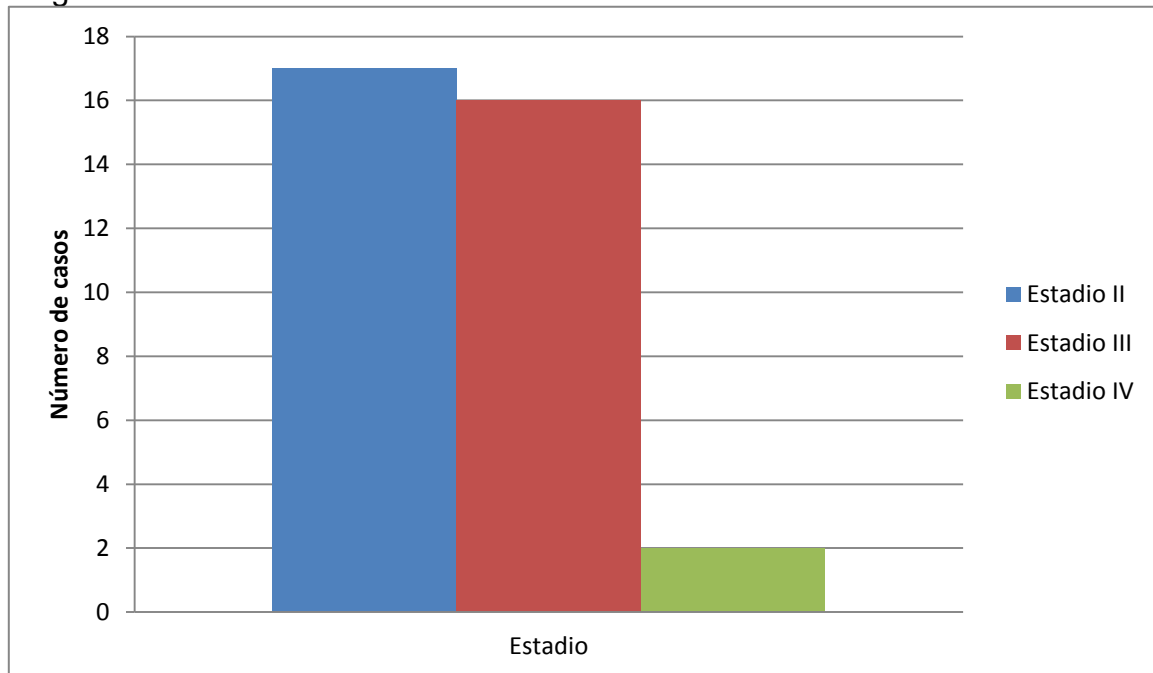


Respecto al estadio clínico al momento del diagnóstico 17 casos se presentaron en estadio II (48.58%), 16 en estadio III (45.74%) y 2 (5.71%) en estadio IV (gráfica 6).



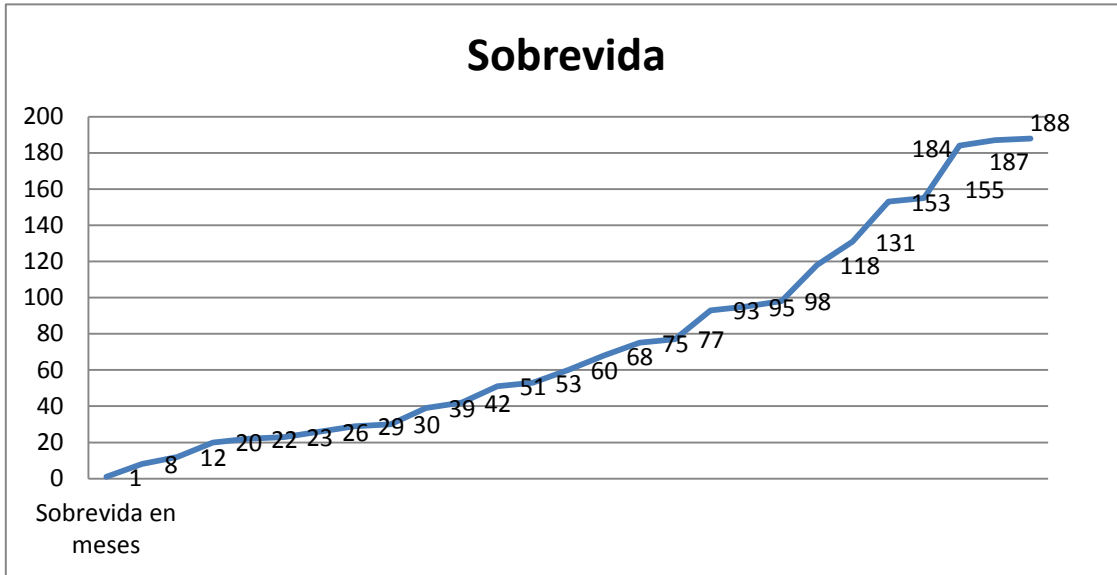
**Figura 2.** Imagen que muestra los estadios del carcinoma colorrectal, observe que el estadio 0 corresponde a un carcinoma in situ, estadio I el tumor se ha extendido más allá de la submucosa, estadio II la lesión se ha extendido hacia la capa muscular o serosa pudiendo haber afección a órganos vecinos. En el estadio III se ha extendido más allá de la serosa con afección a ganglios regionales, y en el estadio IV hay presencia de metástasis a distancia.

**Gráfica 6.** Número de pacientes para cada estadio clínico al momento del diagnóstico.

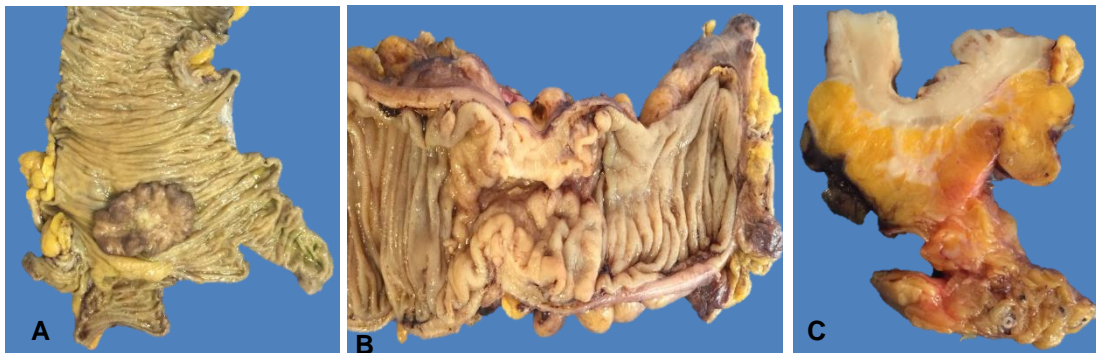


La sobrevida máxima en meses corresponde a 188 meses y la menor de 1 mes, con una media de 73.73 meses (gráfica 7).

**Gráfica 7.** Sobrevida expresada en meses, máxima de 188 meses y mínima de 1 mes.



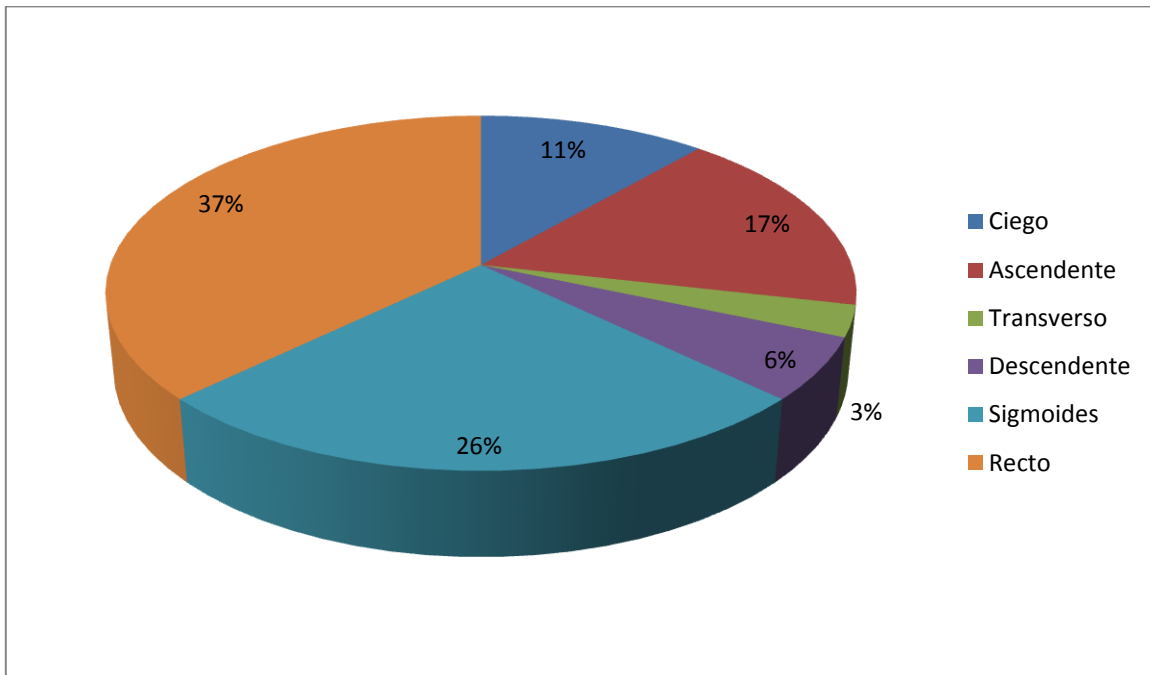
En cuanto a la localización de los tumores en colon 13 casos (37%) se encontraron en recto, seguido de sigmoides con 9 casos (26%), 6 (17%) en colon ascendente, 4 en ciego (11%), 2 en colon descendente (6%) y 1 (3%) en colon transversal (gráfica 8).



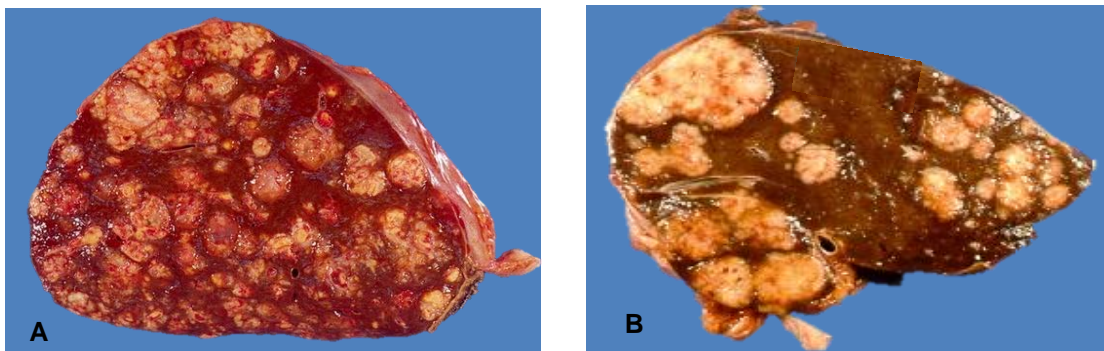
**Figura 3.** A) Tumor exofítico localizado en ciego con compromiso de la válvula ileocecal. B) Tumor en recto, observe que se trata de un tumor circunferencial con estrechamiento de la luz intestinal. C) Corte transversal del tumor en la figura B, se aprecia la invasión al tejido adiposo adyacente.



**Gráfica 8.** Distribución de la localización de los tumores.

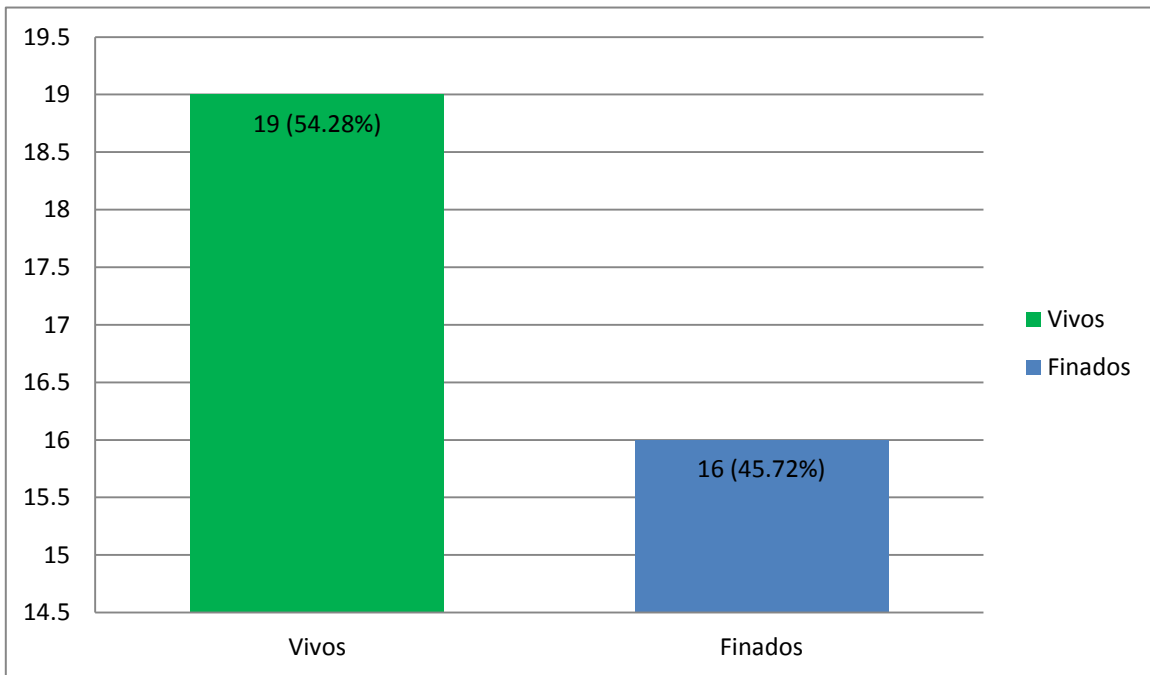


La mortalidad se registró en 16 casos (45.72%) y 19 casos vivos (54.28%). En lo que respecta a las metástasis, la mayoría no presentaron metástasis con 26 casos (74%) y 9 sin metástasis (26%) (gráfica 9 y 10).

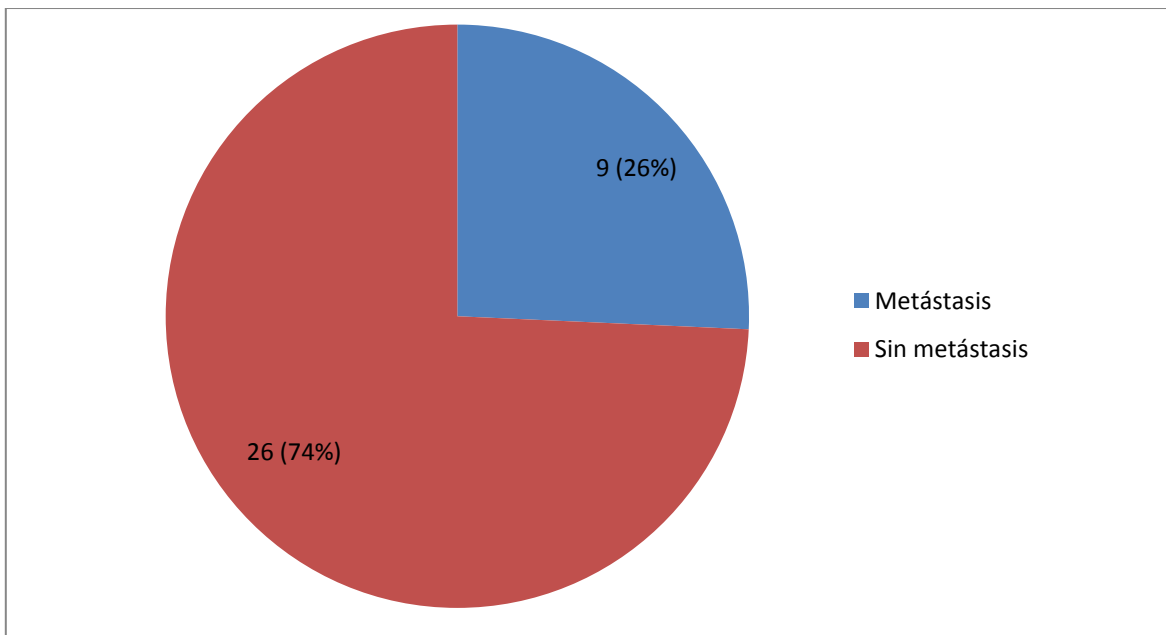


**Figura 4.** A y B) Superficie de corte del hígado, observe las múltiples lesiones nodulares metastásicas de carcinoma colorrectal.

**Gráfica 9.** Total de pacientes vivos y muertos.



**Gráfica 10.** Porcentaje de pacientes que presentaron metástasis de adenocarcinoma colorrectal.

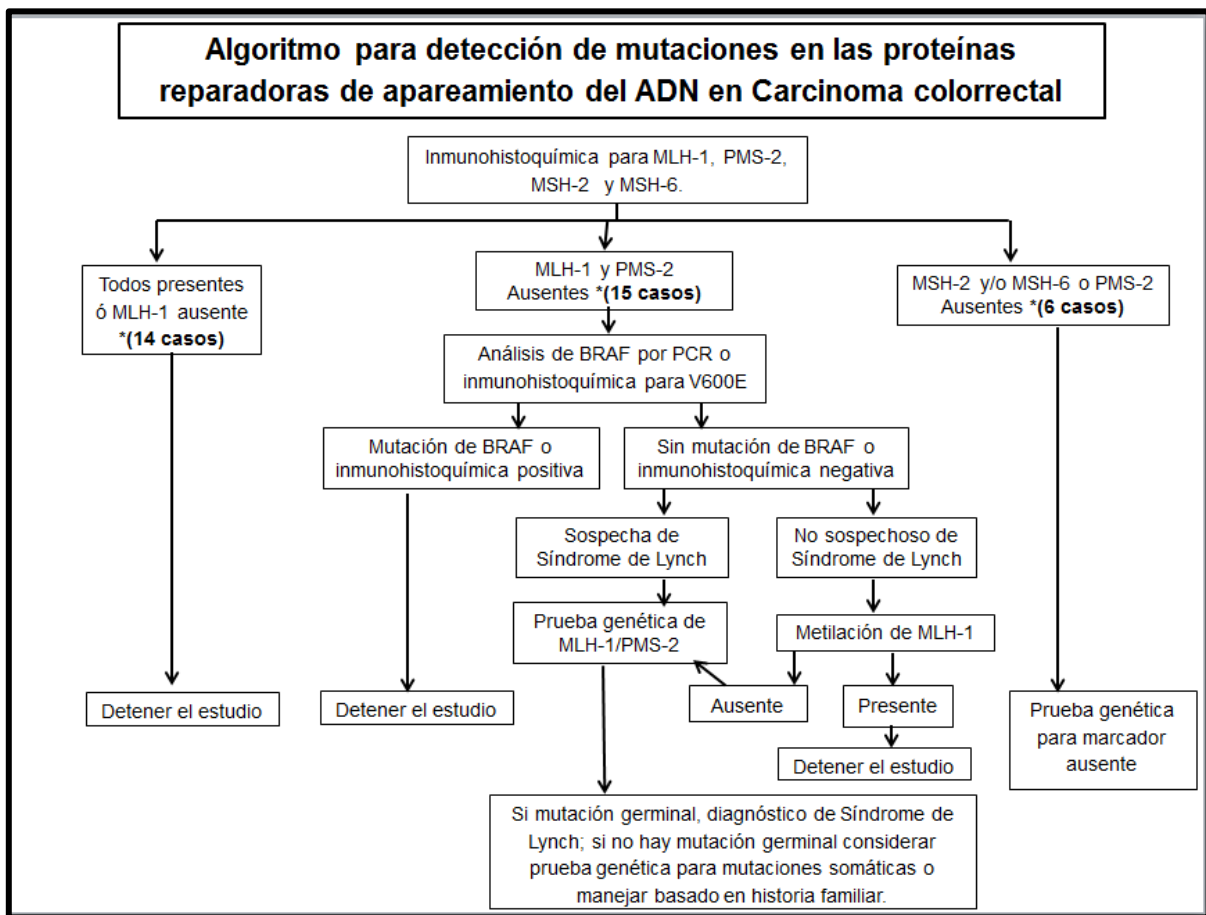


Posteriormente se buscó en el archivo del servicio de Patología los bloques y laminillas para cada caso, en aquéllos con los que se contó con el material y en condiciones adecuadas para la realización del estudio de inmunohistoquímica, se marcó y obtuvo una parte representativa del tumor, las cuales fueron colocadas en número de seis por cápsula, esto de forma ordenada e identificada con un número, teniendo como referencia el tejido testigo (amígdala palatina). Una vez obtenido esto, se realizaron 4 marcadores de inmunohistoquímica (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2) para cada bloque, llevados a cabo en el sistema de detección automatizado Ventana BenchMark XT de Roche, utilizando MLH1 Anticuerpo monoclonal clona G168-15, MSH2 Anticuerpo monoclonal, MSH6 Anticuerpo monoclonal, PMS2 Anticuerpo monoclonal clona A16-4 de Diagnostic BioSystems. Se revisaron y determinó si el inmunomarcaje estaba presente o ausente en las áreas del tumor, considerándolo como presente cuando marcó más del 5% de las células neoplásicas (fig. 5).

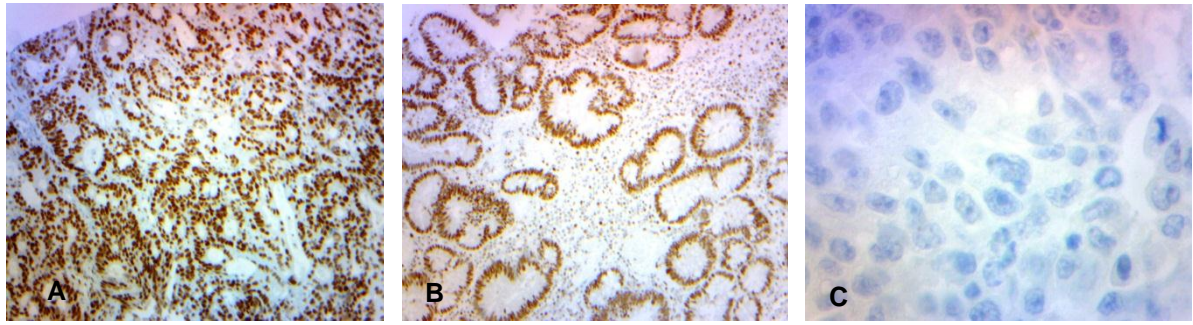


**Figura 5.** A) Bloques de parafina en el archivo de Patología. B) Marcaje del área de tumor viable en bloque de parafina y laminilla. C) Laminilla y bloque de parafina con muestras representativas de 6 casos.

Con base en los resultados de inmunohistoquímica obtenidos se dividieron en 3 grupos, el grupo 1 compuesto por los casos en que todos los marcadores estuvieron presentes o MLH-1 ausente y tres marcadores presentes, el grupo 2 con MLH-1 y PMS-2 ausentes, grupo 3 con MSH-2 y/o MSH-6 o PMS-2 ausentes, esto con base al algoritmo propuesto por Chen y cols.(fig. 6).<sup>(1)</sup>



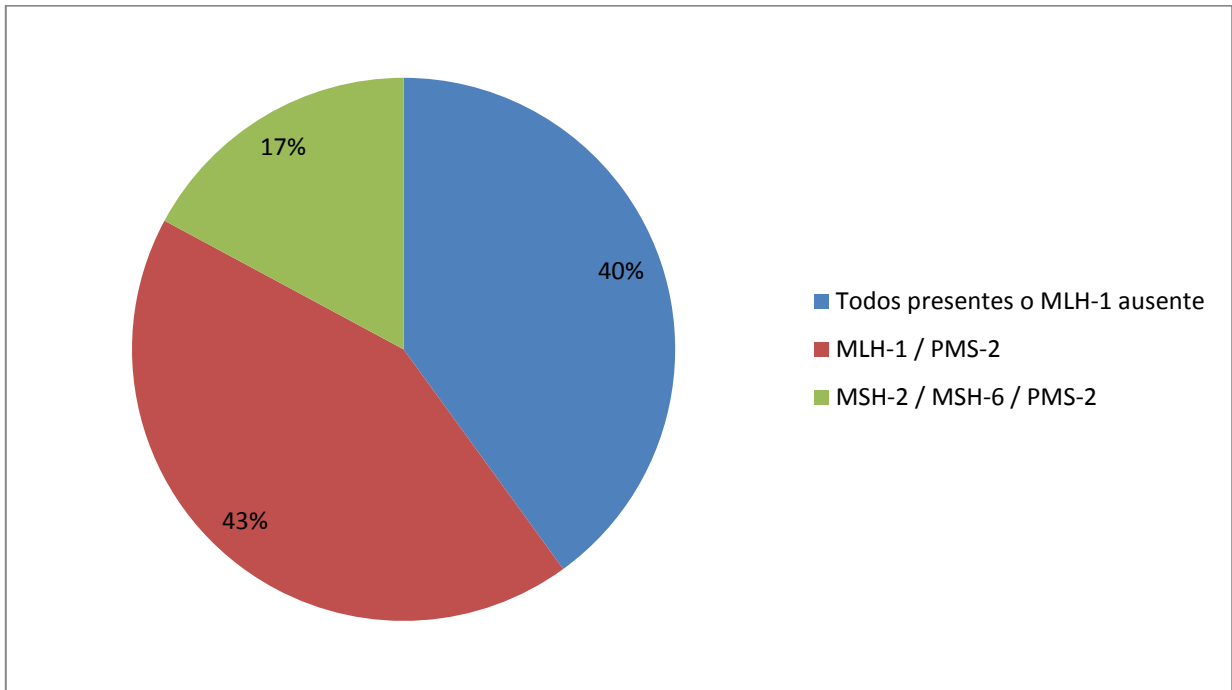
**Figura 6.** Algoritmo para la detección de mutaciones en las proteínas reparadoras de apareamiento del ADN pacientes con reciente diagnóstico de carcinoma colorrectal. Adaptado de Chen W, Molecular genetics of microsatellite-unstable colorectal cancer for pathologists. Diagnostic Pathology. 2017;12(1):1-12



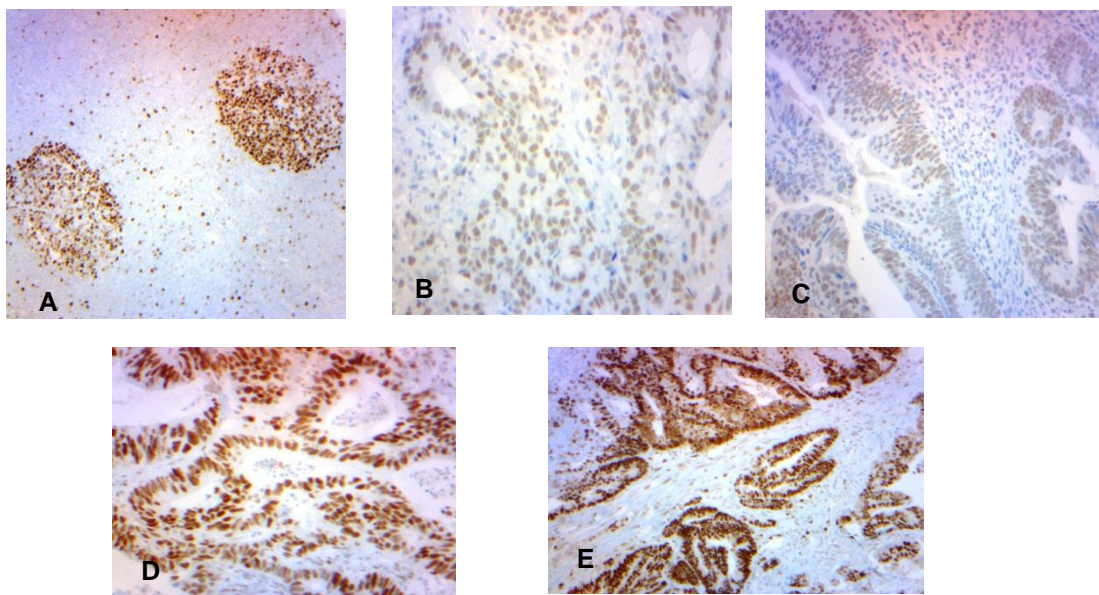
**Figura 7.** A y B) Inmunohistoquímica positiva para los marcadores MSH-2 y MSH-6. C) MSH-2 ausente en células neoplásicas.

La distribución para cada grupo fue de 14 casos (40%) para el grupo 1, el grupo 2 con 15 casos (43%), 6 casos (17%) en el grupo 3 (gráfica 11).

**Gráfica 11.** Porcentaje pacientes para cada grupo de acuerdo a los resultados de inmunohistoquímica obtenidos.



Para el grupo 1 en el que todos los marcadores estuvieron presentes o MLH-1 y tres marcadores positivos corresponden a casos esporádicos y se presentaron 14 casos, de los cuales 7 fueron hombres y 7 mujeres, 7 se encuentran vivos y 7 finados, 5 presentaron metástasis y 9 no, con una sobrevida media de 58.1 meses, una sobrevida menor respecto a los grupos negativos a los marcadores de inmunohistoquímica, este es un comportamiento esperado para los tumores con inestabilidad cromosómica. Solo tres casos contaron con detección de mutación de KRAS, encontrándose mutado en 1 caso (fig.8) (Tabla 2).



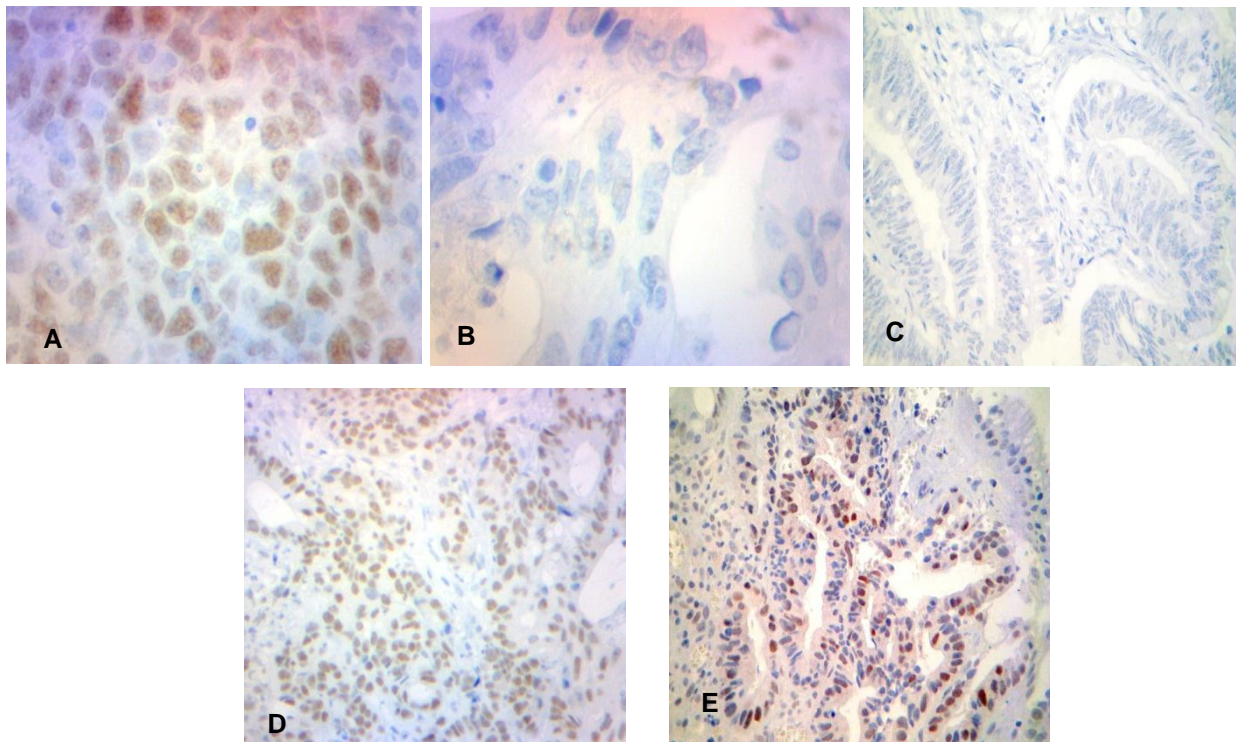
**Figura 8.** A) Tejido testigo (amígdala palatina). B) Positividad a MLH-1. C) Células neoplásicas positivas a PMS-2. D y E) Inmunomarcaje positivo MSH-2 y MSH-6, respectivamente.

**Tabla 2. Datos de los casos del grupo 1.**

<b>Grupo 1 (todos presentes)</b>				
		<b>Frecuencia</b>	<b>Sobrevida en meses</b>	<b>Media meses</b>
<b>Género</b>	Masculino	7		
	Femenino	7		
<b>Topografía</b>	Colon izquierdo	13		
	Colon derecho	1		
<b>Tipo histológico</b>	Tipo intestinal	13		
	Mucinoso	0		
	Mixto	1		
<b>Vivos / Finados</b>	Vivos	7		
	Finados	7		
<b>Meses de supervida</b>	Máximo	-	188 meses	58.1
	Mínimo	-	30 meses	
<b>Metástasis</b>	Si	5		
	No	9		
<b>Estadio clínico</b>	I	0		
	II	6		
	III	6		
	IV	2		
<b>K-RAS</b>	Wt	2		
	Mutado	1		



El grupo 2 corresponde a aquéllos casos que presentaron ausencia MLH-1 y PMS-2 con un total de 15 casos, 10 de género femenino y 5 masculino, en cuanto a su localización 8 casos se presentaron de lado izquierdo y 7 en el derecho, esto difiere con lo reportado ya que los casos que tienen inestabilidad de microstélites son de predominio derecho, sin embargo, con base en el algoritmo (fig. 6) el siguiente paso en este grupo es realizar la determinación de BRAF para búsqueda de casos esporádicos. Los pacientes con vida fueron 8 y 7 finados. Solo se hizo PCR para mutación de KRAS en dos casos, resultando uno mutado y uno WT (tabla 3). En este grupo un caso cuenta con antecedente de cistoadenocarcinoma de ovario.



**Figura 9.** A) Positividad en linfocitos del centro germinal en tejido testigo de amígdala palatina. B) Inmunomarcaje ausente para MLH-1. C) PMS-2 ausente en células neoplásicas. C y D) Casos positivos (sin mutación) a MLH-1 y PMS-2.



**Tabla 3. Datos de los casos del grupo 2.**

<b>Grupo 2 MLH-1 / PMS-2</b>				
		<b>Frecuencia</b>	<b>Sobrevida en meses</b>	<b>Media</b>
<b>Género</b>	Masculino	5		
	Femenino	10		
<b>Topografía</b>	Colon izquierdo	8		
	Colon derecho	7		
<b>Tipo histológico</b>	Tipo intestinal	14		
	Mucinoso	0		
	Mixto	1		
<b>Vivos / Finados</b>	Vivos	8		
	Finados	7		
<b>Meses de sobrevida</b>	Máximo	-	187 meses	70.66
	Mínimo	-	1 mes	
<b>Metástasis</b>	Si	3		
	No	12		
<b>Estadio clínico</b>	I	0		
	II	6		
	III	9		
	IV	0		
<b>Kras</b>	Wt	1		
	Mutado	1		

El grupo 3 lo integran los casos en los que hubo ausencia de inmunomarcaje para MSH-2 y/o MSH-6 o PMS-2, corresponden a 5 casos en total, de los cuales 4 son hombres y uno del sexo femenino, la topografía se distribuye con 3 casos en colon derecho y 2 en colon izquierdo, es importante mencionar que aquéllos casos que cuentan con estas mutaciones tienen una predilección por el lado derecho del colon. Tres pacientes se encuentran vivos y uno presentó metástasis (tabla 4).

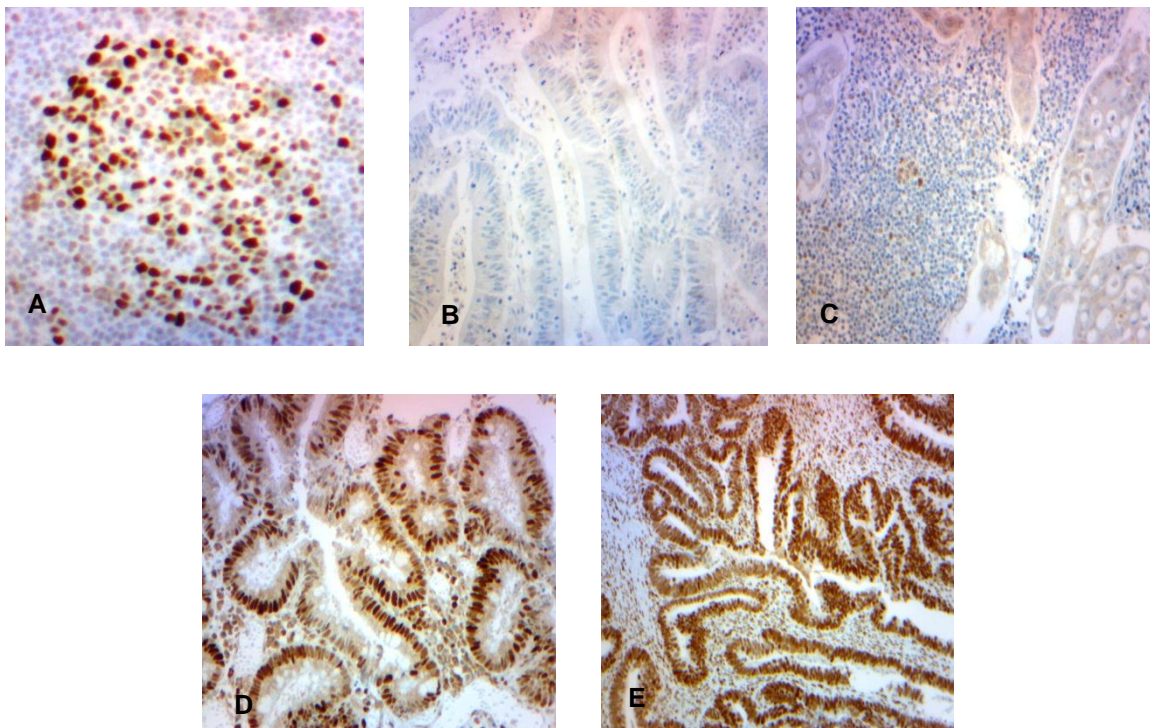


Figura 10. A) Centro germinal de un folículo linfoide de amígdala palatina positivo a MSH-2. B y C) Marcador de MSH-2 y MSH-6 negativos en tejido problema. C y D) MSH-2 y MSH-6 positivos en casos que no presentan la mutación.

**Tabla 4. Datos de los casos del grupo 3.**

<b>Grupo 3 MSH-2/ MSH-6 / PMS-2</b>				
		<b>Frecuencia</b>	<b>Sobrevida en meses</b>	<b>Media</b>
<b>Género</b>	Masculino	4		
	Femenino	2		
<b>Topografía</b>	Colon izquierdo	3		
	Colon derecho	3		
<b>Tipo histológico</b>	Tipo intestinal	5		
	Mucinoso	1		
	Mixto	0		
<b>Vivos / Finados</b>	Vivos	4		
	Finados	2		
<b>Meses de sobrevida</b>	Máximo	-	184 meses	114.5
	Mínimo	-	1 mes	
<b>Metástasis</b>	Si	1		
	No	5		
<b>Estadio clínico</b>	I	0		
	II	5		
	III	1		
	IV	0		
<b>Kras</b>	Wt	1		
	Mutado	1		

**Tabla 5.** Distribución de casos para cada grupo.

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>
<b>Género</b>			
Masculino	7	5	4
Femenino	7	10	2
<b>Topografía</b>			
Colon derecho	1	7	3
Colon izquierdo	13	8	3
<b>Tipo histológico</b>			
Tipo intestinal	13	14	5
Mucinoso	0	0	1
Mixto	1	1	0
<b>Vivos / Finados</b>			
Vivos	7	8	4
Finados	7	7	2
<b>Meses de sobrevida</b>			
Mínimo	30	1	1
Máximo	188	187	184
Media	58.1	70.66	114.5
<b>Metástasis</b>			
Si	5	3	1
No	9	12	5
<b>Estadio clínico</b>			
I	0	0	0
II	6	6	5
III	6	9	1
IV	2	0	0
<b>K-RAS</b>			
WT	2	1	0
Mutado	1	1	1

## **DISCUSIÓN:**

El sistema electrónico de Patología arrojó un total de 358 casos, se aplicó en rubro de la edad de los criterios Amsterdam II para el diagnóstico de Síndrome de Lynch, tomando en cuenta la edad y dando un margen mayor de 5 años para dar la oportunidad a más pacientes de ser tamizados. Se obtuvieron un total de 78 casos y después de haber aplicado los criterios de exclusión y eliminación se trabajó con 35. Para cada caso se realizaron los cuatro marcadores de inmunohistoquímica (MLH-1, PMS-2, MSH-2 y MSH-6), y con la finalidad de optimizar recursos se colocaron de forma ordenada 6 casos por bloque, obteniendo finalmente un total de 24. Se evaluó la tinción considerando como positiva cuando marcó en más del 5% de las células neoplásicas. Se encontró que el 40% se trata de casos esporádicos y en el 60% se deberán hacer pruebas complementarias. Con los resultados obtenidos se distribuyeron en 3 grupos, el primero con aquéllos en que los 4 marcadores estuvieron presentes o MLH-1 estuvo ausente, considerando este grupo como casos esporádicos y no se requiere hacer pruebas complementarias. El grupo 2 integrado por aquéllos en que estuvieron ausentes MLH-1 y PMS-2, constituye el grupo con el mayor número de casos (15), a este grupo impera llevar a cabo la determinación de BRAF por PCR, ya que aquéllos que sean positivos a la mutación de BRAF corresponderán a casos esporádicos y en los que sea negativa se deberá hacer pruebas genéticas complementarias. La mutación de K-RAS se llevó en cabo en dos casos encontrando uno mutado y el otro WT. En este grupo hubo un caso con antecedente de cistoadenocarcinoma de ovario. El grupo 3 representado por los casos con MSH-2 y/o MSH-6 o PMS-2 ausentes con 6 casos se requiere hacer

directamente las pruebas genéticas para las proteínas afectadas. Este grupo es de especial interés ya que son los que tienen mayor probabilidad de estar relacionado con síndrome de Lynch. Estos tumores se distribuyeron de igual forma en colon derecho e izquierdo, y el de tipo intestinal con 5 casos predominó sobre el de tipo mucinoso (1 caso). La media de supervivencia en este grupo fue la mayor con 114.5 meses y un caso contaba con estudio de K-RAS la cual se encontró mutado y un caso se presentó con un tumor sincrónico de carcinoma renal de células claras.

## **CONCLUSIONES:**

1.- Los casos estudiados con carcinoma colorrectal menores de 55 años fueron 35 pacientes, en los que se estudió la mutación de las proteínas reparadoras de errores de apareamiento del ADN por inmunohistoquímica.

2.- El 40% (14) de los pacientes corresponden a casos esporádicos de carcinoma colorrectal con positividad para los cuatro marcadores (MLH-1, PMS-2, MSH-2 y MSH-6).

3.- El 60% (21) de los pacientes requieren de pruebas confirmatorias debido a que por inmunohistoquímica se identificaron 6 casos con mutación de las proteínas reparadoras de apareamiento del ADN MSH-2, MSH-6 y/o PMS-2 a los que se recomienda realizar la prueba genética confirmatoria, y 15 casos con alteración en las proteínas MSH-2 y PMS-2 en los que se sugiere la búsqueda de mutación de BRAF por PCR y separar los BRAF positivos (que corresponden a casos esporádicos) de los BRAF negativos en los que se recomienda una prueba genética confirmatoria.

4.- Se encontró solo una paciente con cistoadenocarcinoma de ovario, neoplasia que se asocia a mutaciones en las proteínas reparadoras de errores de apareamiento del ADN.

5.- Este estudio es el primer paso para la identificación de pacientes con predisposición familiar a carcinoma colorrectal y otras neoplasias, por lo que es necesario que se lleve a cabo los estudios de PCR y genéticos para la confirmación de las mutaciones, esto permitirá en un futuro dar asesoría genética a los familiares y por consiguiente lograr la detección temprana de ciertas neoplasias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Chen W, Swanson B, Frankel W. Molecular genetics of microsatellite-unstable colorectal cancer for pathologists. *Diagnostic Pathology*. 2017;12(1):1-12.
2. Tirado L, Mohar A. Epidemiología del cáncer de colon y recto. *Sociedad Mexicana de Oncología*. 2008;7(4):3-9.
3. Macías Álvarez L. Estudio de mutaciones en los genes reparadores en pacientes con síndrome de Lynch [doctorado]. Universidad de Salamanca; 2011.
4. Erten M, Fernandez L, Ng H. Universal Versus Targeted Screening for Lynch Syndrome: Comparing Ascertainment and Costs Based on Clinical Experience. *Digestive Diseases and Sciences*. 2016;61(10):2887-2895.
5. Watkins J, Yang E, Muto M. Universal Screening for Mismatch-Repair Deficiency in Endometrial Cancers to Identify Patients With Lynch Syndrome and Lynch-like Syndrome. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2017;36(2):115-127.
6. Payá Romá A, Alenda González C, Jover Martínez R. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Revista Española de Patología*. 2006;39(4):201-208.
7. Wielandt A, Villarroel C, Hurtado C. Caracterización de pacientes con cáncer colorrectal esporádico basado en la nueva subclasificación molecular de consenso. *Revista médica de Chile*. 2017;145(4):419-430.
8. Duncan V, Harada S, Stevens T. Primary Colon Adenosquamous Carcinoma in a Patient With Lynch Syndrome. *International Journal of Surgical Pathology*. 2016;24(7):653-655.



9. Chen Y, Kao S, Chung R. Cost-Effectiveness Analysis of Different Genetic Testing Strategies for Lynch Syndrome in Taiwan. *PLOS ONE*. 2016;11(8):e0160599.
10. Takehara Y, Nagasaka T, Nyuya A. Accuracy of four mononucleotide-repeat markers for the identification of DNA mismatch-repair deficiency in solid tumors. *Journal of Translational Medicine*. 2018;16(1):5.
11. Raskin L, Palaski N, Greenson J. Distinct molecular features of colorectal cancer in Ghana. *Cancer Epidemiology*. 2013;37(5):556-561.
12. Hashmi A, Ali R, Hussain Z. Mismatch repair deficiency screening in colorectal carcinoma by a four-antibody immunohistochemical panel in Pakistani population and its correlation with histopathological parameters. *World Journal of Surgical Oncology*. 2017;15(1):116.
13. Ricker C, Hanna D, Peng C. DNA mismatch repair deficiency and hereditary syndromes in Latino patients with colorectal cancer. *Cancer*. 2017;123(19):3732-3743.
14. Hatch S. Microsatellite Instability Testing in Colorectal Carcinoma: Choice of Markers Affects Sensitivity of Detection of Mismatch Repair-Deficient Tumors. *Clinical Cancer Research*. 2005;11(6):2180-2187.
15. Stoffel E, Mangu P, Limburg P. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement of the Familial Risk–Colorectal Cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *Journal of Oncology Practice*. 2015;11(3):e437-e441.

16. Syngal S, Brand R, Church J. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *The American Journal of Gastroenterology*. 2015;110(2):223-262.
17. Nowak J, Hornick J. Molecular Evaluation of Colorectal Adenocarcinoma. *Surgical Pathology Clinics*. 2016;9(3):427-439.
18. Kronborg O. Screening for colorectal cancer in the average-risk population. *Seminars in Colon [amp ] Rectal Surgery*. 2002;13(1):16-30.
19. Syngal S, Brand R, Church J. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *The American Journal of Gastroenterology*. 2015;110(2):223-262.
20. Kast K, Dobberschütz C, Sadowski C. Prevalence of Lynch syndrome in unselected patients with endometrial or ovarian cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2016;294(6):1299-1303.
21. Lorente-Lavirgen, A. and Morillo-Andújar, M. Microsatellite and Genetic Instability in Patients With Muir-Torre Syndrome. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*. 2013;104(7):643-644.
22. Kronborg, O. Screening for colorectal cancer in the average-risk population. *Seminars in Colon [amp ] Rectal Surgery*. 2002;13(1):16-30.