



Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIONES MÉDICAS
ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA GENERAL
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

**INESTABILIDAD MICROSATELITAL EN CÁNCER COLORRECTAL:
PREVALENCIA DE 5 AÑOS EN EL HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

Dr. Pablo Armando Ávila Pontón

TUTOR DE TESIS

Dr. Angel Fernando Rodriguez Villanueva
Servicio de Cirugía de Colon y Recto, Hospital Español de México

Ciudad de México, Julio del 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis papás Carmen y Armando, por darme los fundamentos para ser quién soy.

A mi hermana Anaís, el mejor ejemplo de responsabilidad.

A mis maestros Fernando Rodríguez y Aurelio Carrera, por su paciencia, enseñanza y formación.

A mis amigos Michelle, Catalina, Mariana, Armando, Rodrigo, Alejandro y Mabel por compartir estos 4 años conmigo.

ÍNDICE

Antecedentes científicos (marco teórico).....	pg. 4-15
Justificación	pg. 16
Objetivos	pg. 16
a. General	
b. Específicos	
Hipótesis de trabajo	pg. 16
Metodología.....	pg. 17-23
a. Tipo de estudio	
b. Universo de trabajo	
c. Obtención de la muestra	
d. Selección y/o asignación de participantes	
e. Criterios de selección	
f. Variables	
g. Escalas de medición	
h. Técnicas y proceso de recolección de datos	
i. Instrumentos de medición	
j. Análisis estadístico	
k. Consideraciones éticas	
l. Recursos humanos y materiales	
m. Recursos financieros	
n. Cronograma	
Resultados y Discusión... ..	pg. 24-35
Conclusiones.....	pg. 36-38
Bibliografía.....	pg. 39-42

1. Antecedentes Científicos (marco teórico):

CÁNCER COLORRECTAL E INESTABILIDAD MICROSATELITAL

El cáncer de colon es el tercer tipo de cáncer más común a nivel mundial y la cuarta causa de muerte relacionada con el cáncer. Aproximadamente 70% de los carcinomas colorrectales (CCR) son esporádicos, 25% familiares y el 5% hereditarios, siendo el Síndrome de Lynch la principal causa.^[1]

Los microsatélites son secuencias repetitivas presentes en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y constituidos por unidades de repetición en tándem. Se considera que hay alrededor de medio millón de microsatélites distribuidos a lo largo del genoma. Estas regiones donde se encuentran los microsatélites son difíciles de replicar y las enzimas encargadas para la síntesis del ADN pueden resbalar y originar pequeños bucles, a causa de inserciones o deleciones de algunos nucleótidos, en la nueva cadena sintetizada. En condiciones normales, las células poseen el sistema de reparación de apareamientos erróneos o mismatch repair (MMR) el cual es capaz de reconocer y reparar estos errores y mantener la integridad del genoma. ^[1,8]

El cáncer aparece como resultado de la acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas que permite el crecimiento neoplásico de las células. Sin embargo, la tasa de mutación presente en las células no puede explicar la cantidad de alteraciones genéticas que se encuentran en la mayoría de los cánceres humanos. Se propone que la falla en el sistema de control de fidelidad de replicación del ADN podría dar lugar a una inestabilidad genómica intrínseca a la célula que favorece el aumento de hasta entre 100 a 1000 veces más, el acúmulo de estas mutaciones e inducir el desarrollo tumoral. ^[2] La inestabilidad genómica más estudiada es la inestabilidad microsatelital (IMS) descrita en pacientes con cáncer de colon esporádico y en pacientes con cáncer colorrectal hereditario no polipósico (CCHNP). Esta inestabilidad resulta en un fenotipo mutador y es consecuencia de defectos como mutaciones hereditarias en línea germinal o

silenciamiento transcripcional por metilación en alguno de los genes implicados en el sistema MMR. [3]

1.1 INESTABILIDAD MICROSATELITAL EN LA CLÍNICA.

-Enfermedades hereditarias

Cáncer colorrectal hereditario no polipósico o Síndrome de Lynch

Es un síndrome autosómico dominante que representa, aproximadamente el 2-3% de los CCR. El 50-90% de los individuos con CCHNP presenta tumores con una elevada IMS. [4] Estos pacientes presentan una mutación en línea germinal de alguno de los genes del MMR. Alrededor de un 78% desarrollará cáncer de colon o recto, a una edad media de aproximadamente 42 años y también presentan riesgo de desarrollar cáncer en otros órganos, como el endometrio, los ovarios, el estómago, el intestino delgado y el sistema biliar. [5, 24]

En un 60-80% de los tumores primarios, se originan en el lado derecho del colon, suelen ser poco diferenciados y presentar un componente mucinoso con células en anillo de sello.

Síndrome de Muir-Torre

Es una enfermedad autosómica dominante con penetrancia variable que desarrolla tumores de glándulas sebáceas junto con otros cánceres, como cáncer colorrectal. Los tumores que suelen presentar IMS suelen también cumplir los criterios de Amsterdam. Se han encontrado mutaciones en línea germinal de hMSH2 y hMLH1 en familias con este síndrome. [1,9]

Síndrome de Turcot

Es una enfermedad hereditaria que cursa con el desarrollo de tumores colorectales y tumores celulares, en 2 subgrupos diferentes. El primer grupo presenta mutaciones germinales del gen APC, muestra un fenotipo de poliposis adenomatosa familiar y desarrolla meduloblastomas. El segundo grupo posee

mutaciones germinales en genes del sistema MMR, muestra un fenotipo de CCHNP y desarrolla gliomas. [1,9]

1.2 DIAGNÓSTICO DE IMS

El diagnóstico temprano del CCR tiene como objetivo disminuir la morbilidad y mortalidad, mediante el cribado, detección y elminación posterior de los tumores en estadios iniciales. Las pruebas de cribado son fundamentales en los grupos de alto riesgo para el desarrollo de esta neoplasia. Se ha establecido una serie de criterios que interna implanar unas pautas para poder estandarizar el diagnóstico y el seguimiento de individuos con CCHNP. En 1990, se consensuaron los criterios denominados de Amsterdam. Estos permiten determinar en función del historial familiar, qué individuos presentan mayor riesgo de tener un cáncer de colon tipo CCHNP y por lo tanto, se recomienda realizar estudios de complemento diagnóstico. En 1999 se realizo una revision de estos criterios, Amsterdam II, los cuales incluyen los cánceres extracolónicos comunes en pacientes con CCHNP. [1,8]

CRITERIOS DE AMSTERDAM I [11]
1. Tres o más familiares con cáncer colorrectal verificado histológicamente: uno de los familiares ha de ser familiar en primer grado de los otros dos. Debe excluirse la poliposis adenomatosa familiar
2.El cáncer colorrectal ha de involucrar al menos a dos generaciones
3.Uno o más casos de cáncer colorrectal diagnosticados antes de los 50 años de edad

CRITERIOS DE AMSTERDAM II ^[11]
1. Tres o más familiares con cáncer asociado al CCHNP (cáncer colorectal, cáncer de endometrio, gástrico, de intestino delgado, de vesícula biliar, de ovario, de útero, de pelvis renal o transicional del úreter) verificado histológicamente: uno de los familiares ha de ser familiar en primer grado de los otros dos. Debe excluirse la poliposis adenomatosa familiar
2.El cáncer colorectal ha de involucrar al menos a dos generaciones
3.Uno o más casos de cáncer colorectal diagnosticados antes de los 50 años de edad

Ya que los criterios de Amsterdam II no son muy sensibles, se establecieron unos criterios menos restrictivos que permiten identificar una mayor proporción de pacientes con Síndrome de Lynch. Estos criterios, acordados en Bethesda, intentan identificar a los pacientes con elevada probabilidad de CCHNP, para quienes estaría indicado determinar la presencia de IMS en el seno del tumor. ^[6]

Las guías revisadas de Bethesda describen los criterios individuales de selección de pacientes que se recomienda un análisis de IMS y/o la expresión de MMR del ADN en el tejido tumoral de la siguiente manera: ^[11]

1. El paciente es diagnosticado con cancer colorrectal antes de los 50 años.
2. El paciente tiene cancer colorectal u otro tumor relacionado con CCHNP (gástrico, intestino delgado, endometrio, ovario, urotelial, renal, tracto biliar, páncreas) sincrónico o metacrónico, sin importar la edad.
3. El cancer colorectal muestra morfología asociada con IMS (infiltración de linfocitos, reacción linfocítica Crohn like, diferenciacion de células mucinosas o signet-ring, carcinomas pobremente diferenciados con patron de crecimiento medular) y es diagnósticoado antes de la edad de 60 años.
4. Cáncer colorrectal con 1 o más familiares de primer grado con tumores relacionados con CCHNP. Uno de los cánceres debe haber sido diagnosticado antes de los 50 años de edad.

5. Cáncer colorrectal con dos o mas familiares de primer o segundo grado con tumores relacionados con HNPCC, sin importar la edad.

Los patólogos pueden contribuir significativamente para la selección de los casos para realizar análisis de IMS al identificar 1 de los tres primeros lineamientos. El análisis en casos que demuestran características histopatológicas sugerentes en pacientes entre los 50-60 años de edad identifican un gran número de IMS-A, de hasta un 57%. [7]

1.3 ANÁLISIS DE IMS EN CÁNCER COLORRECTAL Y LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

IMS es un tipo de mutación que ocurre en pequeños segmentos de ADN que consiste de repetición de nucleotidos generalmente de 100-200 pares de bases de longitud. Las secuencias de nucleotidos dentro de los elementos repetitivos incluyen repeticiones de mononucleotidos de adenina (A) o repeticiones de dinucleotidos citosina- adenina (CA). Durante la replicación de ADN, estas secuencias repetitivas pueden aumentar o disminuir en longitud. Estos cambios en longitud se conocen como inestabilidad microsatelital. En células con un sistema de reparación de apareamientos erróneos o mismatch repair (MMR) deficiente como ocurre en pacientes con cancer colorrectal hereditario no poliposico (CCHNP), estas mutaciones no son reparadas y persisten en las células tumorales mutadas. La expansión clonal de células con este tipo de mutación en tumores ocasiona una población celular altamente homogénea permitiendo que la mutación sea fácilmente detectada con el método de PCR en el ADN del tumor. Los marcadores de inestabilidad microsatelital recomendados por la National Cancer Institute (NCI) consiste en 2 marcadores de repeticiones de mononucleotidos: BAT25 y BAT26; y 3 marcadores de repeticiones de dinucleotidos: D2S123, D5S346 y D17S250. [8]

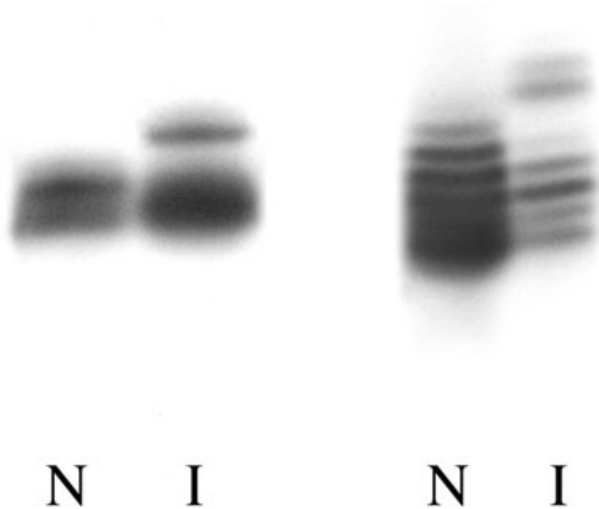


Fig 1. IMS detectada en mucosa colonica en pacientes con colitis ulcerativa. N, normal; I, mucosa colonica inflamada. Los primers usados en los paneles izquierdo y derecho fueron D17S250 y D2S123, respectivamente. [2]

La identificación de IMS en tumores indica una deficiencia severa en el MMR, resultado directo de la pérdida de una de las proteínas de MMR del ADN. Generalmente hay una pérdida de alguna proteína específica en las células tumorales, ya sea por pérdida de la expresión genética o por mutaciones genéticas que tienen como resultado proteínas truncadas. Las proteínas MMR del ADN consisten en hMLH1, hMSH2, hMSH6, hPMS2, hMSH3 y hMLH3. El método más eficiente y actualmente el más usado para determinar cuál de estas proteínas no se expresa en un tumor es la inmunohistoquímica (IHC). La IMS se detecta en el tejido canceroso de casi todos los pacientes con HNPCC. Sin embargo, es importante saber que aproximadamente el 15% de los cánceres colorrectales pueden tener un status positivo para IMS. [10]

Los resultados del análisis de IMS usando el panel propuesto por la NCI de 5 marcadores se reportan como IMS-alta (IMS-A) si se demuestra en al menos 2 de los 5 marcadores o el 40%, IMS-baja (IMS-B) si solo un marcadores es positivo presentando diferentes prevalencia de mutaciones como en K-ras y se considera estabilidad microsatelital (EMS) si no se detecta en ninguno de los 5 marcadores.

[12]

Se han propuesto recientemente nuevos paneles de marcadores microsatelitales, usados por algunos laboratorios. Un pequeño estudio de 11 casos de IMS-A en cáncer de colon, se utilizó el MSI Analysis System (Promega Corp.) el cual incluye marcadores para repeticiones de 5 mononucleótidos y 2 pentanucleótidos, mostrando completa concordancia con el panel de la NCI. Todos los cánceres con IMS –B dada por el panel de NCI resultaron EMS al ser analizados por el Promega MSI Analysis System. [8]

La confirmación diagnóstica de HNPCC requiere de identificación de una mutación germinal por ADN de sangre periférica en uno de los genes de MMR del ADN. En contraste, la hipermetilación somática del promotor de hMLH1 que lleva a la pérdida de expresión, es la principal anomalía que causa IMS en tejidos con tumoraciones esporádicas. [13]

1.4 ANÁLISIS DE IMS (PCR) E INMUNOHISTOQUÍMICA: UNO, EL OTRO O AMBOS?

Para interpretar los resultados de inmunohistoquímica es importante entender la bioquímica del sistema de reparación de apareamientos erróneos del ADN (MMR). Los genes MMR del ADN codifican las proteínas MutS hMSH2, hMSH3 y hMSH6 y las proteínas MutL hMLH1, hPMS1, hPMS2 y hMLH3. [14, 34, 35] La estabilidad del MMR del ADN requiere de la formación de heterodímeros específicos de MutS y MutL. Estas proteínas se degradan si no pueden formar heterodímeros estables, lo cual ocurre en tejido tumoral de HNPCC, pues una de las proteínas críticas es faltante. La proteína hMSH2 interactúa ya sea con hMSH6, formando un complejo MutS-alfa o con hMSH3 formando un complejo MutS beta. Los heterodímeros de MutL incluyen el MutL- alfa (hMLH1 y hPMS2) el cual parece ser el responsable de la mayoría de la reparación, y el MutL- beta (hMLH1 y hPMS1) el cual parece no tener significancia en la reparación de ADN. [14,15,23,30]

De esta forma por ejemplo, si la deficiencia primaria del gen MMR del ADN ocurriera en hMSH2, la inmunohistoquímica revelaría pérdida de la expresión de hMSH6 y hMSH3 por que estos genes se degradan en la ausencia de hMSH2. En contraste si la deficiencia primaria fuera en hMSH6, la expresión de hMSH2 se conserva por que este puede formar heterodimeros estables con hMSH3. [25,26,27]

Esto nos da con la inmunohistoquímica para hMLH1, hMSH2 y hMSH6 una sensibilidad de 92% y una especificidad del 100% para detectar tumores con un MMR deficiente. [32] Estos hallazgos apoyan la noción de que los inmunomarcadores para IMS y proteínas de MMR deben realizarse para identificar efectivamente pacientes que puedan tener HNPCC y que pueden tener indicación para realizarse un análisis germinal. [28, 33]

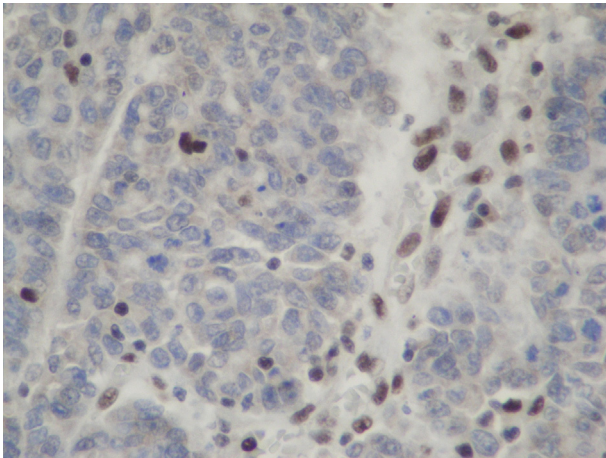


Fig 2. MSH2 400x. Ausencia de expresión de la proteína en un adenocarcinoma mucinoso. Control interno positivo en células estromales y linfocitos. [5]

La mayoría de los cánceres colorrectales con pérdida de proteínas MMR muestran IMS aunque existen excepciones. De la misma forma, casi todos los tumores IMS-A muestran pérdida de proteínas principales de reparación del ADN, también con excepciones. Una limitante de la inmunohistoquímica incluye tumores que ocasionalmente muestran resultados no satisfactorios, lo cual dificulta el análisis de los mismos con posibles falsos positivos o falsos negativos. [17,18,28]

El consenso al cual se ha llegado en cuanto a analizar un cáncer de colon en la búsqueda de HNPCC es que se debe emplear una combinación de análisis de IMS e inmunohistoquímica como primera línea, esto nos da un resultado más acertado. [19, 29]

1.5 hMSH6 EN CÁNCER COLORRECTAL ESPORADICO Y HNPCC

Mutaciones germinales de hMSH6 se asocian con una minoría de los casos de HNPCC mientras que las mutaciones somáticas del mismo se pueden presentar en cáncer esporádico IMS-A ya que la región codificante del gen hMSH6 contiene secuencias blanco para mutaciones de tipo IMS, lo que causa una mutagenesis durante la progresión del cáncer por deficiencia primaria de proteínas MMR.[38, 40] La mayoría de los tumores con mutación hMSH6 con HNPCC son EMS o IMS-B, sin embargo, este se debe analizar y considerar si las alteraciones en hMLH1 y hMSH2 se excluyeron del diagnóstico, aún cuando el análisis de IMS y la inmunohistoquímica sean negativas pero existe alta sospecha. [37,39]

1.6 ANALISIS DE IMS Y EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS MMR EN PÓLIPOS COLÓNICOS

La IMS puede ser una característica molecular de adenomas colónicos y pólipos hiperplásicos en casos esporádicos, así como en pacientes con CCHNP. Generalmente la IMS es raramente detectable en pólipos que no tienen una displasia de alto grado. [31, 41, 46]

Algunos adenomas en CCHNP menores a 0.7cm tienen una pérdida detectable de proteínas MMR aun en la ausencia de displasia. La IMS fue demostrada en un 80% de los adenomas en CCHNP, incluyendo MSI-A en el 53% y MSI-B en 27%. Estos datos indican que el defecto en el MMR del ADN se encuentra desde las etapas tempranas para el desarrollo de adenomas en CCHNP por lo que se recomienda la inmunohistoquímica y análisis de IMS en adenomas grandes con

alto grado de displasia en pacientes jóvenes (menores a 50 años de edad) para identificar a aquellos con sospecha de CCHNP. [42, 45, 48]

En el cáncer colorrectal esporádico y en los pólipos, el mecanismo más frecuente de la IMS es el silenciamiento del gen hMLH1 por la metilación de su promotor, esto asociado con la ausencia parcial o completa de la expresión de hMLH1 que puede ser demostrada con la inmunohistoquímica. En estudios como el de Samowitz et Al. Se han reportado un bajo porcentaje de IMS en adenomas colonicos esporádicos, siendo el 80% EMS y el 18% IMS-B. Aunque no existe un consenso en cuanto a que pólipos deberían estudiarse se debe tener en cuenta que aquellos con más probabilidad de presentar una deficiencia de MMR son los adenomas largos con un alto grado de displasia y los adenomas serratos. [45, 47]

1.7 INTERPRETACIÓN E INTEGRACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE IMS EN CÁNCER DE COLON EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

La principal indicación para realizar el análisis de IMS de cáncer de colon es la evaluación de un paciente por HNPCC. Dado que a un paciente con IMS-A seguramente se le recomendará realizarse un análisis germinal es importante contar con asesoría genética. La prueba de IMS se lleva a cabo en tejido tumoral e identifica mutaciones somaticas mientras que las pruebas germinales buscan mutaciones heredadas que afectan a cierto gen que esta presente en todas las células corporales. Por eso mismo estas pruebas se llevan a cabo en células sanguíneas. [43]La identificación de la mutación germinal en los genes de MMR del ADN confirman el diagnóstico de HNPCC y puede usarse también para el escurtinio de familiares que pueden ser portadores de la mutación. [44]

Los genes de MMR del ADN más comunmente afectados por mutaciones germinales en HNPCC son el hMLH1 y el hMSH2 (40% de los casos cada uno) , seguidos por el hMSH6 con el 10% y hPMS2 con el 5%. Existe una alta correlación

entre el estatus de IMS-A y la pérdida de expresión de 1 de las 4 proteínas MMR del ADN. [35]

Por lo tanto, tras determinar que un tumor es IMS-A se prefiere la inmunohistoquímica para encontrar la proteína específica que no se expresa en el tejido tumoral y así el gen que codifica esa proteína puede ser evaluado específicamente por el análisis germinal. [36]

La significancia de la IMS-B no está bien establecida. Sin embargo, se sabe que algunos tumores de pacientes con HNPCC, con mutaciones de hMSH6, pueden mostrar pérdida de la proteína de MMR del ADN mientras que el tumor únicamente muestra IMS-B o hasta EMS. En la mayoría de los casos que el tumor muestra IMS-B, no se encuentra una anomalía en los genes principales MMR del ADN. [49]

El status de IMS-A está presente también en un porcentaje de adenocarcinomas coloniales esporádicos con características clínicas específicas. Los cánceres colorectales esporádicos IMS-A se asocian con la pérdida de expresión de hMLH1 causado por la hipermetilación del promotor y no por mutación del gen. [49] Samowitz et al. Reportaron una relación entre IMS en el marcador BAT26 y un mejor pronóstico disminuyendo aproximadamente el 60% la muerte atribuible al cáncer IMS positivo y los EMS. [51]

En cáncer de colon estadio III, la presencia de IMS definida por delección del marcador BAT26, se asocia con un menor número de metastasis a ganglios linfáticos lo cual también es un factor pronóstico que mejora la supervivencia comparada con tumores EMS. Estos pacientes se reportan con un incremento de supervivencia a 5 años 72% vs 35% y un incremento en el periodo libre de enfermedad de 66% vs 39%. [8, 16, 50]

Varios estudios muestran que la deficiencia de MMR en los tumores con IMS también puede tener implicación para la terapia tumoral ya que los tumores con IMS pueden mostrar una mayor resistencia a agentes quimioterapéuticos como

cisplatino, doxorubicina y 5-fluorouracilo. En un estudio por Parc et. Al se evaluaron pacientes quienes presentaron una resección curativa T3N0M0 de cáncer de colon y no recibieron terapia adyuvante. Los pacientes con IMS, definidos como aquellos sin expresión de hMLH1 o hMSH2 tuvieron una mejor supervivencia y un mayor periodo libre de enfermedad que aquellos con EMS, por lo que proponen que el pronóstico de pacientes con MSI-H T3N0M0 es bueno y no se debería recomendar el uso de quimioterapéuticos. [52]

Diferentes estudios presentan resultados contradictorios mostrando un peor desenlace con quimioterapia adyuvante incluso sugiriendo que se adquiere resistencia a los fármacos citotóxicos empleados sin obtener ningún beneficio de estos.[50] Son necesarios estudios que permitan aclarar el impacto de la quimioterapia en individuos con carcinomas colorectales con IMS-A para seleccionar aproximaciones terapéuticas apropiadas para estos pacientes. [16, 17, 18]

Otros estudios de supervivencia parecen indicar que los individuos con CCHNP tienen mejor pronóstico que los individuos con enfermedades esporádicas pero también presentan un mayor riesgo de hasta 5 veces más de tener tumores metacrónicos. Se asocia también a una reducida probabilidad de metástasis en los nodulos linfáticos, aunque no ha sido confirmado y se necesitan de más estudios. [19, 20, 21, 22]

2. Planteamiento del problema:

3. Justificación: El cáncer colorrectal es el tercer cáncer más común en hombres y mujeres al igual que la tercer causa de muerte relacionada a cáncer por lo que el estudio sobre la presencia de inestabilidad microsatelital nos permitirá ofrecer un tratamiento más adecuado, así como identificar casos en los que se debe realizar escurtinio en la familia del paciente de manera dirigida o más temprano en la vida.

4. Objetivos:

-General: Detectar la incidencia y prevalencia de pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal que presentan inestabilidad microsatelital, lo que traduce mutación en los genes de reparación de errores de emparejamiento.

-Específicos:

- Conocer las características clínicas de pacientes diagnosticados con cáncer colorrectal como edad, sexo, localización, grado histológico y estadio clínico al momento del diagnóstico.
- Identificar y describir las indicaciones para estudiar la presencia de inestabilidad microsatelital en pacientes con cáncer de colon y recto, en aquellos que se sospeche síndrome de Lynch y en quienes se recomienda escurtinio por alto riesgo.
- Evaluar la importancia de identificar la presencia de inestabilidad microsatelital para ofrecer un adecuado tratamiento, así como probable necesidad de estudios genéticos familiares.

5. Hipótesis del trabajo: No es necesario el planteamiento de una hipótesis por el tipo de estudio que se realiza.

6. Metodología:

a) Tipo de estudio:

- Investigación epidemiológica: parte de la investigación socio-médica; analiza el proceso de salud-enfermedad en comunidades, poblaciones o regiones. Orientado a identificar fenómenos de grupo respecto a la incidencia, prevalencia, factores de riesgo, asociaciones causales; control, erradicación de enfermedades, impacto de intervenciones y vigilancia epidemiológica entre otros.

- De acuerdo con la intervención del investigador:
 - Observacional o no experimental: se limita a observar y analizar el fenómeno de interés en cuanto a la forma, cantidad y oportunidad en que los individuos sujetos a estudio se relacionan o exponen a ciertos factores. No interviene en la decisión de los sujetos respecto de su exposición a factores determinados.

- De acuerdo con la relación entre las variables estudiadas:
 - Descriptivo: se estudia una sola población, es conocido el problema y solo se quiere medir.

- De acuerdo con el número de mediciones del fenómeno estudiado:
 - Longitudinal: se mide la misma variable o variables de estudio en dos o más ocasiones. Implica un seguimiento del fenómeno para estudiar la evolución en el tiempo y se da por hecho la comparación de los valores entre cada medición.

- De acuerdo con el momento en que se capta la información del estudio:

- Retrospectivo: la información se generó antes de comenzar el estudio y con fines ajenos al mismo.

b) Universo de trabajo: el universo es la población con la que se trabaja (comunidad, grupo de edad, archivo clínico, etc.), de la cual se puede seleccionar la muestra y está conformado por elementos denominados unidades de muestreo. Describirán las características de la población y para la cual serán válidos los resultados.

Hay que precisar los límites de tiempo, lugar y persona de donde se tomarán las unidades de observación: se revisarán los expedientes desde el 2014-2018 (tiempo) de los pacientes con cáncer colorrectal que fueron diagnosticados por histopatología (persona) en el Hospital Español de México (lugar). El tipo de universo es finito, ya que está constituido por un número limitado de unidades.

c) Obtención de la muestra: la muestra puede tener las mismas características que el universo y, en esta circunstancia ser representativa del universo o de la población. En este protocolo de investigación y en la mayoría de los estudios clínicos una adecuada definición del universo de estudio (que está claramente delimitado), permite realizar un censo de la población, (lo que significa que quede incluida la totalidad de los sujetos que componen el universo). Es el caso en éste protocolo y por lo tanto no hubo obtención de muestra.

d) Selección y/o asignación de participantes o unidades de observación: no aplica para éste protocolo de investigación.

e) Criterios de selección (inclusión, exclusión y eliminación): la definición de unidades de observación. Especificación del elemento típico del que se obtendrá la información sobre cada una de las variables que se están estudiando y sus características relevantes, es decir; los sujetos que participarán en el estudio.

- Criterios de inclusión: definición de las características biológicas, psicológicas y sociales que deben tener los sujetos, para ser incluidos en el

estudio y que permitan elaborar una definición correcta y precisa de la entidad nosológica, fenómeno o proceso, motivo de la investigación.

- Pacientes del Hospital Español de México
 - Pacientes tratados del año 2014-2018
 - Pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer colorrectal
 - Pacientes que cuenten con expediente clínico completo:
 - Reporte de patología
 - Grado histológico
 - Historia clínica con síntomas principales y datos completos del paciente
- Criterios de exclusión: definición de las características cuya existencia obligue a no incluir un sujeto como elemento de estudio antes de que se inicie, ya que podrían modificar, alterar o sesgar los resultados de la investigación, son características que los hacen inelegibles.
- Se excluyó a los pacientes con patología positiva para adenoma o displasia sin llegar a presentar cáncer colorrectal. De un total de 157 pacientes se excluyó a 20 pacientes con reporte histopatológico externo al hospital Español de México.
- Criterios de eliminación: características que presenten los sujetos durante el desarrollo del estudio y que obligue a prescindir de ellos, su mayor utilidad está en los estudios longitudinales, por ejemplo: surgimiento de alguna complicación, deserción voluntaria, expedientes incompletos.
- Se eliminó a los pacientes que no contaban con expediente clínico completo. Se encontraron 157 pacientes con cáncer colorrectal, de los cuales 137 se encontraban completos, se eliminaron 20 pacientes.

f) Variables (independiente, dependiente y de control):

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
GÉNERO	Condición orgánica que diferencia a los humanos en masculino y femenino.	1.Masculino 2.Femenino	Cualitativa Nominal Dicotómica
EDAD	Años cumplidos que tiene el paciente desde su nacimiento.	Edad en años	Cuantitativa Discreta
REPORTE DE PATOLOGÍA	Documento que contiene el diagnóstico que se determinó mediante el análisis de células y tejidos en el microscopio, contiene información sobre el tamaño, forma, apariencia de la muestra, y estado de la enfermedad o normalidad.	1.Adenocarcinoma 2.Linfoma 3.Carcinoide	Cualitativa Nominal

DIFERENCIACIÓN TUMORAL	Característica tumoral reportada por patología que describe el grado de diferenciación del cáncer colorectal, aunado a características tumorales que influyen en el tratamiento y pronóstico.	1. Poco diferenciado 2. Moderadamente diferenciado 3. Bien diferenciado -Invasor -Ulcerado -Mucinoso	Cualitativa Nominal
INMUNOHISTOQUÍMICA	Documento que contiene el diagnóstico que se determinó mediante el análisis de células y tejidos en el microscopio con marcadores inmunohistoquímicos específicos para genes de reparación del ADN.	1. Estabilidad microsatelital 2. Inestabilidad microsatelital -MLH-1 -MSH-2 -MSH-6 -PMS-2	Cualitativa Nominal
PCR PARA KRAS/BRAF	Documento que contiene el diagnóstico que se determinó mediante marcador específico de PCR para mutación de gen KRAS o BRAF.	1. KRAS mutado 2. KRAS no mutado 3. BRAF mutado 4. BRAF no mutado	Cualitativa Nominal
LOCALIZACIÓN TUMORAL	Localización anatómica del cáncer colorectal al momento del diagnóstico.	1. Ciego 2. Ascendente 3. Transverso 4. Descendente 5. Sigmoides 6. Rectosigmoideo 7. Recto 8. Sincrónico	Cualitativa Nominal
CRITERIOS DE AMSTERDAM	Presencia de antecedentes familiares que cubren los criterios de Amsterdam para sospecha de HNPCC.	1. Cuenta con criterios 2. No cuenta con criterios	Cualitativa Nominal
SÍNTOMA PRINCIPAL	Alteración del organismo que pone de manifiesto la existencia de una enfermedad y sirve para determinar su naturaleza.	1. Sangrado 2. Oclusión 3. Anemia 4. Dolor abdominal 5. Hallazgo incidental 6. Cambios en hábito intestinal 7. Pujo y tenesmo rectal 8. Pérdida inexplicable de peso	Cualitativa Nominal

g) Escalas de medición y unidades de medida: mencionadas en el cuadro de variables.

h) Técnicas y procedimientos de recolección de datos: la técnica de recolección de datos socio-demográficos se llevó a cabo revisando los expedientes en el archivo clínico del Hospital Español de México. No se necesitaron recursos materiales (material y/o equipo especial), no se utilizó

material biológico, no se utilizaron técnicas de laboratorio, no se hizo uso de animales y no es un estudio en humanos.

i) Instrumentos de medición: no se utilizó ningún método de medición objetivo. Los datos recolectados son basados en resultados de histopatología y pruebas específicas.

j) Análisis estadístico: se realizó estadística descriptiva con obtención de frecuencias para variables cualitativas y media y desviación standard para variables cuantitativas.

k) Consideraciones éticas del estudio: éste protocolo de estudio no compromete la salud y el bienestar del sujeto investigado bajo ninguna situación por lo que no requiere carta de consentimiento informado y conserva la confidencialidad. Fue aprobado por el comité de ética del Hospital Español de México.

- Investigación sin riesgo: emplea técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y en el que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

l) Recursos humanos y materiales:

- Recursos humanos: personal que participará en el desarrollo del trabajo, incluyendo categoría, descripción de la actividad de cada uno, horario o tiempo destinado a la investigación y una secuencia descriptiva de las actividades que realizarán.
 - Dr. Ángel Fernando Rodríguez Villanueva
 - Médico adscrito del servicio de Cirugía de Colon y Recto del Hospital Español de México.
 - Asesor de tesis.
 - Tiempo destinado: 4 horas por semana.
 - Dr. Pablo Armando Ávila Pontón
 - Residente de 4º año del servicio de Cirugía General del Hospital Español de México.
 - Responsable de la tesis.
 - Tiempo destinado: 20 horas por semana.
 - Dra. Daniela Mabel Notabile
 - Residente de 2º año del servicio de Cirugía General del Hospital Español de México.
 - Responsable de la recolección de datos.
 - Tiempo destinado: 10 horas por semana.

- Dra. Lucia Escobedo Berumen
 - Especialidad en Pediatría Hospital Español de México.
 - Maestra en Ciencias de la Salud.
 - Apoyo en análisis estadístico.
 - Tiempo destinado: 2 horas por semana.

- Recursos materiales: materiales que se utilizarán para el desarrollo de la investigación.
 - Expediente clínico de los pacientes que cuentan con reporte histopatológico con diagnóstico de cáncer colorrectal.

m) Recursos financieros: no se requiere financiamiento para el desarrollo de este protocolo de investigación por ser retrospectivo, no hay conflictos de interés.

n) Cronograma:

PERIODOS FASES	Tiempo: Especificar días, semanas o meses según sea conveniente, para cada una de las actividades.					
	FEB 2019	MARZO 2019	ABRIL 2019	MAYO 2019	JUNIO 2019	JULIO 2019
1. Fecha de inicio	X					
2. Verificación de laboratorios, gabinetes, quirófanos, bioterios, etc. y equipos necesarios para la investigación	X					
3. Acopio de materiales y reactivos		X				
4. Obtención de la muestra(s) de estudio o sujetos		X				
5. Estandarización de metodologías y técnicas		X				
6. Estudio piloto (cuando sea pertinente)						
7. Realización de las observaciones y/o experimentos			X			
8. Acopio y organización de los datos			X			
9. Análisis de los datos				X		
10. Elaboración y selección del material gráfico (tablas, cuadros, gráficos, fotografías, videos, etc.					X	
11. Interpretación de los resultados					X	
12. Experimentos u observaciones complementarias					X	
13. Elaboración del informe escrito			X			
14. Presentación oral y revisión del trabajo escrito				X		
15. Realización de correcciones					X	
16. Presentación del informe final escrito del trabajo (Tesis en original y 2 copias)						X
17. Remisión del artículo para publicación						
OTROS						

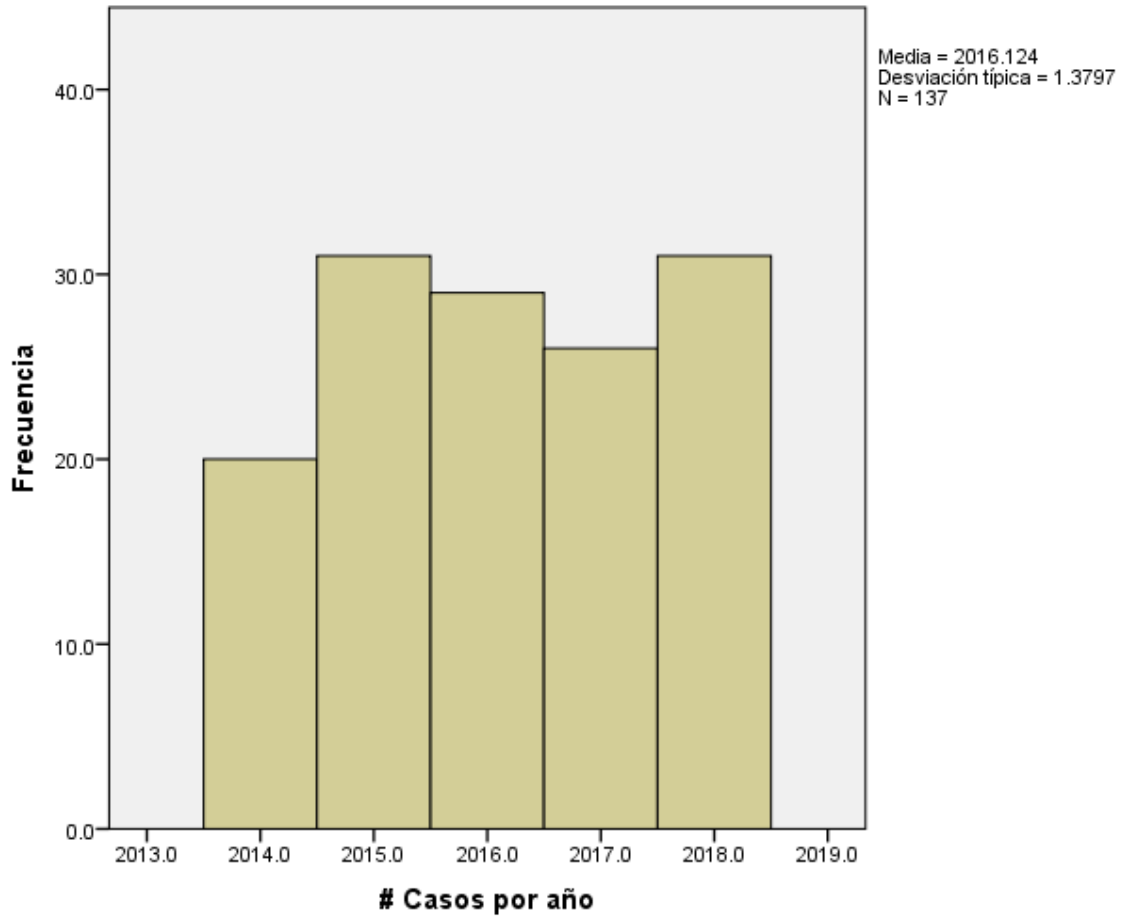
7. Resultados y Discusión

Estadísticos descriptivos.

Tabla 1. Frecuencia por año.

		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	2014.0	20	14.6
	2015.0	31	22.6
	2016.0	29	21.2
	2017.0	26	19.0
	2018.0	31	22.6
	Total	137	100.0

Gráfica 1. Interpretación de la frecuencia en porcentaje, por año.



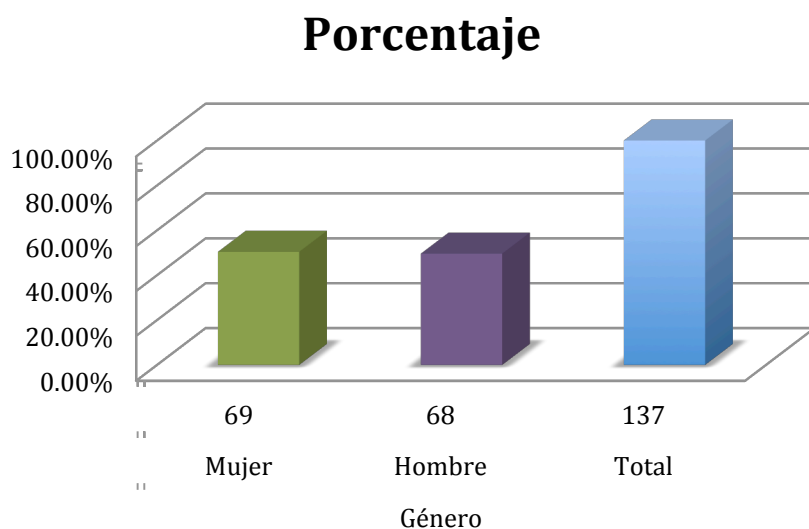
Al realizar este estudio de prevalencia se presenta en esta gráfica el número de casos diagnosticados de carcinoma colorrectal en los años revisados (2014-2018). Observando en general una distribución balanceada en número de casos por año, únicamente observando un 10% menor en el año 2014. Los demás años presentan de 26-31 casos cada uno.

Tabla 2. Frecuencia por género.

	Frecuencia	Porcentaje
Mujer	69	50,4%
Hombre	68	49,6%
Total	137	100%

Gráfica 2. Interpretación de la frecuencia en porcentaje, por género.

□



R= Dentro de la interpretación se muestra la distribución por género en la población (N), de 137 pacientes, 69 fueron mujeres y 68 fueron hombres, representando 50.4 y 49.6% respectivamente.

Estos resultados no causan ninguna sorpresa ya que la incidencia de cancer colorrectal es relativamente igual entre hombres y mujeres. Se estima por la Asociación Americana de Cancer que para el 2019 se habrán diagnosticado 51,690 hombres y 49, 730 mujeres únicamente en los Estados Unidos. [33]

Tabla 3. Valor mínimo y máximo y media de la edad.

EDAD	67.511±14.38 MIN:35 MAX:97
-------------	---

Dentro de la interpretación se muestra la variable de la edad en la población (N), la cual cuenta con un número total de 137 pacientes. Se muestra el rango mínimo y máximo de la variable. La edad promedio fue de 67 años.

La edad es un factor de riesgo bien conocido para el CCR. La línea de tiempo para la progresión desde una lesión premaligna temprana al cancer varía de los 10 a 20 años. La edad media de diagnóstico del CCR es de 68 años. [35]

Tabla 4. Frecuencia y porcentaje de inestabilidad microsateletal. (N:137)

INESTABILIDAD	MICROSATELITAL	
N:137	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	11	8.02%
Negativo	126	91.97%

Gráfica 3. Interpretación del porcentaje de IMS N:137

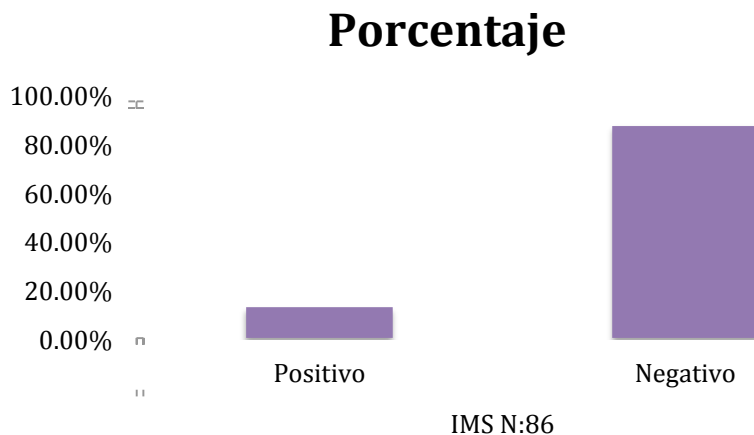
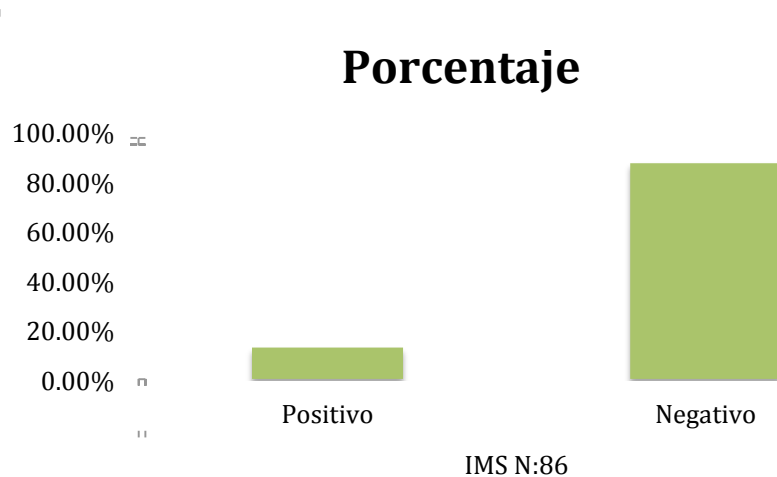


Tabla 5. Frecuencia y porcentaje de inestabilidad microsatelital. (N:86)

INESTABILIDAD	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	11	12.79%
Negativo	75	87.20%

Gráfica 4. Interpretación del porcentaje de IMS N:137



En la tabla y gráfica 4 se muestra la frecuencia y porcentaje de pacientes con inestabilidad microsatelital en la población original de 137 pacientes, mientras que en la tabla y gráfica 5 se muestra únicamente a los pacientes a los que se les realizó inmunohistoquímica en busca de las proteínas de reparación del ADN MLH1, MSH2, MSH 6 y PMS2.

Como lo muestran dichas tablas, si incluimos a todos los pacientes con diagnóstico de CCR el 12.79% (11 pacientes) presentaron IMS, el porcentaje únicamente en los que se realizó inmunohistoquímica aumenta al 12.79%. Ambas cifras continúan dentro del porcentaje publicado en la bibliografía, presentándose en un 5-15% de los casos. [11]

Tabla 6. Frecuencia y porcentaje de las proteínas de reparación de ADN en los casos positivos para IMS.

N= 86	
MLH 1	
POSITIVO	91.9% (78)
NEGATIVO	8.1%(7)
MSH 2	
POSITIVO	96.5% (83)
NEGATIVO	3.5%(3)
MSH 6	
POSITIVO	95.3% (82)
NEGATIVO	4.7% (4)
PMS 2	
POSITIVO	93%(80)
NEGATIVO	7%(6)

En la tabla 6 el valor positivo se refiere a la presencia de la proteína, mientras que el valor negativo demuestra la falta del mismo. Aunque la NCI propone un panel compuesto por 5 marcadores, en el Hospital Español de México únicamente se determinan las cuatro proteínas: MLH1, MSH2, MSH 6 y PMS2. En todos los casos encontrados los pacientes tienen al menos dos marcadores negativos lo que transcribe a una IMS alta (50% de los marcadores). Para poder diferenciar estos casos de CCHNP de los casos esporádicos sería necesario identificar una mutación germinal por ADN de sangre periférica en uno de los genes de MMR del ADN. [14]

En cuanto a frecuencia las mutaciones germinales en CCHNP en los genes de MMR son el MLH1 y el MSH2 en el 40% de los casos, seguidos por el MSH 6 en un 10% y el PMS2 con el 5%. En el caso de nuestro estudio el MLH1 se encontró negativo únicamente en el 8% y el MSH en el 3.5%. [8]

En el 4% de los casos encontrados se localizo mutación de la proteína MSH6, la cual se encuentra en minoría en los casos de CCHNP, pero se ha observado una mayor prevalencia en CCR esporádico. Aunque el CCR esporádico también se asocia con la pérdida de expresión de MLH1 causado principalmente por hipermetilación del promotor y no por mutación del gen. [15]

Por último el PMS2 lo encontramos faltante en un 7% de los casos, representando un valor aumentado de lo que se encontro en la literatura. Debemos considerar que nuestra población con IMS no es muy grande y probablemente esta es la razón de la variación en los porcentajes comparativamente.

Tabla 7. Frecuencia de mutación de las proteínas de MMR del ADN en los pacientes con IMS.

	MLH 1	MSH 2	MSH 6	PMS 2
1	-	+	+	-
2	-	+	+	-
3	-	+	-	+
4	-	+	-	+
5	-	+	+	-
6	+	+	-	-
7	+	-	-	+
8	-	+	+	-
9	-	-	+	+
10	-	+	+	-
11	-	-	+	+

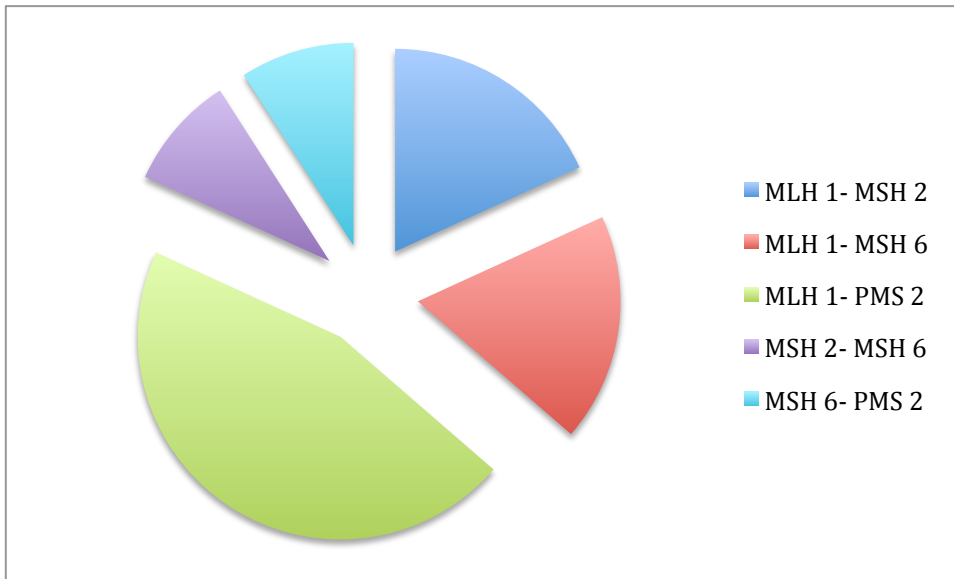
En esta tabla se observa como negativo la proteína mutada o faltante. En los 11 casos descritos la mutación más frecuente fue en MLH1, el cual es necesario para la creación del MutL- alfa junto con PMS2, siendo este heterodímero el cual parece ser el responsable de la mayoría de la reparación del ADN.

La inmunohistoquímica para MLH1, MSH2 y MSH6 nos da una sensibilidad del 92% y una especificidad del 100% para la detección de tumores con MMR deficiente. [13]

Tabla 8. Porcentaje y Frecuencia de proteínas de MMR mutadas.

	%
MLH 1- MSH 2	18 % (2)
MLH 1- MSH 6	18% (2)
MLH 1- PMS 2	45% (5)
MSH 2- MSH 6	9% (1)
MSH 6- PMS 2	9% (1)

Gráfica 5. Interpretación del porcentaje de proteínas de MMR mutadas.



Como se menciona previamente la estabilidad del MMR del ADN requiere de la formación de heterodímeros específicos de MutS y MutL. Al faltar una de estas proteínas, estas se degradan. En el 45% de los casos reportados se muestra una falta del MutL-alfa (MLH-1 y PMS-2) mientras que observamos un 18% tanto para MLH-1 / MSH2 y MLH-1 y MSH-6. Solo se presentó un caso en donde faltan las proteínas MSH 2 / MSH 6 y uno con MSH 6 / PMS 2 (9%).

En la literatura, las características histológicas asociadas con los tumores con IMS son la presentación en colon derecho, la edad <50 años, infiltrado linfocítico infiltrante y los subtipos medulares y mucinosos. [40] En este estudio el 35% de los pacientes positivos para IMS por IHC se presentaron en el colon derecho y otro 35% en el recto sigmoides. En cuanto a la edad únicamente 4 pacientes (35%) con IMS eran menor a 50 años de edad. El 72% si reporta infiltrado linfocítico (8 pacientes) y como previamente se comentó solo hubo dos casos con subtipo mucinoso.

Tabla 9. Variables cualitativas estudiadas.

N=137	
LOCALIZACION TUMORAL	
1. Ciego	8.2%(11)
2. Ascendente	9.5%(13)
3. Transverso	5.8%(8)
4. Descendente	6.6%(11)
5. Sigmoides	42.3% (58)
6. Rectosigmoideo	5.1%(7)
7. Recto	19% (26)
8. Sincronico	2.1%(3)
CRITERIOS DE AMSTERDAM	
1. Cuenta con criterios	95.6 % (131)
2 No cuenta con criterios	4.4 % (6)
SÍNTOMA PRINCIPAL AL DIAGNÓSTICO	
1. Sangrado	12.4%(17)
2. Oclusión	13.9%(19)
3. Anemia	14.6%(20)
4. Dolor abdominal	15.3% (21)
5.Hallazgo incidental	14.6% (20)
6. Cambios en hábito intestinal	12.4%(17)
7. Pujo y tenesmo rectal	8% (11)
8. Pérdida inexplicable de peso	8% (12)
MUTACIÓN KRAS	
Positivo	19.7% (27)
Negativo	80.3%(110)
REPORTE DE PATOLOGIA	
Adenocarcinoma	97.1% (133)
Linfoma	1.5% (2)
Carcinoide	1.5%(2)

Se muestran los porcentajes y frecuencias de variables cualitativas observadas. De nuestra N total de 137 pacientes se observó una mayor prevalencia en localización en sigmoides con un porcentaje del 42%. Seguido por el recto en el 19% y el colon derecho (ciego y ascendente) con 17.7%. En un 5.1% se encontraron tumores en la unión rectosigmoidea y únicamente en tres ocasiones se observó la presencia de CCR sincrónico. Siendo dos casos en ascendente y sigmoides y uno en ciego y descendente. El colon transverso tuvo un porcentaje de 5.8%, lo cual representa 8 pacientes.

En cuanto a los antecedentes heredofamiliares, se encontraron 6 pacientes con criterios de Amsterdam completos, los cuales deberían ser estudiados a fondo

para descartar síndrome de Lynch (CCHNP). De este 4.4% únicamente 2 pacientes presentaron inestabilidad microsatelital. El resto podría aun beneficiarse de un estudio germinal o PCR.

El CCR puede presentarse clínicamente de distintas maneras, principalmente dependiendo de su localización y posteriormente de su tamaño. El síntoma más frecuente al momento del diagnóstico fue dolor abdominal con 15.3% (21 pacientes), sin embargo no es un porcentaje elevado comparado con el sangrado 12.4%, oclusión intestinal 13.9%, anemia 14.6% o cambios en el hábito intestinal 12.4%. Es importante observar que en un 14.6% (20 pacientes) el diagnóstico fue un hallazgo incidental en pacientes asintomáticos. La pérdida de peso y el pujo y tenesmo rectal estuvo presente en 8% de los pacientes.

En cuanto a la presencia de mutación del gen K-RAS de los 137 pacientes, 27 presentaron mutación en este por PCR. Esto es equivalente a un 19.7%.

Los diagnósticos histopatológicos de CCR fueron en un 97.1% (133 pacientes) de adenocarcinoma, mientras que solamente un 1.5% (2 pacientes) presentaron algún tipo de linfoma o un tumor carcinoide respectivamente.

Los resultados en cuanto a localización tumoral son congruentes con los descritos en la literatura, siendo la localización más frecuente en el colon izquierdo, principalmente en el sigmoides. Otras localizaciones varían según la población. Si se toma en cuenta que el tratamiento para el cáncer de recto suele tener un distinto manejo diagnóstico y terapéutico, el porcentaje encontrado puede tomarse como una cifra independiente en cuanto a su presentación clínica. [6]

Por los objetivos de este estudio se buscaron de manera intencionada los antecedentes heredo-familiares. Aunque únicamente se constató que seis pacientes contaron con criterios de Amsterdam completos, solo dos presentaron inestabilidad microsatelital. Es importante tener en cuenta que a pesar de esto, no todos los pacientes con CCHNP cuentan con los criterios de Amsterdam, sin embargo, los pacientes que cuentan con ellos deberían ser estudiados para corroborar un diagnóstico adecuado, y en caso de ser necesario permanecer en

vigilancia por la probabilidad de presentar algún otro tipo de cáncer o en su defecto los riesgos para sus descendientes. [9]

Como antes se mencionó, los criterios de Amsterdam no son del todo específicos y es difícil contar con la información completa en los expedientes clínicos en búsqueda de los criterios de Bethesda. Sería de suma importancia el crear un hábito para su interrogatorio al momento del diagnóstico. [11,12]

Pensando en el principal síntoma, o el síntoma inicial del paciente al momento del diagnóstico, sobre todo en casos avanzados, las presentaciones clínicas pueden variar incluyendo anemia por deficiencia de hierro, sangrado transrectal, dolor abdominal, oclusión intestinal, perforación o cambio en los hábitos intestinales. Debido al aumento en el énfasis del escrutinio, el CCR es frecuentemente diagnosticado antes de presentar sintomatología. Además de que dependiendo de su localización el CCR derecho se asocia más a sangrado y diarrea mientras que el CCR izquierdo son de diagnóstico tardío y suelen presentarse con oclusión intestinal. [5]

Tabla 10. Presencia de mutaciones en gen K-RAS o BRAF

Columna1	Frecuencia	Porcentaje
BRAF	1	0.7
KRAS negativo	109	79.6
KRAS positivo	27	19.7
	137	100

En esta tabla se muestra el porcentaje de pacientes con mutación del gen K-RAS positivo (19.7%) y en el gen BRAF (0.7%) con únicamente un paciente. Ensayos clínicos controlados en pacientes con CCR y gen K-RAS mutado fueron resistentes a la terapia anti-receptor de tirosina quinasa y con valor de mal pronóstico en caso de BRAF. Este estudio aunque tampoco diagnóstico, sirve como ayuda junto con otros factores para seleccionar pacientes elegibles para una terapia determinada. [4]

Algunas de las recomendaciones para el estudio molecular del CCR sugieren la búsqueda en RAS para pacientes que están siendo considerados para tratamiento con terapia anti-EGFR, incluyendo los codones 12 Y 13 del exon 2; 59 y 61 del exon 3 y 117 y 146 del exon 4 de KRAS y NRAS. [52]

La mutación puntual en BRAF V600 debe hacerse en conjunto con la búsqueda de inestabilidad microsatelital en el MMR para estadificación pronóstica, aunque no es necesario si no hay una IMS-A con pérdida de MLH1. En el caso encontrado en este estudio, el paciente positivo para mutación de BRAF no presentó pérdida de las proteínas de reparación del ADN, contando con estabilidad microsatelital.

Los adenocarcinomas del colon y recto representan el 95% del CCR, estos en su mayoría se desarrollan de un adenoma. El adenocarcinoma puede también presentarse con variantes como el mucinoso, el cual se compone en aproximadamente un 60% de moco el cual presenta un peor pronóstico al tener una diseminación más rápida y agresiva. El adenocarcinoma mucinoso se presenta en un 10-15% de todos los CCR. [3] En nuestro estudio encontramos un porcentaje de 6% con 8 pacientes de los cuales presentaron adenocarcinoma. (Tabla 11.)

Otra variante es el adenocarcinoma con células en anillo de sello el cual se presenta únicamente en el 1%, siendo también más agresivo y con menor respuesta a tratamiento. En nuestro estudio solo un paciente fue encontrado por histopatología con este subtipo de CCR. [3]

Tabla 11. Frecuencia y porcentaje de adenocarcinoma mucinoso.

ADENOCARCINOMA		
Mucinoso	8	6.01%
No Mucinoso	125	93.98%
Total	133	100%

Sin embargo existen otros tipos menos frecuentes como los linfomas, tumores del estroma, leiomiomas, tumores carcinoides y melanomas. Como los casos encontrados en este estudio los tumores carcinoides se presentan en el 1% del CCR y son derivados de células neuroendocrinas. Los linfomas representan

<0.5% del CCR y son únicamente el 5% de todos los linfomas. Suelen presentarse en etapas tardías de la vida y son más comunes en hombres que en mujeres. El caso encontrado fue en un hombre de 82 años. Aunque existen otras extirpes que se asocian típicamente con IMS como el carcinoma indiferenciado, el cual es un tumor epitelial sin diferenciación glandular, escamosa ni neuroendocrina, en los pacientes observados no se encontro ningun caso como estos. [1]

Tabla 12. Frecuencia y porcentaje de grado de diferenciación.

		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	BIEN	21	16.0
	MODERADO	98	74.8
	POCO	12	9.2
	Total	131	100.0

Los grados de diferenciación histológica del adenocarcinoma son bien diferenciado, cuando más del 95% del tumor forma glándulas, moderadamente diferenciado cuando forma glándulas del 50-95% y pobremente diferenciado cuando es menor al 50% la formación de glándulas. [1]

En referente a el grado de diferenciación tumoral en los pacientes estudiados se encontro una mayoría en adenocarcinoma moderadamente diferenciado con un 74.8% (98 pacientes), seguido de adenocarcinomas bien diferenciados con un porcentaje de 16% (21 pacientes) y los adenocarcinomas poco diferenciados con 9.2% (12 pacientes).

8. Conclusiones

Es evidente que el rol de la inestabilidad genómica en la iniciación del cáncer y su progresión está creciendo con mayor visión hacia las implicaciones biológicas y clínicas de estadificar el CCR de acuerdo a la presencia o ausencia de una deficiencia en el MMR. Cada vez queda más claro que el antecedente genotípico de cada tumor determina sus capacidades proliferativas, invasivas y metastásicas como también su respuesta a la quimioterapia. El estudio en busca de IMS por inmunohistoquímica o PCR como escrutinio podría dar información pronóstica importante en pacientes con tumores con deficiencia de MMR ya sea por mutaciones hereditarias o esporádicas.

Por lo regular las mutaciones en las proteínas reparadoras del ADN ocurren en secuencias repetitivas y la identificación de estos genes es valiosa para crear nuevos tratamientos y podría formar la base para la selección personalizada para terapia relacionada a cáncer en el futuro.

La IMS es un marcador claro y definitivo de un grupo de cánceres que incluye CCHNP y cánceres esporádicos con características bien definidas. La determinación de la presencia de la IMS en tumores colorrectales tiene, hoy, claras implicaciones diagnósticas y pronósticas. En estudios futuros se debe aclarar si los tumores con IMS son susceptibles de responder a tratamientos específicos. De cualquier forma, una evaluación conclusiva de la significancia pronóstica requiere estudios prospectivos largos, utilizando métodos de diagnóstico para IMS estandarizados y criterios de inmunohistoquímica, así como una distinción importante para separar los tumores con IMS-A por CCHNP de los esporádicos. Por último, también se requiere de independencia de sesgos de distracción tales como el grado tumoral, estadio, edad y tratamiento del paciente.

En este estudio también se describen variables que hablan de características clínicas, anatomopatológicas y moleculares de pacientes diagnosticados de CCR analizando también su localización y tipo histológico. Al tratarse de un estudio descriptivo de prevalencia la información tomada de las historias clínicas ha supuesto pérdidas que pueden introducir sesgos que limiten la validez de los

resultados obtenidos, especialmente en los antecedentes heredofamiliares. Esto dificulta saber específicamente los pacientes que merecen un mayor estudio, la exactitud de pacientes que presentan CCHNP y por ende el número de casos esporádicos.

Si tenemos en cuenta que los pacientes incluidos no representan la distribución poblacional sino probablemente una infrarrepresentación de los casos con IMS y una sobrerrepresentación de los casos con EMS, la generalización de los resultados puede verse limitada. De cualquier forma, el conocimiento de las características de las pérdidas en la captación permite limitar los sesgos.

En cuanto a la edad de los casos, su rango y media es similar en hombres y mujeres (67 años) y coincide con otros estudios de este tipo, en los que la media se sitúa en torno a unos 70 años.

La frecuencia de adenocarcinomas mucinosos concuerda con la bibliografía existente en la que se sitúan entre 5 y 15%. Por el grado de diferenciación, diversos trabajos muestran una mayor proporción de tumores pobremente diferenciados en las zonas proximales, algo no visto en nuestro estudio, sin embargo, la frecuencia de adenocarcinomas mucinosos con una pobre diferenciación si es consistente con trabajos previos. Esto se asocia a un leve empeoramiento del pronóstico, incluso si se ajusta por el estadio en el momento de diagnóstico.

Sobre los marcadores genéticos, KRAS aparece mutado en torno a 19.7% de las muestras, por debajo de lo descrito en donde se encuentran valores desde el 30 al 50%. El porcentaje de muestras tumorales con IMS fue similar al señalado por otros autores en torno a 5-15%. Si bien existe evidencia previa de que tanto la IMS como la mutación KRAS son más frecuentes en zonas proximales, en nuestro estudio se observaron diferencias significativas. Esto puede estar marcado por un sesgo en la selección de casos de a quienes si se le realizó IHC o PCR para RAS usualmente solicitados en casos con estadios más avanzados o asociados a tipos tumorales característicos.

Es justamente la realización de estos estudios de manera rutinaria en aumento lo que permitió realizar esta investigación en búsqueda de su prevalencia en un

hospital privado de la ciudad de México, el Hospital Español. Los resultados aun continúan siendo parciales y sesgados por los criterios clínicos seguidos, lo cual impide un análisis adecuado con su relación con las demás variables y plantea nuevamente el interés de generalizar los análisis moleculares con fines de investigación para lograr mejoras en el conocimiento y la predicción clínica.

Por último es importante mencionar la importancia que está tomando el conocer el status de MMR-A sobre todo en pacientes con CCR que han progresado posterior a tratamiento con fluoropirimidina, oxaliplatino e irinotecan. Se ha demostrado que los pacientes con CCR metastásico son menos propensos a responder a la quimioterapia convencional y por eso los avances en el estudio de inmunoterapia presentan una nueva brecha en el tratamiento con medicamentos como Nivolumab y Pembrolizumab que han presentado respuesta en hasta 28%.^[53] Es por todo esto que la NCCN (National Comprehensive Cancer Network) recomienda el estudio universal para defectos en MMR e MMR-A en todos los pacientes con cualquier historia de CCR e informar sobre el uso de inmunoterapia en la enfermedad metastásica.

9. Bibliografía

1. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58:5248-5257.
2. Tahara et al., "Clinical Significance of Microsatellite Instability in the Inflamed Mucosa for the Prediction of Colonic Neoplasms in Patients with Ulcerative Colitis" *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 710-715.
3. Parra-Medina et al., "Colonic Adenosquamous Carcinoma and Mucinous Adenocarcinoma with Microsatellite Instability" *Malaysian J Pathol* 2018; 40: 199- 202.
4. Poulogiannis, Frayling, and Arends, "DNA Mismatch Repair Deficiency in Sporadic Colorectal Cancer and Lynch Syndrome" *Histopathology* 2010; 56: 167-179.
5. Schmitz et al., "Estudio fenotípico de inestabilidad microsatelital en cáncer colorrectal. Correlación con parámetros histológicos y clínicos" *Rev Esp Patol.* 2014; 47: 204-209.
6. López-Correa et al., "Frequency of Defective Mismatch Repair System in a Series of Consecutive Cases of Colorectal Cancer in a National Cancer Center"
7. Li and Martin, "Mismatch Repair and Colon Cancer." *Trends in Molecular Medicine, Cell Press*, 2016; 22; 4.
8. Sepulveda AR. Microsatellite instability testing in colonic neoplasia. *Molecular pathology for practicing pathologists. Program and abstracts of the American Society for Clinical Pathology 2007 Annual Meeting; October 18-21, 2007; New Orleans, Louisiana. Course SP42.*
9. Gologan A, Sepulveda AR. Microsatellite instability and DNA mismatch repair deficiency testing in hereditary and sporadic gastrointestinal cancers. *Clin Lab Med.* 2005;25:179-196.
10. Liu B, Nicolaides C, Markowitz S, et al. Mismatch repair defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nat Genet.* 1995;9:48-55.
11. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:261-268.
12. Murphy KM, Zhang S, Geiger T, Hafez MJ, Bacher J, Berg KD, Eshleman JR. Comparison of the microsatellite instability analysis system and the Bethesda panel for the determination of microsatellite instability in colorectal cancers. *J Mol Diagn.* 2006;8:305-311.
13. Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:6870-6875.
14. Hatch SB, Lightfoot HM Jr, Garwacki CP, et al. Microsatellite instability testing in colorectal carcinoma: choice of markers affects sensitivity of

- detection of mismatch repair-deficient tumors. *Clin Cancer Res.* 2005;11:2180-2187.
15. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with an improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:917-923.
 16. Elsaleh H, Iacopetta B. Microsatellite instability is a predictive marker for survival benefit from adjuvant chemotherapy in a population-based series of stage III colorectal carcinoma. *Clin Colorectal Cancer.* 2001;1:104-109.
 17. Brueckl WM, Moesch C, Brabletz T, et al. Relationship between microsatellite instability, response and survival in palliative patients with colorectal cancer undergoing first-line chemotherapy. *Anticancer Res.* 2003;23:1773-1777.
 18. Guidoboni M, Gafa R, Viel A, et al. Microsatellite instability and high content of activated cytotoxic lymphocytes identify colon cancer patients with a favorable prognosis. *Am J Pathol.* 2001;159:297-304.
 19. Meyers M, Wagner MW, Mazurek A, Schmutte C, Fishel R, Boothman DA. DNA mismatch repair-dependent response to fluoropyrimidine-generated damage. *J Biol Chem.* 2005;280:5516-5526.
 20. Carethers JM, Smith EJ, Behling CA, et al. Use of 5-fluorouracil and survival in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2004;126:394-401.
 21. Meyers M, Hwang A, Wagner MW, Boothman DA. Role of DNA mismatch repair in apoptotic responses to therapeutic agents. *Environ Mol Mutagen.* 2004;44:249-264.
 22. Parc Y, Gueroult S, Mourra N, et al. Prognostic significance of microsatellite instability determined by immunohistochemical staining of MSH2 and MLH1 in sporadic T3N0M0 colon cancer. *Gut.* 2004;53:371-375.
 23. Syngal S, Fox EA, Eng C, Kolodner RD, Garber JE. Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. *J Med Genet.* 2000;37:641-645.
 24. Umar A, Risinger JI, Hawk ET, Barrett JC. Testing guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:153-158.
 25. Gologan A, Krasinskas A, Hunt J, Thull DL, Farkas L, Sepulveda AR. Performance of the revised Bethesda guidelines for identification of colorectal carcinomas with a high level of microsatellite instability. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129:1390-1397.
 26. Kolodner RD, Marsischky GT. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Curr Opin Genet Dev.* 1999;9:89-96.
 27. Leung WK, Kim JJ, Wu L, Sepulveda JL, Sepulveda AR. Identification of a second MutL DNA mismatch repair complex (hPMS1 and hMLH1) in human epithelial cells. *J Biol Chem.* 2000;275:15728-15732.
 28. Raschle M, Marra G, Nystrom-Lahti M, Schar P, Jiricny J. Identification of hMutLbeta, a heterodimer of hMLH1 and hPMS1. *J Biol Chem.* 1999;274:32368-32375.
 29. Terdiman JP, Gum JR Jr, Conrad PG, et al. Efficient detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene carriers by screening for tumor

- microsatellite instability before germline genetic testing. *Gastroenterology*. 2001;120:21-30.
30. Halvarsson B, Lindblom A, Rambech E, Lagerstedt K, Nilbert M. Microsatellite instability analysis and/or immunostaining for the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer? *Virchows Arch*. 2004;444:135-141.
 31. Watson N, Grieu F, Morris M, et al. Heterogeneous staining for mismatch repair proteins during population-based prescreening for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J Mol Diagn*. 2007;9:472-478.
 32. Ohmiya N, Matsumoto S, Yamamoto H, Baranovskaya S, Malkhosyan SR, Perucho M. Germline and somatic mutations in hMSH6 and hMSH3 in gastrointestinal cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Gene*. 2001;272:301-313.
 33. Perucho M. Cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Biol Chem*. 1996;377:675-684.
 34. Buttin BM, Powell MA, Mutch DG, et al. Penetrance and expressivity of MSH6 germline mutations in seven kindreds not ascertained by family history. *Am J Hum Genet*. 2004;74:1262-1269.
 35. Plaschke J, Engel C, Kruger S, et al. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: The German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J Clin Oncol*. 2004;22:4486-4494.
 36. Hendriks YM, Wagner A, Morreau H, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology*. 2004;127:17-25.
 37. Kolodner RD, Tytell JD, Schmeits JL, et al. Germ-line msh6 mutations in colorectal cancer families. *Cancer Res*. 1999;59:5068-5074.
 38. Kariola R, Hampel H, Frankel WL, Raevaara TE, de la Chapelle A, Nystrom-Lahti M. MSH6 missense mutations are often associated with no or low cancer susceptibility. *Br J Cancer*. 2004;91:1287-1292.
 39. Peterlongo P, Nafa K, Lerman GS, et al. MSH6 germline mutations are rare in colorectal cancer families. *Int J Cancer*. 2003;107:571-579.
 40. Berends MJ, Wu Y, Sijmons RH, et al. Molecular and clinical characteristics of MSH6 variants: an analysis of 25 index carriers of a germline variant. *Am J Hum Genet*. 2002;70:26-37.
 41. Samowitz WS, Slattery ML. Microsatellite instability in colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 1997;112:1515-1519.
 42. Hawkins NJ, Ward RL. Sporadic colorectal cancers with microsatellite instability and their possible origin in hyperplastic polyps and serrated adenomas. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:1307-1313.
 43. Hawkins NJ, Gorman P, Tomlinson IP, Bullpitt P, Ward RL. Colorectal carcinomas arising in the hyperplastic polyposis syndrome progress through the chromosomal instability pathway. *Am J Pathol*. 2000;157:385-392.
 44. Ricciardiello L, Goel A, Mantovani V, et al. Frequent loss of hMLH1 by promoter hypermethylation leads to microsatellite instability in adenomatous

- polyps of patients with a single first-degree member affected by colon cancer. *Cancer Res.* 2003;63:787-792.
45. lino H, Jass JR, Simms LA, et al. DNA microsatellite instability in hyperplastic polyps, serrated adenomas, and mixed polyps: a mild mutator pathway for colorectal cancer? *J Clin Pathol.* 1999;52:5-9.
 46. lino H, Simms L, Young J, et al. DNA microsatellite instability and mismatch repair protein loss in adenomas presenting in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut.* 2000;47:37-42.
 47. Rijcken FE, Hollema H, Kleibeuker JH. Proximal adenomas in hereditary non-polyposis colorectal cancer are prone to rapid malignant transformation. *Gut.* 2002;50:382-6.
 48. De Jong AE, Morreau H, Van Puijenbroek M, et al. The role of mismatch repair gene defects in the development of adenomas in patients with HNPCC. *Gastroenterology.* 2004;126:42-48.
 49. Samowitz WS, Burt RW, Leppert M. Gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med.* 1995;332:1518; author reply 1519-1520.
 50. Lindor NM, Petersen GM, Hadley DW, et al. Recommendations for the care of individuals with an inherited predisposition to Lynch syndrome: a systematic review. *JAMA.* 2006;296:1507-1517.
 51. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001; 10:917-923.
 52. Parks TG, Deans GT, Rowlands BJ, Spence RA. Prognostic factors in colorectal cancer. *BrJ Surg.* 1992; 79:608-13.
 53. Nelson R. *FDA OKs Nivolumab in Metastatic CRC Subtype - Medscape - Aug 01, 2017.*