



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA**  
**DR. ERNESTO RAMOS BOURS**

**T E S I S**

**INCIDENCIA DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN PACIENTES CON  
CÁNCER DE COLON, DETECTADO POR INMUNOHISTOQUÍMICA Y SU  
UTILIDAD COMO DIAGNÓSTICO TEMPRANO Y CRIBADO A FAMILIARES.**

**QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE CIRUGIA GENERAL**

**PRESENTA:**  
**IRASEMA SALGADO FALCÓN**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. RENNY DEL VALLE GARCÍA MARCANO**  
Hospital General del Estado de Sonora

**COMITÉ TUTOR: DR. ROBERTO DE LEÓN CABALLERO**  
Hospital General del Estado de Sonora

**DRA. KARINA MONROY CISNEROS**  
Dirección General de Salud Mental y Adicciones, Servicios de Salud de Sonora

**Hermosillo Sonora; septiembre 2019**



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).

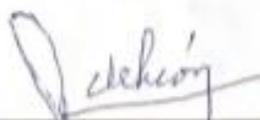
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

## FIRMAS DE AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ DIRECTIVO DE TESIS

Los presentes hemos revisado el trabajo del médico residente de cuarto año **Irasema Salgado Falcón** y lo encuentran adecuado para continuar con su proceso de titulación para obtener su grado de médico especialista en Cirugía General



**DR. RENNY DEL VALLE GARCIA MARCANO**  
Tutor principal  
Hospital General de Estado de Sonora



**DR. ROBERTO DE LEÓN CABALLERO**  
Miembro del comité tutorial  
Hospital General de Estado de Sonora



**DRA. KARINA MONROY CISNEROS**  
Miembro del comité tutorial  
Doctor en Ciencias

### LIBERACIÓN DE TESIS

La División de Enseñanza e Investigación del Hospital General del Estado de Sonora hace constar que realizó la revisión del trabajo de tesis del médico residente: **IRASEMA SALGADO FALCÓN**; cuyo título es: **"INCIDENCIA DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN PACIENTES CON CÁNCER DE COLON, DETECTADO POR INMUNOHISTOQUÍMICA Y SU UTILIDAD COMO DIAGNÓSTICO TEMPRANO Y CRIBADO A FAMILIARES"** Con base en los lineamientos metodológicos establecidos por el Hospital General del Estado "Dr. Ernesto Ramos Bours," se considera que la tesis reúne los requisitos necesarios para un trabajo de investigación científica y cumple con los requerimientos solicitados por la Universidad Nacional Autónoma de México. Por lo tanto, la División de Enseñanza e Investigación acepta el trabajo de tesis para ser sustentado en el examen de grado de especialidad médica; aclarando que el contenido e información presentados en dicho documento son responsabilidad del autor de la tesis.

**ATENTAMENTE**

**DR. MAURICIO BELTRÁN RASCÓN**  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO



## **AGRADECIMIENTOS**

Es imperativo iniciar agradeciendo a la Universidad Nacional Autónoma de México, la casa de estudios más importante y grande del país, que mediante su plan de estudio que me ha ofrecido, he podido llevar a cabo una excelente formación como médico en los últimos 4 años que compete a mi especialidad.

Para poder iniciar esta idea de realizar un estudio más allá de la rutina a pacientes con Cáncer Colorrectal, es importante reconocer la participación de todos los médicos adscritos del servicio de Cirugía General del Hospital General del Estado de Sonora, en especial al Jefe de Oncocirugía y Anatomía Patológica, Dr. Renny del Valle García Marcano y Dr. Luis Roberto de León Caballero, quienes mediante el gusto por la enseñanza al médico residente, dieron pauta y orientación importante sobre esta patología al médico residente que presenta esta tesis; así también quisiera agradecer a la Dirección General y Dirección Médica del HGE, Dr. Marcos José Serrato y Dr. Joaquín Sánchez González; Jefe de la División de Cirugía, Dr. Luis Roberto de León Zamora, quienes pusieron a disposición los recursos brindados al hospital para iniciar un proyecto de investigación de esta magnitud; a mi asesora de Tesis, Dra. Karina Monroy Cisneros, y a la parte más importante y el motivo por el que elegí esta profesión: a los pacientes que depositan su confianza y su salud en nuestras manos, para que de esta manera podamos ayudar a mantener su estado de salud, mejorar condiciones de vida y finalmente sean parte de nuestra formación como servidores de la salud.

## **DEDICATORIA**

A los pacientes que durante estos cuatro años han sido la parte más importante de mi formación como Cirujano, quienes depositaron su confianza en mis manos y me dieron el honor de tratar con ellos y sus familiares, que además de enseñarme cómo tratar enfermedades, me enseñaron a ser más empática y mejor ser humano.

A la parte más importante de mi vida personal, mis padres, Ada y Román, a mi hermano Eduardo, los cuales han sido la base y apoyo fundamental en mi desarrollo personal, y han sido el sustento de cada propósito y finalmente las metas que me he propuesto, esperando que al finalizar esta etapa se sientan orgullosos de la hija, hermana y médico.

## ÍNDICE

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>I.</b>   | <b>INTRODUCCIÓN.....</b>   | <b>7</b>  |
| <b>II.</b>  | <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....</b>                     | <b>7</b>  |
| <b>III.</b> | <b>OBJETIVOS</b>   |           |
|             | A. Objetivo general .....  | 9         |
|             | B. Objetivos particulares .....  | 9         |
| <b>IV.</b>  | <b>HIPÓTESIS CIENTÍFICA .....</b>  | <b>9</b>  |
| <b>V.</b>   | <b>MARCO TEÓRICO.....</b>  | <b>10</b> |
|             | A. Secuencia Adenoma-Carcinoma .....                                       | 10        |
|             | B. Vías de Carcinogénesis .....  | 10        |
|             | C. Vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites .....                 | 11        |
|             | D. Síndrome de Lynch .....   | 12        |
|             | E. Características de tumores con errores de replicación o con IMS .....   | 14        |
|             | F. Métodos de detección .....  | 18        |
|             | G. Criterios Ámsterdam II .....  | 23        |
|             | H. Revisión de Criterios Bethesda .....                                    | 24        |
|             | I. Evaluación de inestabilidad microsatelital por inmunohistoquímica ..... | 27        |
| <b>VI.</b>  | <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>  |           |
|             | A. Diseño del estudio .....  | 32        |
|             | B. Población y periodo de estudio.....                                     | 32        |
|             | C. Criterios de muestreo y elección del tamaño de la muestra .....         | 32        |

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| D.           | Criterios de selección .....                               | 32        |
|              | <i>a. Criterios de inclusión</i>                           |           |
|              | <i>b. Criterios de exclusión</i>                           |           |
| E.           | Descripción metodológica del estudio .....                 | 33        |
| F.           | Categorización de las variables según la metodología ..... | 33        |
| G.           | Análisis de datos .....                                    | 35        |
| H.           | Recursos empleados .....                                   | 35        |
|              | <i>a. Recursos humanos:</i>                                |           |
|              | <i>a. Recursos físicos:</i>                                |           |
|              | <i>b. Recursos financieros:</i>                            |           |
| I.           | Aspectos éticos de la investigación .....                  | 36        |
| <b>VII.</b>  | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>                        | <b>36</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>CONCLUSIONES .....</b>                                  | <b>44</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>LITERATURA CITADA .....</b>                             | <b>46</b> |
| <b>X.</b>    | <b>ANEXOS .....</b>  | <b>50</b> |

## RESUMEN

**Introducción:** El Cáncer colorrectal (CCR) es la tercera neoplasia más común, y ocupa el segundo lugar como causa de muerte por cáncer a nivel mundial; en 2018 se registraron 1,849,518 nuevos casos, con una mortalidad de 881 000 (Globocan, 2018). En México se reportaron 14, 900 casos nuevos (2018), con una mortalidad de 7, 084 pacientes, siendo Sonora uno de los estados con mayor incidencia. El CCR es uno de los tumores más estudiados genéticamente, lo cual conlleva importantes implicaciones en el tratamiento en etapas tempranas y mejora en la sobrevida. Una de las principales vías de oncogénesis es la inestabilidad microsatelital, que representa alrededor del 10-15% de las vías de desarrollo del CCR; hoy en día se recomienda estudiar a todos los casos confirmados de CCR en vías de detectar etapas tempranas en familiares de 1er y 2do grado. En este estudio se propone realizar diagnóstico de la inestabilidad microsatelital mediante inmunohistoquímica con apoyo de Criterios Amsterdam II y Bethesda modificados.<sup>19,20</sup>

- **Objetivo general:** Determinar la incidencia de la inestabilidad microsatelital en los pacientes diagnosticados con Cáncer Colorrectal en el Hospital General del Estado de Sonora en el período de enero 2017 a junio 2019 y explorar su asociación con determinantes clínicos y pronósticos.

**Materiales y métodos:** Se realizó un estudio transversal analítico en el Hospital General del Estado de Sonora, donde se incluyeron todos los casos confirmados con diagnóstico histopatológico de Adenocarcinoma de Colon y Recto, dentro del periodo estipulado de enero 2017 a junio de 2019.

Se revisaron las laminillas de pacientes diagnosticados con Adenocarcinoma de colon y recto, seleccionando muestras en las que se incluía mucosa normal con transición a área tumoral; de los bloques de parafina en esos pacientes se hicieron cortes, aplicando tinción de inmunohistoquímica con los anticuerpos MLH1 y MSH2. Se analizaron los resultados y se hizo un registro de casos con expresión de los dos anticuerpos o de uno de ellos sin expresión del otro anticuerpo.

**Resultados:** De los 101 casos, solo 20 casos cumplieron con los criterios de inclusión: 4 pacientes resultaron con falta de expresión de los genes reparadores de MMR, 3 con falta de expresión del MLH1 y uno del MSH2, lo cual representó una baja frecuencia en la expresión de los anticuerpos que detectan la inestabilidad microsatelital.

**Conclusiones:** Se ha reportado el CCR originado por la vía mutadora hasta en un 15%, además de que cuenta con características que los distinguen de los demás como la localización del tumor en el lado derecho del colon, productores de mucina, tumores sincrónicos y en un 90% ausencia de la expresión del gen MLH1. En nuestro estudio se encontró en un 25% de los casos, por lo que rebasó la incidencia esperada en comparación con la informada por otros autores.

**Palabras clave:** Cáncer colorrectal (CCR), inestabilidad microsatelital, inmunohistoquímica, Criterios Bethesda modificados, Criterios Amsterdam II

## I. INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR), es la tercera neoplasia más común, detrás del cáncer de pulmón y mama, y es la segunda causa de mortalidad por cáncer en los países desarrollados.<sup>1</sup>

El CCR, es uno de los tumores más estudiados desde el punto de vista genético, lo cual tiene importantes implicaciones tanto en el pronóstico como en el tratamiento del cáncer. La inestabilidad genética de la mucosa colorrectal facilita el desarrollo de hiperplasia, adenoma, carcinoma *in situ* y, finalmente, carcinoma invasor, como lo muestra la teoría de Volgestein. Una de las principales vías de oncogénesis es la inestabilidad microsatelital, la cual es responsable de originar aproximadamente 10-15% de los casos.<sup>2</sup>

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El cáncer de colon y recto, según las últimas estadísticas en el campo, es una de las neoplasias más frecuentes, afectando cada vez a edades más tempranas; cuando se es detectado en estadios tempranos tiene mejor pronóstico tanto de vida como de la calidad de esta, llegando a ser una enfermedad curable mediante cirugía y tratamiento adyuvante.<sup>5</sup>

La incidencia mundial reportada de acuerdo a Globocan para 2018 fue de 1,849,518 casos, con una mortalidad de 880,792 casos. En México, ocupó el 2do lugar de neoplasias del tracto gastrointestinal, con 14,900 casos nuevos en 2018, y una mortalidad de 7,084 pacientes. Los Estados con las mayores tasas de mortalidad según lo reportado en la Gaceta Mexicana de Oncología 2018, son: Chiapas, 8.9; Chihuahua, 7.1; Ciudad de México, 7.1; **Sonora, 6.6** y Baja California, 6.4.<sup>20</sup>

En cuanto a los factores de riesgo relacionados con el CCR, se identifican: alta ingesta calórica de alimentos, ingesta de grasas de origen animal, pobre ingesta de fibra vegetal, IMC  $>29\text{kg/m}^2$ , vida sedentaria, ingesta de alcohol, antecedentes familiares (aumenta 4.5 veces más el riesgo), síndromes hereditarios de cáncer colorrectal como Poliposis Adenomatosa Familiar (FAP), Síndrome de Gardner, Síndrome de Turcot. Síndrome de Peutz Jeghers, entre otros.<sup>13</sup>

Siendo Sonora uno de los principales estados donde se reporta alta tasa de mortalidad relacionada con el CCR, es imperativo proponer estrategias de prevención, así como para el diagnóstico temprano y cribado a los pacientes que se encuentran en riesgo, tales como los que cuentan con antecedentes familiares y predisposición genética al desarrollo en edades tempranas del CCR; esto proveería una mejor calidad de vida y pronóstico de la enfermedad en un futuro cercano.<sup>13</sup>

La detección de IMS en el tejido tumoral en pacientes con cáncer de colon tiene valor pronóstico y además, es posible que también sea capaz de predecir la respuesta a la quimioterapia. Sin embargo, su principal utilidad clínica se halla en la estrategia de cribado del Cáncer colorrectal hereditario no polipósico.<sup>10</sup>

La realización de estudio de IMS mediante inmunohistoquímica se propone como primer paso a seguir antes del análisis genético por las siguientes razones:

- Identifica el gen afectado al detectar la ausencia de su producto proteico.
- Sensibilidad ( $> 90\%$ ) y especificidad (100%) para CCR esporádico y Síndrome de Lynch.
- El producto del gen de desajuste específico (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2) puede dirigir las pruebas de la línea germinal

### **III. OBJETIVOS**

#### **a. OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar la incidencia de la inestabilidad microsatelital en los pacientes diagnosticados con Cáncer Colorrectal en el Hospital General del Estado de Sonora en el período de enero 2017 a junio 2019 y explorar su asociación con determinantes clínicos y pronósticos.

#### **b. OBJETIVOS PARTICULARES:**

- Identificar la ausencia de expresión de los genes reparadores de MMR mediante la detección de la proteína MLH1 y MSH2 por inmunohistoquímica.
- Establecer la localización de los tumores en pacientes con IMS
- Identificar tumores sincrónicos/metacrónicos y su asociación con IMS.
- Explorar la utilidad de determinar la IMS como cribado a pacientes y familiares.

### **IV. HIPÓTESIS**

La incidencia de inestabilidad microsatelital como vía de oncogénesis para Cáncer de colon y recto en el Estado de Sonora es mayor a la esperada con base a los referentes bibliográficos.

## V. MARCO TEÓRICO

El modelo clásico de secuencia “adenoma-carcinoma”, formulado por Fearon y Volgestein, supone la acumulación de alteraciones genéticas sobre el clon tumoral inicial, promoviendo la emergencia de nuevos subclones celulares, con nuevas capacidades y un fenotipo más agresivo.<sup>1</sup>

Desde una perspectiva molecular, la formación de un tumor es consecuencia de la acumulación de múltiples alteraciones tanto a nivel genético como epigenético. Las alteraciones genéticas se producen a nivel de la secuencia de ADN, e implican mutaciones, deleciones, amplificaciones e incluso pérdidas o ganancias de cromosomas enteros.<sup>1</sup>

La mayoría de los cánceres son esporádicos, como consecuencia de mutaciones a nivel somático, sin embargo, pueden existir mutaciones a nivel germinal, que transmiten la susceptibilidad para el CCR a las generaciones posteriores, produciendo los diferentes síndromes de CCR hereditario<sup>1</sup>

### **Vías de carcinogénesis<sup>1,2</sup>**

Se han identificado tres vías de carcinogénesis en el desarrollo del CCR:

- Vía supresora o de inestabilidad cromosómica (INC),
- Vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites (IMS)
- Vía metiladora o del fenotipo metilador de islas de CpG (CIMP).

**La vía supresora o de INC** es la alteración más frecuente (**80%**). No sólo se encuentra en la mayor parte de los casos de CCR esporádicos, sino también en síndromes hereditarios como la poliposis adenomatosa familiar (PAF). Este tipo de tumores se caracterizan por el desequilibrio cromosómico (aneuploidía), con deleciones, amplificaciones y una alta frecuencia de pérdida de heterocigosidad (LOH). <sup>1,2</sup>

Existen dos tipos de alteraciones: la activación de oncogenes, como K-RAS y c-MYC, y la inactivación de genes supresores del crecimiento tumoral, APC, DCC, p53, TGFBR o PIK3CA<sup>1</sup>

#### **La vía mutadora o de IMS (10-15%)**

Se caracteriza por la aparición de alteraciones en el sistema de reparación de errores durante la replicación del ADN, controlado por los genes *mismatch repair* (MMR). Los genes MMR (***MSH2, MLH1, PSM1 Y PSM2, MSH6 o MLH3***), son genes que regulan la corrección de los emparejamientos incorrectos o pequeñas inserciones que se producen en la replicación del ADN. <sup>2</sup>

El sustrato genético de la IMS es la inactivación de alguno de los genes reparadores de errores de la replicación del ADN. Cuando esto ocurre, se acumulan errores en el ADN y se produce gran cantidad de mutaciones por inserciones o deleciones. Los microsatélites son secuencias repetitivas de nucleótidos que existen en el ADN en condiciones normales. Existen miles de microsatélites en el genoma humano. <sup>2</sup>

Estas secuencias repetitivas son muy propensas a presentar mutaciones, por causa de un fenómeno conocido como deslizamiento de las hebras, que habitualmente son reparadas por los genes reparadores de errores. Cuando estos genes se hallan inactivados, se produce el fenómeno de la IMS. Como resultado de ese deslizamiento, se producen deleciones o inserciones en las secuencias de microsatélites, que son muy eficazmente corregidas por el mecanismo de reparación de errores por deslizamiento (*mismatch repair*). Este mecanismo está constituido fundamentalmente por las proteínas **MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, MSH3 y MLH3**. Entre ellas forman complejos heterodiméricos, de los que en el momento actual se conocen 2 tipos; el más abundante y primero en actuar, MutS $\alpha$ , está formado por MSH2-MSH6. A este complejo se le une posteriormente otro, MutL $\alpha$ , formado por MLH1-PMS2 (o alternativamente MLH1-MLH3). El complejo final escinde el error del ADN y lo repara. Las alteraciones más patogénicas son las que afectan a MLH1 y MSH2, ya que son insustituibles en sus respectivos complejos y éste es probablemente el principal motivo de que sean los genes más frecuentemente inactivados en el CCRHNP. <sup>2</sup>

Este tipo de tumores se conocen como *tumores con errores de replicación (RER+)* o de fenotipo mutador; la gran mayoría de tumores con IMS (83%) son esporádicos, y el 17% restante se desarrolla con CCHNP o Síndrome de Lynch. <sup>2,5, 23</sup>

### **Síndrome de Lynch**

Es el síndrome de cáncer colorrectal hereditario (CCR) más común y afecta a uno de cada 35 pacientes con CCR. Es una afección autosómica dominante, con alta penetrancia.<sup>5</sup>

Este síndrome fue descrito por primera vez por Warthin en 1913 como cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC), que conlleva una predisposición hereditaria a desarrollar cáncer de colon, estómago y endometrio, seguido de cáncer ovárico, de intestino delgado, hepatobiliar, urotelial y otros.<sup>24</sup> Estudios recientes han determinado que la prevalencia en hombres es de 68.7%, mientras que en mujeres es del 52.2%, con una mediana de edad a los 62.2 años.<sup>10</sup> La identificación de estos pacientes es fundamental para ofrecer una mayor vigilancia del cáncer y cirugías profilácticas para reducir el riesgo de cáncer en los pacientes, así como en sus familiares.<sup>5</sup> Se caracteriza por mutaciones germinales en alguno de los genes MMR (MLH1 en un 50%, MSH2 en un 39%, MSH6 en un 7 % y PMS2 en menos del 4%).<sup>22</sup>

Los tumores RER+ o IMS presentan algunas características clínicas que los hacen diferentes del resto de CCR, lo cual permite englobarlos como un subtipo independiente: <sup>22</sup>

Los CCR con IMS tienen una evolución clínica menos agresiva, debido a la diferente vía carcinogénica seguida por estos tumores, con una menor tasa de mutaciones de los genes *APC* y *p53* y el factor transformador del crecimiento tipo beta. Otra posibilidad es que la alta carga mutacional de los tumores RER+ ejerza un efecto autodestructivo sobre el tejido tumoral y disminuya su potencial de metastatizar. Además, es probable que la respuesta inmunitaria frente a estos tumores sea mayor, y expresión de ello sería la reacción linfoide Crohn-like (*Figura 3*) que suelen presentar. <sup>12</sup>

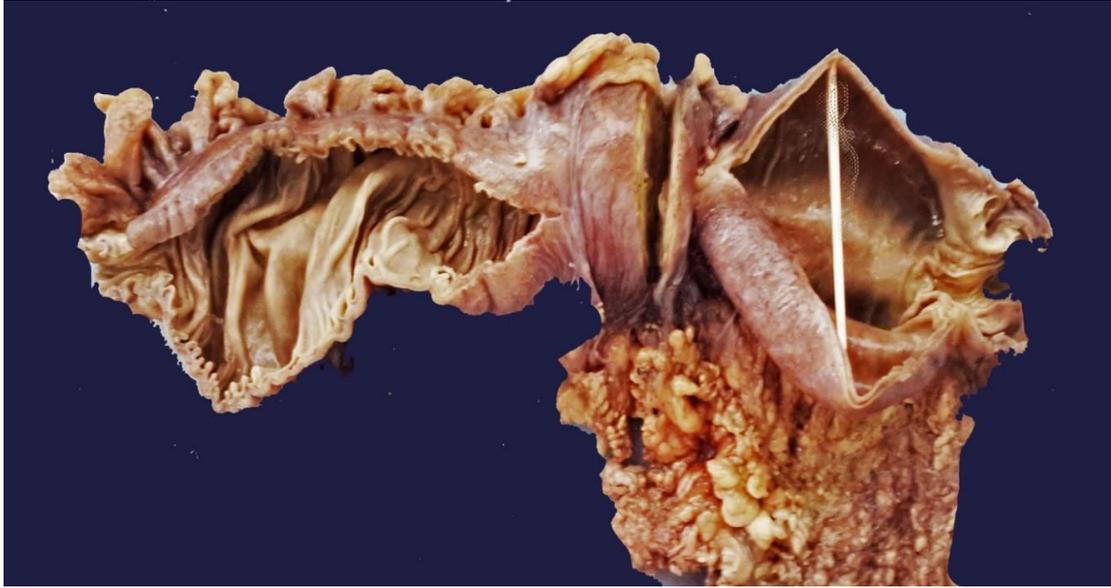
Una de las posibles explicaciones de los mecanismos por los cuales el estado de inestabilidad microsatelital ofrece un mejor pronóstico es la respuesta linfocítica sólida, la cual se ha postulado que se correlaciona con un microambiente inmunogénico de carga neoantigénica debido a una tasa de mutación elevada en los tumores de IMS. <sup>12</sup>

**Tabla 1.** Características histológicas y clínicas de los tumores con IMS.

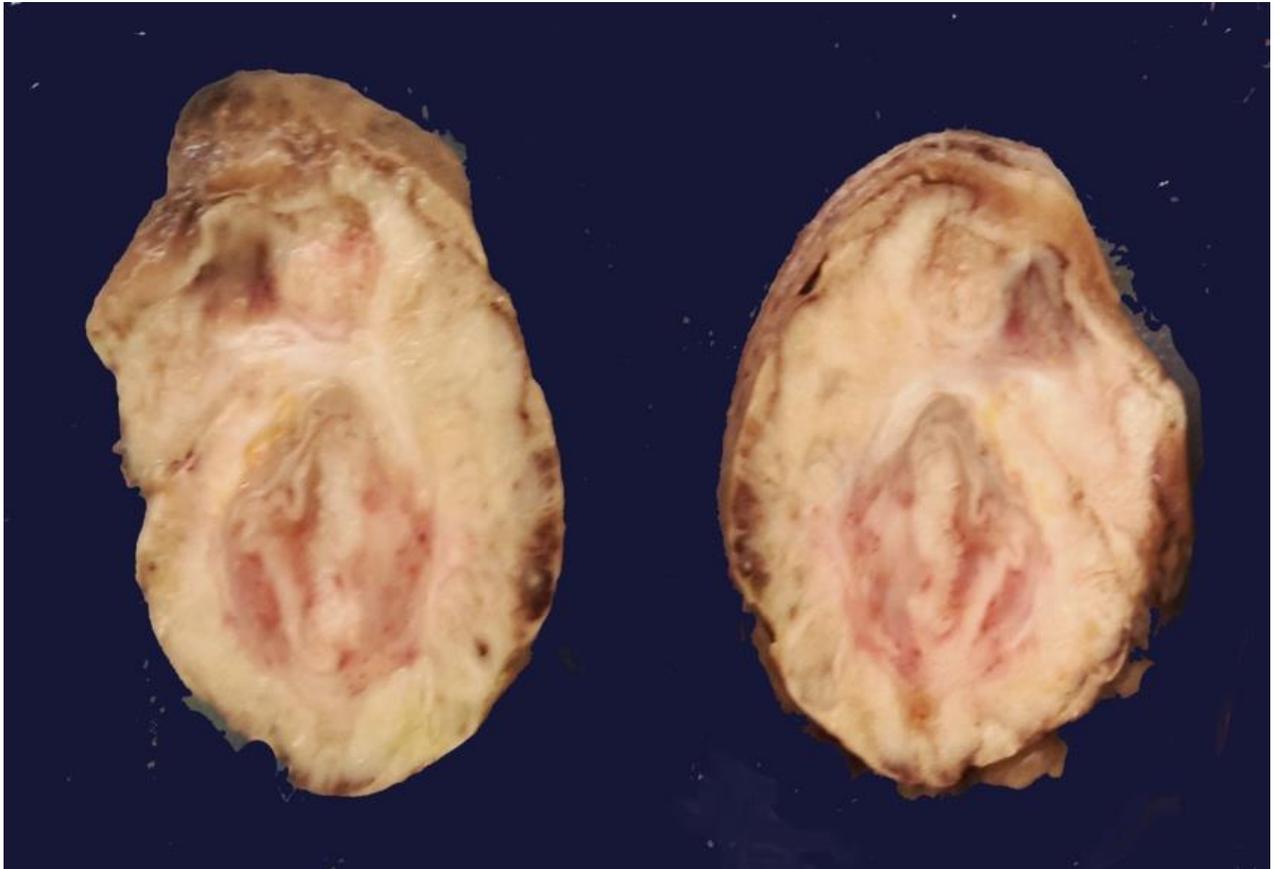
|  |
|--|
| <i>Mejor respuesta a la quimioterapia</i>                              |
| <i>Localización del lado derecho del colon (60%) (Figura 1 y 2)</i>    |
| <i>Menores de 50 años</i>  |
| <i>Tumores mal diferenciados</i>                                       |
| <i>Crecimiento mucinoso (34%)</i>                                      |
| <i>Reacción linfoide Crohn-like (79%) y células en anillo de sello</i> |

*Serrano, Miguel et al; Bethesda criteria for microsatellite instability testing: impact on the detection of new cases of Lynch syndrome; Familial Cancer Vol 11, (2012); pag 571–578*

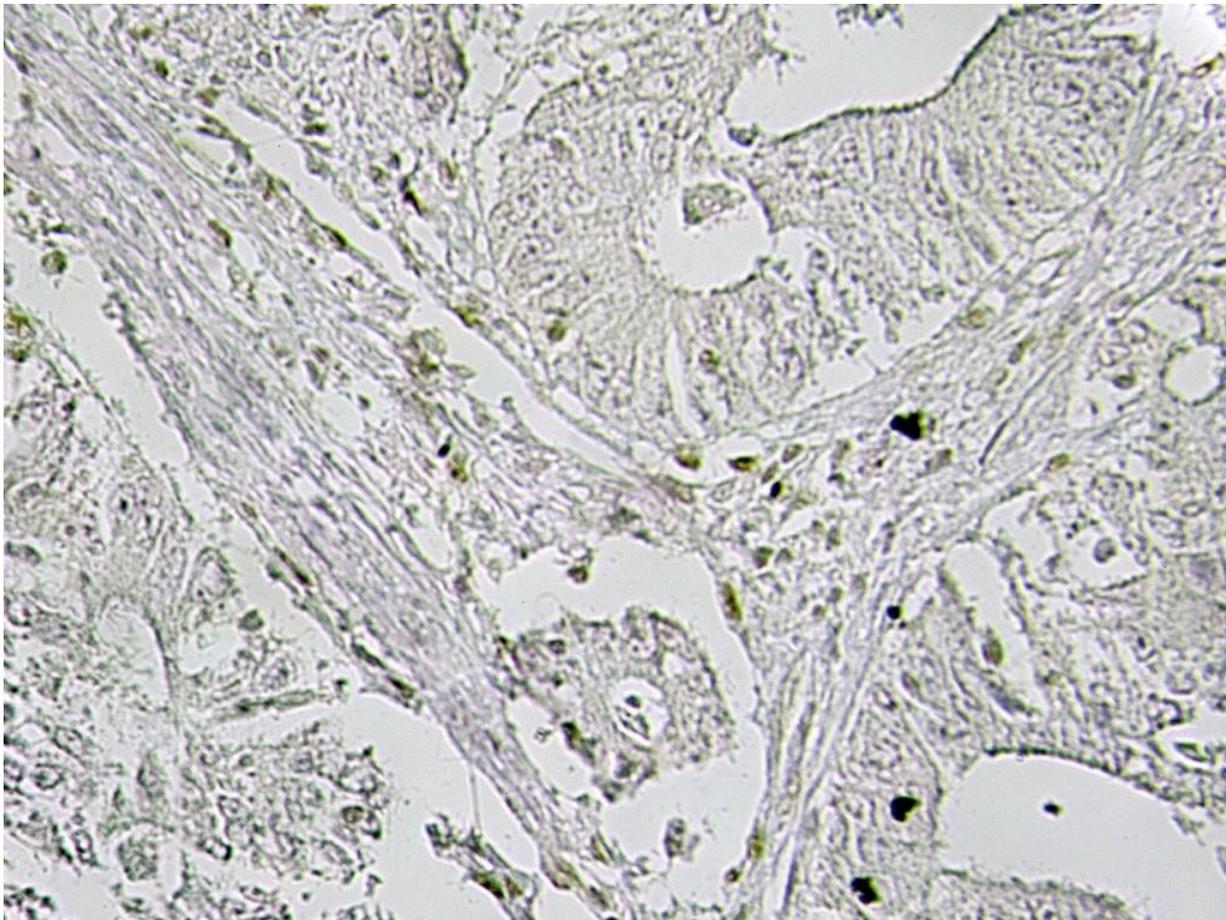
**Figura 1.** Adenocarcinoma de Colon derecho.



**Figura 2.** Adenocarcinoma de colon con crecimiento hacia la luz con obstrucción severa.



**Figura 3.** Linfocitosis en el estroma y en el epitelio glandular.



Los tumores RER+ no sólo tienen mejor pronóstico, sino que además parecen responder mejor al tratamiento quimioterápico con Irinotecán, y no como comúnmente se inicia el tratamiento con 5-Fluorouracilo (5FU). Se han propuesto mecanismos biológicos para explicar por qué la quimioterapia basada en 5FU no mejora los resultados en pacientes con IMS. Esto incluye los efectos inmunosupresores de la quimioterapia que disminuyen la respuesta inmune antitumoral que involucra la infiltración linfocítica característica de los tumores IMS. En segundo lugar, el sistema intacto de MMR asegura que 5FU se elimine de manera eficiente del ADN antes de que pueda interferir con los procesos metabólicos esenciales del ADN, tales como la transcripción, aumentando la concentración del fármaco y, por lo tanto, exacerba su citotoxicidad en pacientes con IMS, mientras que la ausencia del sistema MMR puede reducir la reparación del ADN y, por lo tanto, atenuar el efecto de 5FU en pacientes con IMS.<sup>13</sup>

### **Métodos de Detección**

El estudio de las alteraciones del mecanismo de reparación puede realizarse en 3 ámbitos:

- a)* Estudiando los genes directamente;
- b)* Analizando la presencia o ausencia de las proteínas codificadas,
- c)* Analizando microsatélites, que son la diana final donde actúan las proteínas reparadoras.

- **Análisis genético**

El análisis genético permite identificar la forma de inactivación del gen. Está especialmente indicado en casos con sospecha de CCRHNP, no solo para su confirmación sino también para la identificación de familiares portadores. El estudio se realiza mediante análisis de secuenciación y estudio de grandes reordenamientos de ADN genómico. En los casos esporádicos el gen está inactivado sólo en el ADN tumoral, mientras que en los casos de CCRHNP la mutación es germinal y, por tanto, también se halla presente en el ADN constitucional. La detección de la mutación permite identificar a los portadores asintomáticos e incluirlos en los programas de detección precoz.<sup>23</sup>

- **Análisis de microsatélites**

La característica molecular que define a los tumores RER+ es la presencia de inserciones o deleciones en secuencias de ADN repetitivas denominadas microsatélites, fenómeno conocido como IMS. En 1998 se acordó un panel de 5 marcadores microsatelitales. Dicho panel es el más utilizado actualmente y clasifica los tumores en tres grupos: <sup>23</sup>

- Tumores de alta IMS (inestabilidad en dos o más marcadores)
- Tumores de baja IMS (inestabilidad en un solo marcador)
- Tumores sin IMS o estables (EMS), cuando ningún marcador muestra IMS.

El análisis se realiza mediante Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), comparando en cada caso el tamaño de los alelos del tumor con su correspondiente ADN no tumoral (Tabla 2). En concreto con el BAT26 pueden detectarse más del 95% de tumores con IMS, por lo que en algunos trabajos se ha utilizado como único marcador.<sup>23</sup>

**Tabla 2.** Panel de marcadores de microsatélites.

| <b>Marcador</b> | <b>Tipo</b>    | <b>Localización</b> |
|-----------------|----------------|---------------------|
| <b>D2S123</b>   | Dinucleótido   | 2p21-2p16           |
| <b>D5S346</b>   | Dinucleótido   | 5q21-5q22           |
| <b>D17S250</b>  | Dinucleótido   | 17q11,2-17q12       |
| <b>BA T-25</b>  | Mononucleótido | 4q12                |
| <b>BA T-26</b>  | Mononucleótido | 2p16                |

- **Análisis inmunohistoquímico**

La inactivación de los genes reparadores de errores de replicación lleva, en la mayoría de los casos, a una pérdida de expresión inmunohistoquímica de las proteínas codificadas por estos genes. La sensibilidad y especificidad de esta técnica para la identificación de tumores con IMS son muy altas, superiores al 85%, aun a pesar de que la mayoría de ellos sólo estudia MLH1 y MSH2.<sup>13</sup>

El análisis de expresión inmunohistoquímica es una técnica sencilla y barata, fácil de realizar en cualquier laboratorio en el que se hagan de forma habitual tinciones inmunohistoquímicas, como es el caso de la mayoría de los servicios de anatomía patológica. Además, permite identificar la proteína no expresada y el gen inactivado.<sup>13</sup>

Actualmente, es objeto de debate si la inmunohistoquímica puede sustituir al análisis de microsatélites como técnica inicial para la identificación de tumores con alteraciones de la vía reparadora.<sup>13</sup>

El estudio inmunohistoquímico se realiza habitualmente sobre tejido fijado en formol e incluido en parafina. Cuando se analizan las proteínas reparadoras, hay que tener en cuenta que la inactivación de *MLH1* se asocia con pérdida de expresión de *PMS2* y que la inactivación de *MSH2* se asocia con la pérdida de *MSH6*, debido en ambos casos a la falta de estabilización del heterodímero MLH1- PMS2 o MSH2-MSH6.<sup>13</sup>

Los genes *MLH1* y *MSH2* son los que se inactivan en más del 90% de los tumores con IMS. En un pequeño porcentaje se identifican mutaciones en *MSH6* y presentan frecuentemente baja IMS. Las mutaciones en el resto de los genes reparadores son excepcionales.<sup>13</sup>

Los tumores esporádicos con alteración del MMR, se originan debido a inactivación por hipermetilación del promotor del gen *MLH1*.<sup>22</sup> En los tumores del Síndrome de Lynch puede observarse pérdida de expresión de cualquiera de las proteínas MMR (*MLH1* 50%, *MSH2* 39%, *MSH6* 7% y *PMS2* <4%). Un mínimo porcentaje (5% aprox.) de pacientes con mutación germinal puede mostrar expresión conservada de las cuatro proteínas.<sup>23</sup>

### **Criterios Ámsterdam II y Revisión de Criterios Bethesda**

Para el diagnóstico del CCRHNP se han reunido criterios diseñados para identificar a las familias con predisposición a dicha enfermedad, entre ellos los criterios Amsterdam I (1991) y posteriormente modificados, Amsterdam II (1995). Sin embargo, estos últimos presentan baja sensibilidad por su alta exigencia. Aunque inicialmente se consideraron muy específicos, recientes estudios han demostrado que solo el 60% de los pacientes que cumple con estos criterios, tiene mutaciones germinales en los genes MMR.<sup>13</sup>

Otros criterios seleccionados para decidir en qué grupos de pacientes se debe realizar el estudio de IMS, son criterios de Bethesda<sup>4</sup>. Si un paciente con CCR cumple alguno de estos criterios, está indicada la realización de técnicas de biología molecular sobre el tejido tumoral para determinar si nos encontramos ante un tumor con errores de replicación (RER+).<sup>4</sup>

En estudios realizados se han identificado que en pacientes con CCR en quienes se realizan análisis de IMS en tejido tumoral y determinación de mutaciones en los genes *MLH1* y *MSH2*, y a quienes se detectaron que presentaban IMS, el 94% cumplían al menos uno de estos 3 criterios clínicos: edad menor de 50 años, presencia de casos metacronos o síncronos de CCR o cáncer de endometrio o existencia de familiares en primer grado con CCR o cáncer de endometrio.<sup>10</sup>

**Tabla 3.** Criterios Ámsterdam II.

|  |
|--|
| <p>1. <i>Tres o más familiares con cáncer de la esfera del CCRHNP<sup>[1][2]</sup> (cáncer colorrectal, endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal), de los que al menos uno de ellos sea familiar en primer grado de los otros 2</i></p> <p>2. <i>Cáncer colorrectal que afecta al menos a 2 generaciones.</i></p> <p>3. <i>Al menos un cáncer diagnosticado antes de los 50 años.</i></p> <p>4. <i>Debe excluirse el diagnóstico de poliposis colónica familiar.</i></p> |
| <p>5.</p>  |

F. Gelsomino et al, *The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review* ; Cancer Treatment Reviews, vol 51, 2016, pag. 19–26.

**Tabla 4.** Revisión de Criterios Bethesda.

1. *Individuos con CCR diagnosticados antes de los 50 años*
2. *Presencia de CRC sincrónico, metacrónico o u otros tumores asociados a CCRHNP*
3. *CCR con IMS-Alta diagnosticados antes de los 60 años*
4. *CRC diagnosticado en 1 o más familiares de primer grado con un tumor relacionado con CCRHNP, con uno de los cánceres diagnosticado antes de los 50 años.*
5. *CRC diagnosticado en 2 o más familiares de primer o segundo grado con tumor relacionado con CCRHNP independientemente de la edad.*

Serrano, Miguel et al; *Bethesda criteria for microsatellite instability testing: impact on the detection of new cases of Lynch syndrome*; Familial Cancer Vol 11, 2012, pag 571–578.



Se denominan CCR sincrónicos a los tumores que, siendo independientes, se diagnostican al mismo tiempo o en los primeros seis meses después del primer diagnóstico. Se estima que entre el 5-10% de los tumores de colon son múltiples. Los tumores sincrónicos, normalmente, se originan sobre un sustrato etiológico común, bien genético o ambiental. En este sentido se conocen diferentes entidades que aumentan el riesgo de presentar CCR sincrónico, entre ellas se encuentran los síndromes de CCR heredo familiar.<sup>13</sup>

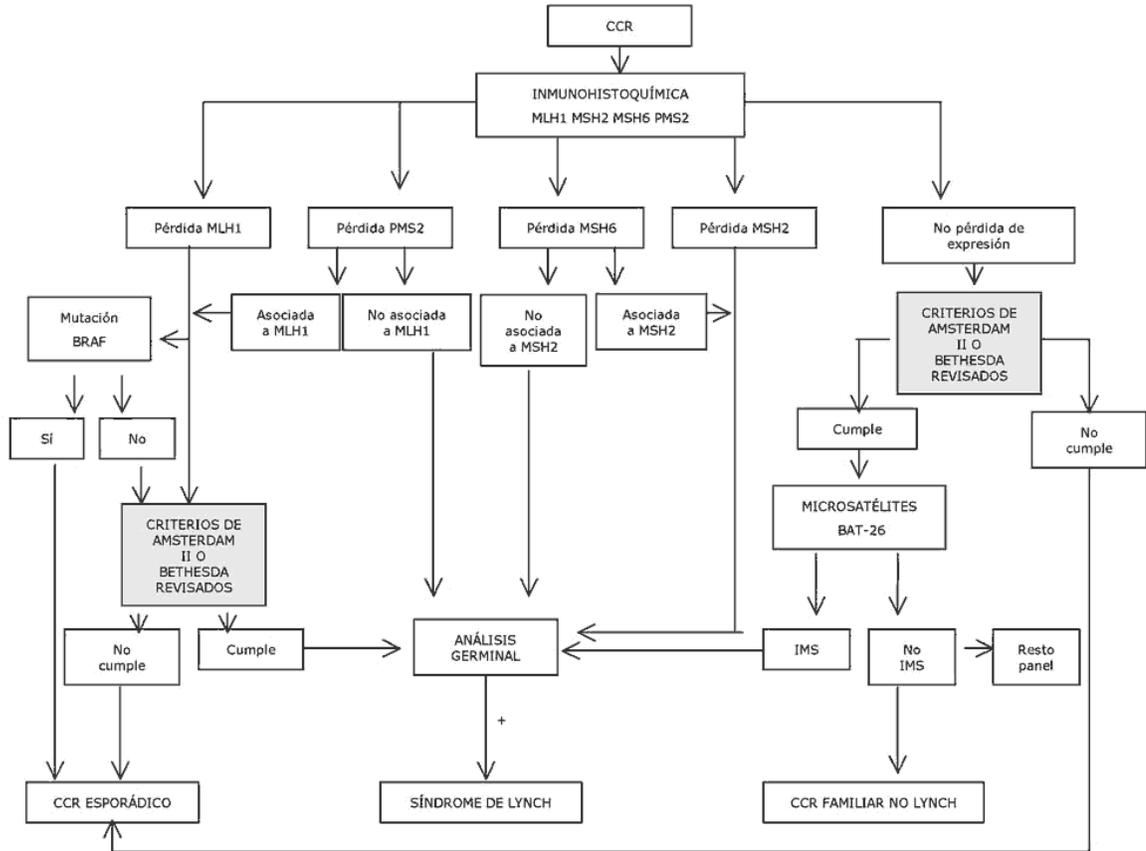
Si hay IMS o no existe expresión de las proteínas MLH1 o MSH2, el siguiente paso sería la realización de un test genético que confirme el diagnóstico de CCRHNP. Se recomienda evaluar todos los cánceres colorrectales recién diagnosticados, independientemente de la edad y los antecedentes familiares del paciente, ya que >25% de los pacientes con Síndrome de Lynch no cumplen con los criterios de Amsterdam II o Bethesda.<sup>22</sup>

En ese contexto, solo se puede realizar una prueba, ya sea inmunohistoquímica o análisis MSI, porque el costo de las pruebas se convertirá en un problema.

Por eso se propone una estrategia que demuestra importante costo-efectividad en tan solo 3 pasos:

1. Revisión de Criterios Bethesda
2. Análisis de IMS (*Figura 4*)
3. Test genético (previo consentimiento firmado por el paciente)

**Figura 4.** Algoritmo para identificación de Síndrome de Lynch, partiendo del análisis inmunohistoquímico.



*Payá Roma, Artermio et al; Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica; Revista Española Patología 2006; Vol 39, No.4; 201-208*

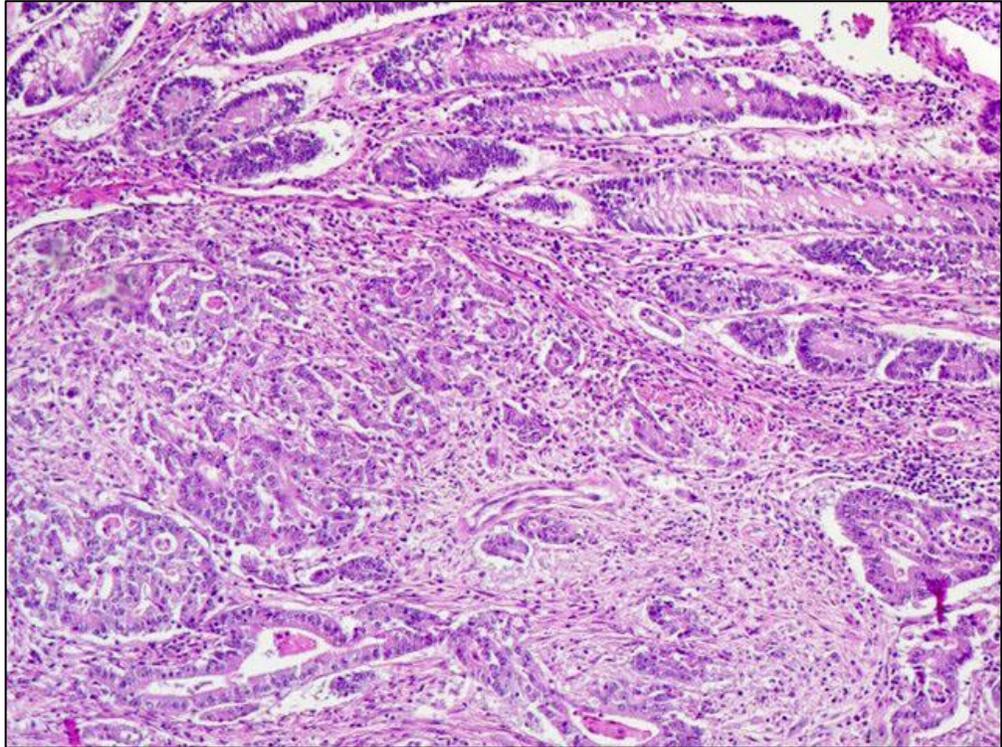
## **Evaluación de IMS por inmunohistoquímica**

El estudio inmunohistoquímico se realiza sobre tejido fijado en formol e incluido en parafina. Para su valoración siempre se dispone de controles internos o testigo, necesarios para poder determinar la ausencia de expresión en un tumor (*Figura 5.*) Un caso se considera con ausencia de expresión cuando no se observa inmunotinción en ninguna célula neoplásica.<sup>23</sup>

El resultado inmunohistoquímico debe expresarse como presencia o ausencia de expresión de cada una de las proteínas o como no valorable si no se obtienen controles internos o testigos adecuados (*Figura 6 y 7.*) No deben establecerse valoraciones semicuantitativas basadas en la intensidad y porcentaje de inmunotinción porque se ha demostrado que esta no se correlaciona con la presencia de inactivación génica. Los términos positivo o negativo también deben evitarse, ya que pueden inducir a confusión del resultado que se desea expresar.<sup>23</sup>

Para detectar los casos de CCR esporádicos con IMS, la inmunohistoquímica tiene una sensibilidad y especificidad del 100%. En cambio, el síndrome de Lynch hasta un 5% no se detecta pérdida de la expresión del gen mutado. Para detectar estos casos se hace necesario recurrir al análisis de microsatélites.

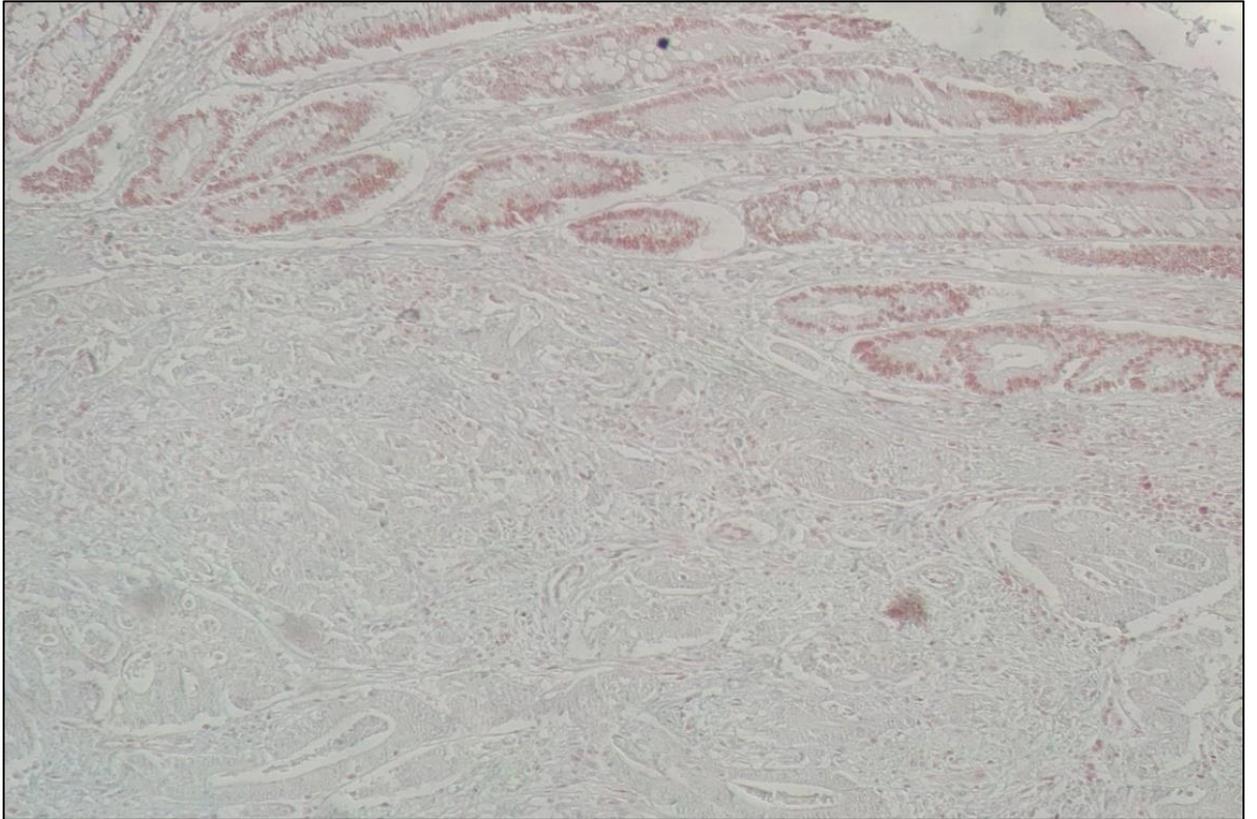
**Figura 5.** Adenocarcinoma de colon con mucosa normal en su tercio superior.



Tinción en Hematoxilina-Eosina (H:E).

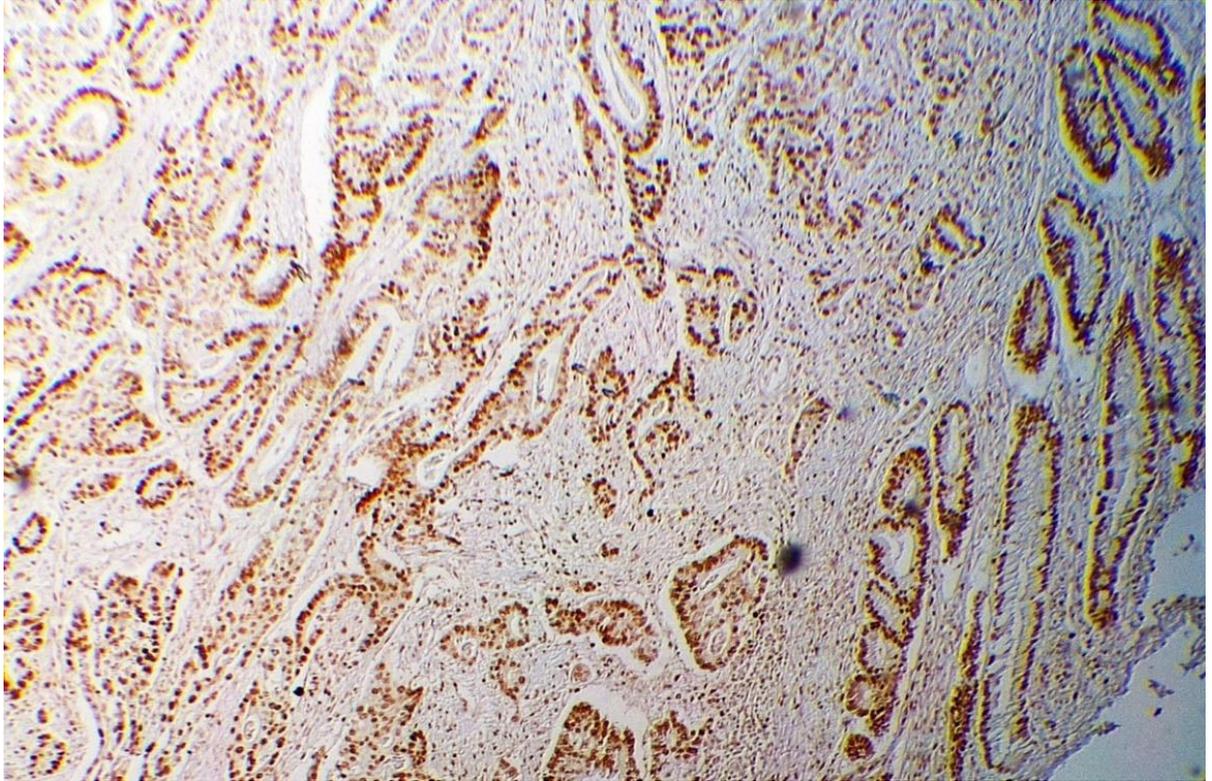
Muestra con controles normales o testigos.

**Figura 6.** Falta de expresión de MSH1 en zona de adenocarcinoma.



Positivo en mucosa normal del colon (zona superior).

**Figura 7.** Expresión de MSH2 en el tumor y en mucosa normal (derecha).



**Fig. 7** Expresión de MSH2 en el tumor y en mucosa normal (derecha)

**Figura 8.** Patrón de reporte de expresión de genes MMR y su interpretación.

| <b>Immunohistochemical staining patterns and interpretation for MMR proteins</b> |             |             |             |  |
|--|-------------|-------------|-------------|--|
| <b>MLH1</b>  | <b>MSH2</b> | <b>MSH6</b> | <b>PMS2</b> | <b>Interpretation</b>                      |
| +  | +           | +           | +           | Intact MMR*                                |
| -  | +           | +           | -           | MLH1 germline mutation or hypermethylation |
| +  | -           | -           | +           | MSH2 germline mutation                     |
| +  | +           | -           | +           | MSH6 germline mutation                     |
| +  | +           | +           | -           | PMS2 germline mutation                     |

+, positive nuclear staining (normal expression); -, negative staining (loss of expression); \*There are rare examples of germline mutations in other genes that may produce detectable protein by immunohistochemistry but still cause MSI

*Payá Roma, Artermio et al; Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica;REV ESP PAT 2006; Vol 39, No.4; 201-208*

## **VI. MATERIALES Y MÉTODO**

### **A. Diseño del estudio**

Transversal analítico.

### **B. Población y periodo de estudio**

Pacientes con diagnóstico histopatológico de cáncer de colon y recto, ingresados en el Hospital General del Estado de Sonora “Dr. Ernesto Ramos Bours”, en el periodo de enero 2017 a junio 2019.

### **C. Criterios de muestreo y tamaño de la muestra**

No probabilístico, por conveniencia. Tamaño indeterminado.

### **D. Criterios de selección**

*Criterios de inclusión:*

1. Pacientes con diagnóstico histopatológico de Cáncer de colon o recto, hospitalizados en el periodo del 01 de enero de 2017 al 31 de junio de 2019 en el Hospital General del Estado de Sonora.
2. Género indistinto.
3. Contar con expediente electrónico/físico en el Departamento de Archivo.
4. Contar con laminilla y bloque de parafina en buenas condiciones.

*b. Criterios de exclusión:*

1. Expedientes incompletos o ilegibles.
2. Menores de 18 años.

3. Laminilla o bloque de parafina incompleto/mala calidad.

### **E. Descripción metodológica del estudio**

Para la investigación se solicitó un listado de los expedientes con diagnóstico histopatológico de Cáncer de Colon y Recto al Servicio de Epidemiología e Informática de la institución, así como al Servicio de Patología, durante el periodo de enero del 2017 a junio del 2019. Posteriormente se revisaron dichos expedientes, tras ser solicitados en el archivo clínico, asimismo se verificaron los expedientes electrónicos del sistema ASSIST. La información se recolectó, conforme a las variables de interés establecidas para el estudio y se registró en una hoja de cálculo realizada en Excel versión 2010 para Windows.

Posteriormente, se acudió al Departamento de Patología para buscar las laminillas y bloques de parafina correspondiente a cada paciente de acuerdo a los registros internos del propio departamento.

### **F. Categorización de las variables según la metodología**

La definición operacional de las variables se describe a continuación en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Definición operacional de las variables.

| <b>Variable</b>  | <b>Definición Operacional</b>  | <b>Tipo de variable</b> | <b>Escala de medición</b> | <b>Unidad de medida</b>   |
|--|--|-------------------------|---------------------------|---|
| <b>Edad</b>  | Tiempo que ha vivido una persona   | Independiente           | Cuantitativa              | Años  |
| <b>Sexo</b>  | Condición orgánica, masculina o femenina.  | Independiente           | Cualitativa               | Femenino<br>Masculino   |
| <b>Comorbilidades</b>  | Presencia de uno o más enfermedades además de la enfermedad o trastorno primario                           | Independiente           | Cualitativo               | Diabetes Mellitus 2<br>Hipertensión Arterial Sistémica<br>Antecedentes de Otras patologías. |
| <b>IMC</b>   | Peso/altura <sup>2</sup>   | Independiente           | Cualitativo               | Kg/m <sup>2</sup>   |
| <b>Consumo de alcohol</b>                                      | Ingesta de alcohol   | Independiente           | Cualitativo               | Si<br>No  |
| <b>Antecedentes heredofamiliares</b>                           | Presencia en familiares de 1er o 2do grado de CCR  | Dependiente             | Cuantitativo              | Si<br>No  |
| <b>Otros tipos de Cáncer relacionado con Síndrome de Lynch</b> | Presencia de familiares de 1er o 2do grado con otro tipo de Cáncer como Estómago, Ovario, Páncreas, Vejiga | Independiente           | Cualitativo               | Si<br>No  |
| <b>Tipo de Cirugía</b>   | Paciente al que se le realiza cirugía ya sea programada o como urgencia                                    | Independiente           | Cuantitativo              | Urgencia<br>Electiva  |
| <b>Localización del tumor</b>                                  | Localización del tumor dentro del colon o recto  | Independiente           | Cuantitativo              | Derecho<br>Izquierdo  |
| <b>Permeación linfovascular</b>                                | Presencia de invasión de células tumorales a vasos sanguíneos o linfáticos                                 | Independiente           | Cuantitativo              | Si<br>No  |
| <b>Tumor sincrónico</b>  | Presencia de tumor de colon en otra localización diferente al tumor primario en el mismo evento quirúrgico | Independiente           | Cuantitativo              | Si<br>No  |
| <b>Grado de diferenciación</b>                                 | Reporte histopatológico  | Dependiente             | Cualitativo ordinal       | Adenocarcinoma<br>-No diferenciado<br>-Moderadamente diferenciado<br>-Bien diferenciado     |
| <b>Producción de mucina</b>                                    | Reporte histopatológico  | Independiente           | Cualitativo nominal       | Mucinoso<br>No mucinoso   |
| <b>Etapas clínicas</b>   | Estadio en el que se encuentra la enfermedad al momento del diagnóstico                                    | Independiente           | Cualitativo               | E1<br>E2<br>E3<br>E4  |
| <b>Presencia de IMS</b>  | Falta de expresión de MLH1 o MSH2  | Independiente           | Cualitativo               | Si<br>No  |
| <b>Gen afectado</b>  | Gen no expresado en la inmunotinción   | Independiente           | Cualitativo               | MLH1<br>MSH2  |

## **G. Análisis de datos**

La descripción de la distribución de variables se realizó por frecuencias en las variables numéricas y en proporciones en las variables categóricas. Se valoró el efecto individual de las variables determinantes sobre la inestabilidad microsatelital con análisis univariado logístico. Para estimar el efecto conjunto de los determinantes estudiados se utilizó regresión lineal logística multivariada. Se realizaron pruebas de efecto de interacción sobre la variable independiente y se analizó en estratos en función de las variables de interacción. La significancia estadística se consideró a una  $p \leq 0.05$ . todos los análisis se hicieron en el software NCSS versión 12 (2019).

## **H. Recursos empleados**

### *a. Recursos humanos:*

1. Médico residente de cuarto de año de Cirugía general
2. Médico interno de pregrado
3. Jefe del servicio de Oncocirugía
4. Jefe del servicio de Patología
5. Encargado de inmunohistoquímica dentro del servicio de Patología
6. Asesor estadístico

### *c. Recursos físicos:*

1. La información será recabada de la revisión de expedientes clínicos
2. Equipo de cómputo personal y de escritorio propiedad de los participantes de este estudio
3. Anticuerpos para la realización de inmunohistoquímica

4. Kit de visualización.

d. *Recursos financieros:*

Los recursos financieros fueron otorgados por el Hospital General del Estado de Sonora, Tutor de tesis y tesista.

## **I. Aspectos éticos de la investigación**

El presente trabajo se condujo en completa observancia de los preceptos bioéticos establecidos en la Declaración de Helsinki, el Título Quinto de la Ley General de Salud y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud. Dada la naturaleza retrospectiva en la recolección de los datos, se revisaron las normas inscritas en las Normas Oficiales Mexicanas, siendo aplicables para el caso la NOM-017-SSA2-1994, NOM-168-SSA1-1998 y la NOM-024-SSa3-2012, los cuales tratan sobre la vigilancia epidemiológica, correcta creación del expediente clínico y el registro electrónico para la salud. No se identificaron conflictos éticos.

## **VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se encontraron un total de 351 casos en el periodo de tiempo considerado, de los cuales se excluyeron 250 pacientes que se encontraban mal clasificados, quedando un total de 101 pacientes elegibles; al finalizar, solo 20 pacientes reunieron los criterios de inclusión establecidos previamente (**ANEXOS**).

La descripción de los sujetos de estudio se muestra en la **Tabla 6**.

**Tabla 6.** Descripción de sujetos de estudio (n=20).

| <b>Variable</b>                                  | <b>Clasificación</b>       | <b>Proporción</b>     |     |
|--|----------------------------|-----------------------|-----|
| <b>Sexo</b>                                      | Femenino                   | 45%                   |     |
|  | Masculino                  | 55%                   |     |
| <b>Edad</b>                                      | <50 años                   | 35%                   |     |
|  | ≥50 años                   | 65%                   |     |
| <b>IMC</b>                                       | <29                        | 65%                   |     |
|  | >29                        | 35%                   |     |
| <b>Comorbilidades</b>                            | No                         | 35%                   |     |
|  | Sí                         | Diabetes mellitus 2   | 25% |
|  |                            | Hipertensión arterial | 25% |
|  |                            | Hipotiroidismo        | 5%  |
|  |                            | ERC                   | 5%  |
| <b>Uso de sustancias</b>                         | Tabaco (positivo)          | 30%                   |     |
|  | Alcohol (positivo)         | 60%                   |     |
| <b>Antecedentes heredofamiliares</b>             | Sí                         | 20%                   |     |
|  | No                         | 80%                   |     |
| <b>Otros tipos de cáncer</b>                     | Sí                         | 20%                   |     |
|  | No                         | 80%                   |     |
| <b>Programación de cirugía</b>                   | Electiva                   | 80%                   |     |
|  | Urgencia                   | 20%                   |     |
| <b>Estadio clínico (n=15)*</b>                   | I                          | 26.66%                |     |
|  | IIA                        | 40%                   |     |
|  | IIB                        | 6.66%                 |     |
|  | IIIB                       | 20%                   |     |
|  | IVA                        | 6.66%                 |     |
| <b>Grado de diferenciación de adenocarcinoma</b> | Bien diferenciado          | 50%                   |     |
|  | Moderadamente diferenciado | 45%                   |     |
|  | Poco diferenciado          | 5%                    |     |
| <b>Localización tumoral</b>                      | Derecho                    | 25%                   |     |
|  | Recto                      | 35%                   |     |
|  | Sigmoides                  | 40%                   |     |
| <b>Presencia de tumores sincrónicos</b>          | Sí                         | 15%                   |     |
|  | No                         | 85%                   |     |

\*Cinco casos no contaban con el dato de estadificación.

Al evaluar la falta de expresión de los genes encargados de la reparación del MMR, se reportó como ausencia de tinción ya sea a MLH1 o MSH2 como positivo a Inestabilidad Microsatelital; de los 20 casos reportados, 4 pacientes (20%) presentaron ausencia de tinción a dichos marcadores (**Tabla 7**).

De los 4 pacientes con IMS, 3 presentaban falta de expresión del gen MLH1(75%); de acuerdo al estudio realizado por Flemming et al. (2012), hasta el 50% de los casos del cáncer colorrectal con IMS presentaron alteración en esta línea germinal; mientras que la falta de expresión del gen MSH2 en el presente trabajo se encontró en 1 caso (25%), mientras que en el citado estudio se menciona hasta un 39% de los casos con falta de expresión para este gen.

Al establecer la frecuencia de localización de los tumores en pacientes con IMS, se identificó que el lado derecho fue el sitio más frecuente, estadísticamente significativo con un valor de  $p < 0.001$  (**Tabla 8**), lo que es consistente con la Revisión de los Criterios Bethesda, que mencionan esta característica que diferencia estos tumores con errores de replicación del resto de los tumores, referido por Mark E Jenkins (2007).

Referente a la presencia de tumores sincrónicos, se encontraron 3 casos, de los cuales 1 presentó IMS, con falta de expresión del gen MLH1, pero no resultó asociado estadísticamente significativo con la presencia de IMS.

De los determinantes explorados para la presencia de la inestabilidad microsatelital, se identificó como factor de riesgo el tabaquismo, presentando un valor de  $p < 0.001$  (**Tabla 9**). Cabe mencionar que fue un factor modificador de efecto (interacción) del antecedente familiar sobre la presencia de IMS (**Tabla 10**).

**Tabla 7.** Resultado de la inmunotinción.

| No. de paciente | Reporte histopatológico | Expresión MLH1 | Expresión MSH2 | Interpretación                     |
|-----------------|-------------------------|----------------|----------------|------------------------------------|
| 1               | Q-19-100                | +              | +              |                                    |
| 2               | Q-19-227                | +              | +              |                                    |
| 3               | Q-19-421                | +              | -              | Mutación en la línea germinal MSH2 |
| 4               | Q-19-1624               | -              | +              | Mutación en la línea germinal MLH1 |
| 5               | Q-19-1668               | +              | +              |                                    |
| 6               | Q-18-1207               | +              | +              |                                    |
| 7               | Q-18-2602               | +              | +              |                                    |
| 8               | Q-18-1203               | +              | +              |                                    |
| 9               | Q-18-2325               | +              | +              |                                    |
| 10              | Q-18-1353               | +              | +              |                                    |
| 11              | Q-18-1300               | -              | +              | Mutación en la línea germinal MLH1 |
| 12              | Q-18-1808               | +              | +              |                                    |
| 13              | Q-18-889                | +              | +              |                                    |
| 14              | Q-18-2691               | +              | +              |                                    |
| 15              | Q-18-829                | -              | +              | Mutación en la línea germinal MLH1 |
| 16              | Q-18-2286               | +              | +              |                                    |
| 17              | Q-18-913                | +              | +              |                                    |
| 18              | Q-18-898                | +              | +              |                                    |
| 19              | Q-17-2713               | +              | +              |                                    |
| 20              | Q-17-1673               | +              | +              |                                    |

**Tabla 8.** Análisis univariado de factores determinantes e inestabilidad microsatelital (IMS) por inmunohistoquímica

| <b>Variable</b>                                |                   | <b>RM</b> | <b>p*</b> |
|--|-------------------|-----------|-----------|
| <b>Edad (años)</b>                             |                   | 1.00182   | 0.969     |
| <b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>                  |                   | 0.972     | 0.818     |
| <b>Comorbilidades (hipertensión, diabetes)</b> |                   | 0.555     | 0.642     |
| <b>Tabaquismo</b>                              |                   | 0.733     | 0.807     |
| <b>Alcoholismo</b>                             |                   | 0.259     | 0.283     |
| <b>Antecedente familiar</b>                    |                   | 45.0      | 0.014     |
| <b>Otro tipo de cáncer</b>                     |                   | 7.0       | 0.120     |
| <b>Localización</b>                            | Derecho           | >100      | <0.001    |
|  | Sigmoides o recto | >100      | <0.001    |
| <b>Grado de diferenciación (moderado)</b>      |                   | 0.291     | 0.330     |
| <b>Producción de mucina</b>                    |                   | 7.0       | 0.120     |
| <b>Estadio clínico</b>                         | IIa, IIb          | 1.2       | 0.89      |
|  | IIIa, IIIb, IVa   | 1.0       | 1.0       |
| <b>Tumor sincrónico</b>                        |                   | 2.33      | 0.539     |

\*Análisis por Regresión logística.

**Tabla 9.** Análisis multivariado de determinantes significativos y su asociación con la presencia de inestabilidad microsatelital.

| <b>Variable</b>         | <b>RM</b> | <b>p</b> |
|-------------------------|-----------|----------|
| Tabaquismo              | 0.00206   | <0.001   |
| Otro cáncer             | 9.99      | 0.004    |
| Grado de diferenciación | 0.00031   | <0.001   |
| Tumor sincrónico        | >10000    | <0.001   |

\*Análisis por Regresión logística multivariada.

**Tabla 10.** Análisis estratificado de la asociación de determinantes sobre la inestabilidad microsatelital en función del tabaquismo o localización del tumor.

| <b>Variable</b>  | <b>Estratos*</b>  | <b>RM</b> | <b>p</b> |
|--|-------------------|-----------|----------|
| Antecedente familiar (positivo)                          | Fumadores         | 54.0      | <0.001   |
|  | No fumadores      | 20.0      | 0.063    |
| Grado de diferenciación (1=moderado o poco diferenciado) | Derecho           | 0.0       | 0.98     |
|  | Recto o sigmoides | >10000    | <0.001   |

\*Significancia estadística (p<0.1).

De los 4 casos que resultaron positivos a Inestabilidad Microsatelital o con falta de expresión de los genes reparadores, se sospecha de 2 pacientes que podrían ser portadores de Síndrome de Lynch, ya que además de presentar inestabilidad microsatelital, también cuentan con Criterios Amsterdam II y Revisión de criterios Bethesda positivos, a pesar de que el 60 y 25%, respectivamente, de los cánceres colorrectales hereditarios no polipósicos resultan no cumplir con todos estos criterios.

Comparándolo con un estudio llevado a cabo por Serrano et al. (2012) en el que su población estudiada era de 174 pacientes, de los cuales el 28.2% cumplió con la Revisión de Criterios Bethesda, de estos, 16 pacientes (32.7%) resultaron positivos en el estudio de inestabilidad microsatelital

Todo lo anterior tiene relevancia al decidir el tratamiento adyuvante con quimioterapia, ya que como se menciona en el estudio realizado por Buecher et al. (2013) y Ruby Gupta et al. (2018), se ha visto que la respuesta no es favorable cuando se indica 5-Fluorouracilo. Una de las causas del mejor pronóstico, es la presencia de una infiltración severa de linfocitos T en el estroma, sin diferencia entre casos de IMS esporádica o Síndrome de Lynch y la detección en estadios tempranos; al identificarse en etapas tempranas, mejora la supervivencia, según lo encontrado en el estudio realizado por Beamer et al (2016), que en general la sobrevida para el CCR a los 5 años es del 65%, pero dependiendo del estadio, puede variar desde: estadio I de 90%, mientras que en estadio IV es de 15%.

Además de los objetivos planteados al inicio de este estudio, observamos que el 100% de los casos con inestabilidad microsatelital se establecieron en el sexo femenino; no se encontró en la literatura un predominio establecido para el sexo femenino. Sin embargo, se menciona en

el estudio realizado por Gelsomino et al (2016) que dentro de los casos con IMS, los casos esporádicos se dan más en el sexo femenino, además de una alta asociación con el tabaquismo.

El efecto encontrado de los factores determinantes sobre la presencia de inestabilidad microsatelital no es representativo de los casos tratados en el hospital debido al limitado número de sujetos incluidos en el estudio.

Sin embargo, con base a lo encontrado se recomienda ampliamente volver a explorar el efecto de las variables encontradas como significativas en un número mayor de individuos.

## **VII. CONCLUSIONES**

Dentro de las limitaciones que encontramos al realizar nuestro estudio fue el tamaño de la muestra, al inicio se contaba con 101 casos elegibles para realizar inmunohistoquímica, pero la mayoría se encontraba con laminillas y bloques de parafina en malas condiciones o extraviado; además únicamente se contó con dos de los 4 anticuerpos para realizar la inmunotinción. Sin embargo, según menciona Vilar et al. (2014) más del 90% de los casos pueden detectarse únicamente con los anticuerpos MLH1 y MSH2, que fueron los utilizados en este estudio.

La importancia de la detección de IMS en pacientes con CCR radica en detectarlos en etapas tempranas y planear un mejor manejo tanto quirúrgico como quimioadyuvante, ya que estos tumores no presentan respuesta al tratamiento con 5-Fluoracilo, antimetabolito empleado en los esquemas habituales para CCR.

Este estudio tuvo como finalidad la búsqueda de casos que presentaran inestabilidad microsatelital como vía de carcinogénesis, ya que a pesar de que no es la vía más frecuente, es de cierta manera fácil y sencilla de diagnosticar, ya que la realización de inmunohistoquímica dirigida a detectar la falta de expresión de genes reparadores del MMR se puede realizar en la mayoría de los laboratorios de patología y el obtener dicha caracterización provee información crucial para el manejo y pronóstico de los pacientes.

Pese a las limitaciones de nuestro estudio, resulta notable que la totalidad de casos positivos a IMS se presentó en el sexo femenino, y que la incidencia encontrada estuviera por encima de lo establecido en la literatura. En cuanto a la localización hubo coincidencia en que la mayoría de los casos se presenta en lado derecho.

Para los casos sospechosos de Síndrome de Lynch sería altamente recomendable realizar estudios diagnósticos como colonoscopias a familiares de primer y segundo grado con el fin de detectar cáncer colorrectal de forma temprana, y así mejorar la sobrevida de los casos positivos, además de iniciar con una búsqueda dirigida de otros tipos de cáncer relacionados con el Síndrome, como el gástrico, intestinal, pelvis renal, y ovario en mujeres.

## IX. LITERATURA CITADA

- 1.-Jordan J. Karlitz, et al, *Population-Based Lynch Syndrome Screening by Microsatellite Instability in Patients  $\leq 50$ : Prevalence, Testing Determinants, and Result Availability Prior to Colon Surgery*, *The American Journal of Gastroenterology* Vol 110, (2015), pag 786-781
- 2.-Coelho et al; *A systematic review of test accuracy studies evaluating molecular microsatellite instability testing for the detection of individuals with lynch syndrome*; *BMC Cancer* (2017): Pag 836
- 3.-C. Richard Boland; *Recent discoveries in the molecular genetics of Lynch syndrome*; *Familial Cancer* Vol 15, (2016), Pag 395–403
- 4.-Serrano, Miguel et al; *Bethesda criteria for microsatellite instability testing: impact on the detection of new cases of Lynch syndrome*; *Familial Cancer* Vol 11, (2012); pag 571–578
- 5.-Heald, Brandie et al; *Implementation of Universal Microsatellite Instability and Immunohistochemistry Screening for Diagnosing Lynch Syndrome in a Large Academic Medical Center*; *Journal Clinical Oncology* Vol 31, (2013) pag:1336-1340
- 6.-Beamer, Laura C et al; *Reflex Immunohistochemistry and Microsatellite Instability Testing of Colorectal Tumors for Lynch Syndrome Among US Cancer Programs and Follow-Up of Abnormal Results*; *Journal Clinical Oncology*,(2016) Vol 30, pag 1058-1063.
- 7.-Yurgelun, Matthew B; *Identification of a Variety of Mutations in Cancer Predisposition Genes in Patients With Suspected Lynch Syndrome*; *Gastroenterology* (2015); vol 149, pag 604–613

- 8.-Jenkins, Mark E et al; *Pathology Features in Bethesda Guidelines Predict Colorectal Cancer Microsatellite Instability: A Population-Based Study*; *Gastroenterology* (2007); vol 133, pag 48–56
- 9.-G.H. Lee et al; *Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer, A systematic review* ; *European journal of Cancer*, Vol 41 , (2015), pag 300-308
- 10.-F. Gelsomino et al,*The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review* ; *Cancer Treatment Reviews*, vol 51, (2016), pag. 19–26
- 11.-B. Buecher et al.; *Role of microsatellite instability in the management of colorectal cancers* ; *Digestive and Liver Disease* vol.45, (2013), pag 441–449
- 12.-Gae ãan Des Guetz et al;*Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis*; *European Journal of Cancer* vol. 45, (2009), pag 1890–1896
- 13.-Ruby Gupta et al; *The impact of microsatellite stability status in colorectal cancer*; *Curr Probl Cancer* Vol 42, (2018), pag 548–559
- 14.-Jonathan A. Nowak et al; *Detection of Mismatch Repair Deficiency and Microsatellite Instability in Colorectal Adenocarcinoma by Targeted Next-Generation Sequencing*; *The Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 19, (2017), pag: 84-91
- 15.-Vilar, Eduardo et al; *Role of microsatellite instability-low as a diagnostic biomarker of Lynch syndrome in colorectal cancer*; *Cancer Genetics* vol. 207, (2014), pag. 495-502

- 16.-Nouri Nojadeh, Jafar et al; *Microsatellite instability in colorectal cancer; EXCLI Journal* (2018); vol 17, pag 159-168
- 17.-R. Jovera y A. Payáb; *Inestabilidad de microsatélites en el cáncer colorrectal: concepto, métodos de detección y utilidad clínica; Gastroenterol Hepatol* (2003): pag 656-63
- 18.-Rosa M. Xicola y Xavier Llor; *Defectos de la metilación del ADN en el cáncer colorrectal esporádico y hereditario; Gastroenterol Hepatol*, (2012); pag 480-487
- 19.-2018 National Comprehensive Cancer Network, Inc. *Based on the NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology , Colon Cancer , Version 4.2018*, (2018).
- 20.-Aldaco Sarvide, Fernando et al; *Mortalidad por cáncer en México: actualización 2015; Gaceta Mexicana de Oncología*, (2018); pag 17
- 21.- Carlos A. Vaccaro; *Expresión inmunohistoquímica e inestabilidad microsatelital en el síndrome de Lynch; Medicina*, (2007), pag 274-278
- 22.-Fleming et al; *Colorectal carcinoma: pathologic aspects; Journal of Gastrointestinal Oncology*, (2012), pag 153-173
- 23.- Payá Roma, Artermio et al; *Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica; Revista Española de Patología*, (2006), Vol 39, pag201-207
- 24.- Kloor M, Staffa L, Ahadova A, von Knebel Doeberitz M. *Clinical significance of microsatellite instability in colorectal cancer. Langenbecks Arch Surg.* (2014);399(1):23-3

25.- *Stephen K.H. Li , Alberto Martin; Mismatch Repair and Colon Cancer: Mechanisms and Therapies Explored; Trends in Molecular Medicine, (2016), Volume 22, Pag 274-289*

26.- *Ferri Fred F; Colorectal Cancer; Ferri's Clinical Advisor (2019); Elsevier, pag 370-375*

## X. ANEXOS

