

Aspectos genético-moleculares asociados con el desarrollo del carcinoma colorrectal

Mabel Elena Bohorquez Lozano¹, Ana Patricia Estrada F.¹, Ángel Alejandro Criollo R.¹, Rodrigo Prieto S.¹, María Magdalena E. de Polanco¹; Luis Guillermo Carvajal C^{1, 2}

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés alguno.

Resumen

El presente trabajo es el resultado de la revisión bibliográfica en PubMed y ScienceDirect, de 62 artículos, relacionados con aspectos genético-moleculares del carcinoma colorrectal (CCR). El CCR constituye un problema de salud pública, agravado en los países en desarrollo, porque la mayoría de los casos se diagnostican en estados avanzados, al punto que, en Colombia, los datos de mortalidad se asemejan a los de incidencia, lo cual no es común en los países desarrollados. En consecuencia, es importante implementar métodos de detección temprana, tratamientos efectivos y procedimientos genético-moleculares, para diferenciar los casos y ofrecer tratamientos de acuerdo con el perfil genético del paciente. Se hace referencia a las pruebas moleculares de inestabilidad microsatelital e inmunohistoquímica para proteínas del grupo mismatch repair (MMR), que por su alta sensibilidad y especificidad resultan indispensables para la clasificación y tamizaje del CCR y la discriminación del mismo, entre esporádico y hereditario.

Palabras clave: Cancer colorrectal; inestabilidad microsatelital; inestabilidad cromosómica; síndrome de Lynch

¹Grupo de Investigación en Citogenética, Filogenia y Evolución de Poblaciones, Universidad del Tolima, Facultades de Ciencias y Ciencias de la Salud, A.A. N° 546, Ibagué, Colombia.

²Carvajal-Carmona lab, Genome Center, Department of Biochemistry and molecular medicine, the UC-DAVIS School of medicine, United States.

Genetic and molecular aspects of colorectal cancer

Abstract

Colorectal Cancer (CRC) is a serious public health problem in developing countries because the majority of the cases are diagnosed in advanced stages. In Colombia for example, the mortality rate is very close to the rate of diagnoses. This is not common in developed countries. This research originated from literature review of 62 articles related to the genetic and molecular aspects of colorectal carcinoma. Due to the seriousness of the problem, it is important to implement early detection, effective treatments and genetic and molecular procedures to differentiate the types of carcinoma according to the genetic profile of the patient. This work discusses the molecular analysis of microsatellite instability and immunohistochemistry for mismatch repair proteins (MMR). These analyses have high sensibility and specificity and are essential for the classification of CRC and the discrimination between sporadic and hereditary cancer.

Keywords: Colorectal cancer; microsatellite instability; Chromosomal Instability; Lynch Syndrome

Introducción

El (CCR) es un problema de salud pública, agravado en los países en desarrollo. Es la tercera causa de morbimortalidad por cáncer en hombres y mujeres en Estados Unidos (1). En Colombia en ambos sexos ocupa el quinto puesto en morbi-mortalidad (2), 80% de los casos son diagnosticados en estados avanzados (3). En los países desarrollados el progreso en los métodos de tamizaje y tratamiento para el CCR ha contribuido a disminuir la mortalidad (4). Cada día se avanza más en la comprensión de la genética molecular de esta enfermedad (5-9).

El objetivo de esta revisión sistemática fue identificar las diferentes alteraciones genético-moleculares reportadas para CCR, que son utilizadas e

implementadas como métodos de diagnóstico y tamizaje de la enfermedad, con el fin de destacar las más relevantes que puedan ser implementadas en nuestro medio.

Materiales y métodos

Estrategia de búsqueda:

Esta revisión incorpora el planteamiento "PRISMA" (<http://www.prisma-statement.org/>), la revisión sistemática se realizó en las bases de datos MEDLINE (vía PUBMED) y SCOPUS (vía ScienceDirect), los términos usados, se escogieron de los términos de referencia MeSH (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>) (Medical Subject Headings) "Colorectal Neoplasms", "Microsatellite Instability" "Chromosomal Instability" y "Lynch Syndrome", en diferentes combinaciones; y solo a partir del año 2011 en los artículos referentes a nuevas técnicas moleculares.

Correspondencia a:

Autor Correspondiente: Mabel Elena Bohorquez Lozano
Universidad del Tolima, Altos de Santa Helena, bloque 17 Laboratorio de investigación Citogenética, filogenia y evolución de poblaciones.

Tel: 3118488284

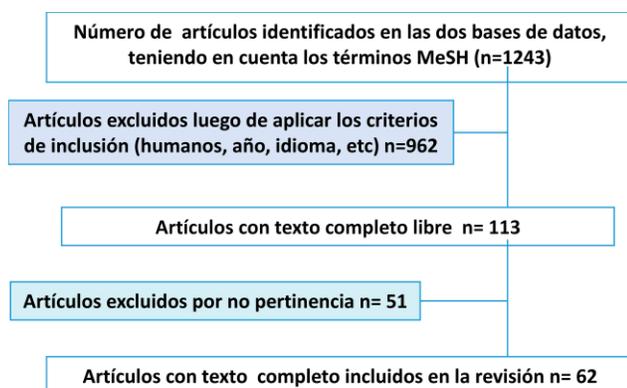
Email: mebohorquez@ut.edu.co

Recibido: 12/02/2015 Aceptado: 01/10/2015 Publicado: 19/12/2015

Criterios de inclusión y exclusión:

Se analizaron los títulos y resúmenes de los diferentes artículos con el fin de establecer su importancia; en reunión con el grupo de autores se establecieron en consenso como criterios de inclusión todos los artículos con texto completo libres, en idioma inglés y con especial referencia aquellos que detallaran los aspectos genéticos y moleculares en términos de revisión de las diferentes pruebas moleculares para diagnóstico, tamizaje y discriminación del CCR. Se excluyeron: (i) Los que no tenían el texto completo disponible; (ii) idiomas diferentes al inglés (iii) reportes de caso (iv) ensayos en animales de experimentación. De acuerdo al proceso PICO acrónimo: (problema o población (P), intervención (I), comparación (C) y resultados (O)); el diseño del estudio incluyó artículos clásicos, conferencias clínicas, ensayos clínicos, estudios comparativos, guías de manejo (pautas), revisiones. Población: Pacientes con cáncer colorrectal sin distinción de edad o género. Intervención: vías moleculares del CCR, implementadas como métodos diagnósticos. Comparaciones: métodos de tamizaje diagnóstico. Resultados: Inestabilidad microsatelital, mutaciones en genes específicos, inmunohistoquímica para proteínas del sistema MMR.

Flujograma: artículos incluidos en la revisión.



Evaluación de calidad de los estudios:

Los artículos que corresponden a ensayos clínicos fueron evaluados de acuerdo a las herramientas PEDro, (10,11) los 10 criterios de referencia de esta escala fueron evaluados, el 50% de los artículos tuvieron una puntuación mayor de 5. Los artículos que no corresponden a ensayos clínicos que fueron la mayoría se evaluaron de acuerdo a la pertinencia y citación.

Resultados

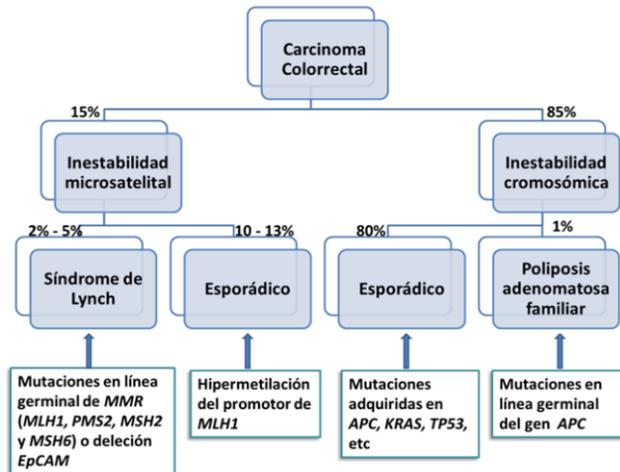
Los resultados presentados corresponden a los datos más relevantes de los diferentes artículos en concordancia con el objetivo propuesto.

Las vías de tumorigenesis más importantes son:

1. La inestabilidad cromosómica (CIN) o vía supresora en la que se presentan altas tasas de mutación en genes como *APC*, *KRAS*, *SMAD4*, *PI3KCA*, *SOX9*, *ARID1A*, *FAM123B* y *TP53* asociados con el desarrollo del CCR.
2. La inestabilidad microsatelital (MSI) también conocida como vía mutadora (9,12-14), se caracteriza por un cambio en el número de repeticiones (dos, tres, cuatro, nucleótidos) que reciben el nombre de microsatélites. Esta es una forma de inestabilidad genética causada por alteraciones en los genes del sistema de MMR. Los microsatélites son mono, di, o polinucleótidos repetidos, como por ejemplo (A)_n o (CA)_n, los cuales son distribuidos a través del genoma entero y, debido a su patrón repetitivo, son propensos a errores de desapareamientos durante la replicación, que no son corregidos cuando los MMR funcionan incorrectamente (15).

Aunque la mayoría de los casos de CCR se desarrollan a través de la vía CIN, aproximadamente el 15% presenta MSI debida a mutaciones en la línea germinal, al silenciamiento genético de genes del sistema MMR o a una combinación de estos factores (16) (figura 1).

Figura 1. Clasificación molecular del Carcinoma Colorrectal modificada de Zhang:(17).



Genética molecular del sistema MMR

El genoma humano es dinámico. Se estima que cada célula sufre más de 20000 eventos de daño del ADN y más de 10000 errores de replicación por célula por día (18). Uno de los mecanismos para reparar los errores de replicación es el sistema MMR, conservado desde las bacterias hasta los humanos, que corrige errores base a base y errores de inserción-delección que se presentan durante el proceso de replicación del ADN (19). Un sistema de reparación MMR competente, mejora la precisión de la replicación entre 1.000 y 10.000 veces (20). Las células con un sistema MMR deficiente se caracterizan por la inestabilidad (errores en la replicación) en regiones de microsatelites. La terminología utilizada en los MMR en eucariotas, se basa en un sistema análogo en procariontes, mejor caracterizado en *Escherichia coli* (*E. coli*) (20). Los principales MMR en *E. coli* incluyen las proteínas *MutS* y *MutL* [19]. *MutS* detecta los desapareamientos gracias a que este ADN se distorsiona mucho más que el ADN cuyas bases están correctamente apareadas (15).

Los homólogos de *MutS* en eucariotas incluyen los genes *MSH2*, *MSH3* y *MSH6*, que son los principales responsables del reconocimiento de los desajustes

debidos a apareamientos erróneos y de reclutar a *MutL* en la ubicación del desajuste. Los homólogos *MutL* incluyen *MLH1*, *PMS1* y *PMS2*.

En las células eucariotas el sistema de reparación MMR, funciona a partir de la formación de heterodímeros (*MutS*) que comparten *MSH2* como una subunidad común. Las actividades de *MutL* en eucariotas también basan su función en complejos heterodímeros con *MLH1* (21). Específicamente, cuando existe una falta de coincidencia (apareamiento erróneo), *MSH2* formará un complejo *MutSa* o *MutSb* que pueden reclutar ya sea a *MutLa*, *MutLb*, o al complejo *MutLy*, el cual, a su vez, mediará los procesos de reconocimiento de falta de coincidencia y reparación enzimática (20,22). Las mutaciones en el sistema MMR conducen a la acumulación de errores en el ADN, lo que entre otros efectos, resultará en MSI.

Características genético - moleculares para el síndrome de Lynch y el CCR con MSI.

El síndrome de Lynch, conocido también como CCR hereditario no polipósico (HNPCC), es un trastorno genéticamente heterogéneo causado por mutaciones germinales en genes autosómicos dominantes del sistema MMR, que produce tumores localizados predominantemente en el lado derecho del colon. El riesgo general de CCR en individuos con este síndrome es de 75% a los 70 años, la edad media al diagnóstico (entre 42 a 61 años), es menor que en la población general (aproximadamente 65 años). Las mutaciones en *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2* se encuentran en 32%, 38%, 14% y 15% de los casos de síndrome de Lynch, respectivamente (23,24). Los individuos con mutaciones en los genes *MSH6* y *PMS2* tienen un riesgo algo menor de CCR y una edad de inicio más tardía en comparación con aquellos que presentan mutaciones en *MLH1* y *MSH2* (25-27).

Las personas con Lynch pueden presentar otros tipos de cáncer como: endometrial, gástrico, ovárico,

urotelial, del tracto hepatobiliar, cerebro, intestino delgado, páncreas y piel (adenomas o carcinomas sebáceos y queratoacantomas) (23,25,28). El carcinoma de endometrio, es el carcinoma extracolónico más común en el síndrome de Lynch y su ocurrencia oscila entre un 28% y un 60% de las mujeres con edades entre los 47 y 55 años, en comparación con el 2% o 3% entre las mujeres mayores de 60 años (25). Los carcinomas endometriales se asocian más frecuentemente con mutaciones en los genes *MSH2* y *MSH6* que en los genes *MLH1* y *PMS2*.

Recientemente, se han descrito en un subconjunto de familias con el síndrome de Lynch, deleciones en el gen *EpCAM* que codifica para una molécula de adhesión celular epitelial y se encuentra aguas arriba del gen *MSH2*, (29), dichas deleciones, conducen al silenciamiento epigenético del alelo *MSH2*. Aunque la frecuencia de deleciones *EpCAM* se ha reportado en diferentes poblaciones (30,31), se necesitan más investigaciones para confirmar la prevalencia y el fenotipo clínico de las mismas.

Aproximadamente el 90% de los casos de CCR con Lynch, exhiben MSI. Algunos estudios multicéntricos han reportado que la prevalencia del síndrome oscila entre el 0.9% y el 3.5% en poblaciones europeas (32-34). En Colombia se estima que alrededor de 75 personas mueren al año por síndrome de Lynch (35).

Los casos de CCR con MSI, no asociados con el síndrome de Lynch, ni con mutaciones en la línea germinal del sistema de MMR, se clasifican como esporádicos con MSI y su frecuencia oscila entre el 10% y el 13% del total de casos de CCR, siendo la causa más frecuente, la hipermetilación del promotor de *MLH1*. La hipermetilación de islas CpG en las regiones promotoras de ambas copias del gen *MLH1*, conduce a su inactivación y a la pérdida de la expresión de su producto, de manera análoga a lo que sucede con las mutaciones de línea germinal de los genes MMR observados en el síndrome de Lynch.

Los tumores esporádicos provenientes de pacientes con MSI, son histológicamente similares a los de los pacientes con CCR asociado con síndrome de Lynch, también aparecen con mayor frecuencia en el colon derecho y tienden a tener un mejor pronóstico global, pero, contrario a lo que se observa en los pacientes con Lynch, los casos esporádicos con CCR y MSI, son más frecuentes en personas mayores en las que no es evidente un trasfondo hereditario. De otra parte, estos pacientes presentan características clínico-patológicas, pronóstico y respuesta al tratamiento diferentes cuando se comparan con los pacientes de CCR, con estabilidad microstelial (MSS) (16,20), por estas razones, es importante distinguir el CCR esporádico con MSI, del CCR asociado al síndrome Lynch, lo cual puede hacerse mediante el diagnóstico de mutaciones en el gen *BRAF*, localizado aguas abajo de *KRAS*, el cual codifica para una serina/treonina proteína quinasa, un efector inmediato, en la señalización de la vía MAP quinasa.

Es común encontrar una mutación del gen *BRAF*, en pacientes que presentan metilación en la región promotora del gen *MLH1*. Alrededor del 90% de las mutaciones del gen *BRAF*, en casos de CCR, corresponden a una transversión (1799T>A), identificada como V600E. Una revisión reciente que analizó V600E, en 4562 tumores procedentes de diferentes estudios, determinó que la frecuencia de dicha mutación en los casos de CCR (MSS) fue del 5,0% y más importante aún, que las mutaciones *BRAF* están prácticamente ausentes en los tumores asociados al síndrome de Lynch, siendo esta una característica muy útil para distinguir los casos de CCR tipo Lynch, de los casos de CCR esporádicos con MSI (36).

En otras palabras, la evidencia de hipermetilación del promotor *MLH1* y/o, la mutación *BRAF V600E*, son altamente predictivas de un CCR esporádico con MSI. Los individuos sin metilación del promotor de *MLH1* y *BRAF* silvestre, deberían ser tamizados para síndrome de Lynch. Sin embargo, hay informes de casos raros de

hipermetilación del promotor de *MLH1* debido a un "segundo golpe" en un paciente con una mutación germinal(26,27).

En la Tabla N°1 se presentan algunos de los artículos en los que se comparan la MSI y la IHC, como métodos de tamizaje para el diagnóstico de CCR.

Tabla 1: Artículos con evaluación de MSI y IHC para MMR, en pacientes con CCR.

Fuente/Año	Población estudio	Metodología	Resultados
Cicek / 2011	5927 pacientes con CCR	Determinación del estatus de MSI y ensayo de IHC en tejido.	Los datos proporcionan una fuerte evidencia de que un punto de corte de 30% de los marcadores MSI debe ser utilizado para clasificar los tumores de colon como MSI-H. La sensibilidad y especificidad de los marcadores mononucleótidos fueron superiores a los de los marcadores de dinucleótidos, y los marcadores mononucleótidos identificaron 97% de los casos MSI-H correctamente.
Agostini/2010	44 pacientes con CCR	Ensayo de panel de MSI y prueba de IHC en tejido	El panel con 4 dinucleotidos y 6 mononucleotidos es muy sensible para evaluar el estatus de MSI.
Bartley/2012	629 pacientes con CCR	Determinación del estatus de MSI y ensayo de IHC en tejido	La concordancia entre IHC y MSI fue alta, especialmente para los tumores que son estables para los microsatelites MSS.
Warrier/2011	40 pacientes con CCR	Determinación del estatus de MMR	La pérdida de función de las proteínas MMR, pueden ser detectadas por IHC, antes de la cirugía de los pacientes.

Valoración de MSI

Actualmente, la MSI se detecta indirectamente demostrando ausencia de expresión de proteínas MMR por tinción inmunohistoquímica (IHC), o más directamente por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), basada en la amplificación de repeticiones de microsatélites específicos.

IHC para proteínas MMR

El principio de la utilización de IHC de proteínas MMR que indica indirectamente la presencia de MSI, está en que la ausencia de una o más de las proteínas MMR puede causar MSI. Anticuerpos contra las proteínas MMR tales como *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* y *MSH6* están disponibles comercialmente y se pueden utilizar para proporcionar información de la funcionalidad del sistema de MMR. La pérdida de la expresión, en una o más de estas proteínas, y el patrón de la misma, sugieren un sistema MMR deficiente y pueden estar

indicando una mutación de línea germinal o la inactivación por hipermetilación. El análisis de IHC, idealmente se debe realizar con las cuatro proteínas, ya que como se mencionó, estas son un complejo heterodimérico, cuyas interacciones se ven reflejadas en la IHC.

Páneles de evaluación de la MSI

El principio para utilizar las pruebas de MSI basadas en PCR, es detectar la presencia de diferentes longitudes de repeticiones de microsatélites específicos, producto de errores de replicación y de la ausencia de reparación por las enzimas MMR. En 1997, el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de Estados Unidos, estableció un grupo de referencia de microsatélites para pruebas clínicas y de investigación y definió los criterios para el diagnóstico de MSI. El panel central se compone de dos repeticiones de mononucleótido *BAT25*, *BAT26* y tres repeticiones de dinucleótidos *D5S346*, *D2S123*, *D17S250* (37). Otros autores

sugieren diecinueve loci alternativos. Se han establecido tres categorías de MSI, relacionadas con el panel central, sobre la base de los siguientes criterios: MSI-alta (MSI-H), que indica la inestabilidad en dos o más loci ($\geq 30\%$ de los loci); MSI-baja (MSI-L), que indica inestabilidad en un locus o entre el 10% y el 20% de los loci en paneles más grandes y, MSS, que indica que ningún loci tiene inestabilidad o esta es $<10\%$ de los loci en paneles más grandes(38).

Los CCR MSI-L no parecen diferir clínica, ni patológicamente de los CCR, MSS(39). Los casos MSI-L, por lo general, sólo muestran la inestabilidad de los marcadores dinucleótidos, por lo que la evaluación de dinucleótidos solo podría conducir a la mala clasificación de MSI-L como MSI-H. Por el contrario, mononucleótidos como BAT25 y BAT26 son casi monomórficos. En el 2002, el NCI revisó las directrices de Bethesda y recomendó para las pruebas, el uso de marcadores mononucleótidos adicionales en tumores con inestabilidad, en reemplazo de los loci dinucleótidos, dado que los marcadores mononucleótidos son más confiables en la identificación de tumores MSI-H (39). En los últimos años, el uso de paneles que contienen más marcadores mononucleótidos y la disponibilidad de kits comerciales, que incluyen predominantemente marcadores mononucleótidos, han mejorado la sensibilidad y la especificidad de la prueba(40-42).

Inmunohistoquímica (IHC) Vs. páneces de evaluación de la MSI

Los resultados de IHC para las proteínas MMR y las pruebas de MSI basadas en PCR, son concordantes (97,80% de concordancia, IC del 95%: 96,27-98,82) (43). Los estudios han demostrado que la IHC para las proteínas MMR: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, proporcionan una técnica rápida, rentable, sensible y altamente específica para la detección de CCR con MSI. En una revisión de los resultados de IHC en 16 series que evaluaron 3.494 casos, (44) se demostró que la IHC utilizada para evaluar la MSI, es sensible a

un nivel del 92,4%, con una especificidad del 99,6%, un valor predictivo positivo del 98,5% y un valor predictivo negativo del 97,8%. Estos resultados son comparables a los de las pruebas de MSI molecular basadas en PCR. En otros estudios, la IHC en CCR para MLH1 y MSH2 se reveló como un método para la detección de defectos MMR en el ADN, rápido, rentable y sensible a un nivel del 92,3% y con una especificidad del 100%. El valor predictivo de la IHC para detectar la normalidad de un fenotipo MSS / MSI-L fue del 96,7%, y el valor predictivo de anormal fue del 100% para un fenotipo MSI-H(45).

La principal ventaja de la IHC radica en que es una prueba disponible en los laboratorios de patología general. Otra ventaja es que los tumores con mutaciones de línea germinal MSH6 a veces carecen de MSI en las pruebas de PCR debido a la redundancia funcional en el sistema de MMR, pero demuestran la pérdida de MSH6 en la tinción para IHC (46). Adicionalmente, una ventaja importante para el uso de la IHC, es su capacidad para tamizar las pruebas genéticas.

Es de anotar que en raras ocasiones se presentan mutaciones sin sentido, en los genes *MLH1* y *MSH6*, que afectan la función de las proteínas, pero no la traducción de las mismas y la antigenicidad. En estos casos la IHC seguirá mostrando tinción positiva a pesar de tener MSI(20,26) por lo cual, se aconseja combinar las pruebas de MSI basadas en PCR, con las de IHC, para depurar los resultados.

Discusión

El diagnóstico del síndrome de Lynch y, el reconocimiento de los casos de CCR esporádicos con MSI, tiene implicaciones importantes con respecto a la prevención, la vigilancia y el tratamiento. Los estudios han demostrado que los pacientes con CCR, con MSI-H, tienen un mejor pronóstico en comparación con los que presentan MSS(47). De otra parte, el CCR MSI-H en estado II, presenta un

pronóstico similar y una supervivencia global con o sin quimioterapia neoadyuvante de 5-fluorouracilo (5-FU)(48).

Como se mencionó anteriormente, las personas con síndrome de Lynch, además de la aparición temprana del CCR, tienen un riesgo significativamente mayor de desarrollar cánceres extra-colónicos. Se ha comprobado que la vigilancia intensiva del cáncer reduce sustancialmente la muerte por dicha causa en este grupo de pacientes (49). Históricamente, el diagnóstico del síndrome de Lynch se basó en las características clínicas y los antecedentes personales y familiares de cáncer, usando los criterios de Amsterdam (50,51), y posteriormente en los criterios de Amsterdam II revisados (52). Sin embargo, estos criterios son demasiado restrictivos e insuficientemente sensibles debido a que: a) las familias son pequeñas, b) no se registran antecedentes familiares, c) no hay acceso a la documentación de los tumores en la familia, d) la penetrancia del gen es incompleta y su expresividad es variable. Con base en lo anteriormente expuesto, la disponibilidad de pruebas de diagnóstico molecular, las directrices de Bethesda (53) y su posterior revisión (Bethesda revisado) (39), se ha avanzado en la selección de los pacientes que deben someterse a análisis de MSI. Estas directrices incorporan características histopatológicas del tumor en sus criterios, entre ellos la presencia de infiltración tumoral de linfocitos, la reacción linfocítica similar a la enfermedad de Crohn, la diferenciación mucinosa o en anillo de sello y/o, un patrón de crecimiento medular. Sin embargo, los datos sugieren que las directrices clínicas y características histopatológicas no son, ni sensibles, ni específicas en la determinación de la presencia o ausencia de MSI. Por ejemplo, hasta el 50% de los portadores de la mutación no cumplen con los criterios de Amsterdam y entre un 40% y un 45% de las familias que cumplen con los criterios de Amsterdam no demuestran MSI en las pruebas de tumor o, mutaciones en la línea germinal de genes MMR(20,27).

En un esfuerzo por mejorar la tasa de detección de los individuos con síndrome de Lynch y CCR esporádicos con MSI, se ha sugerido que todos los pacientes con CCR deban ser tamizados para MSI utilizando PCR o IHC (54). Julie et al. compararon la eficiencia de detección de los criterios de Bethesda revisados, con las pruebas moleculares en 214 pacientes con CCR recién diagnosticados. Los criterios clínicos de Bethesda no identificaron a todos los pacientes con HNPCC. Por lo tanto, los autores concluyeron que los criterios revisados de Bethesda no identifican adecuadamente a los portadores de mutaciones y CCR con MSI(55).

Morrison *et al.* (54) compararon la tasa de detección de MSI en dos grupos diferentes, el primero compuesto por 445 casos de CCR llevados a cirugía entre noviembre de 2006 y marzo de 2009, cuando las pruebas de MSI se realizaban porque las características histopatológicas y la edad hacían sospechar su presencia. El segundo grupo de comparación estaba conformado por 145 tumores de CCR, resecados a pacientes entre julio de 2009 y julio de 2010, en los cuales se realizaron las pruebas, sin tener en cuenta esos criterios. La tasa de detección del síndrome de Lynch en el primer grupo, fue 34,8 %, y la tasa de MSI-H fue de 8,5 % (38/445). Si se hubiesen tenido en cuenta únicamente los criterios clínicos de Bethesda, es decir, sin realizar la prueba de MSI a pacientes de más de 60 años, se habrían perdido 26 pacientes CCR MSI (68,4 %). La tasa general de detección del síndrome de Lynch para el segundo de los grupos, fue de 76,3 % y la tasa de MSI fue 20,6 % (30/145). Estos datos indicaron que si se tienen en cuenta sólo los criterios clínicos de Bethesda estos son inadecuados para tamizar el síndrome de Lynch sobre todo cuando la historia personal y familiar no está disponible para el médico. En conclusión se podría afirmar, que un aumento del número de pruebas de MSI, permite una mayor detección de CCR MSI(56).

Recientemente, Pérez- Carbonell *et al.* (57) investigaron 2.093 pacientes con CCR de las cohortes

EPICOLON I y II y encontraron que, al aplicar únicamente los criterios de Bethesda, se dejó de detectar un 14.3 % de casos con síndrome de Lynch y un 57,1% de los casos con tumores MSI-H probablemente no esporádicos. Los autores llegaron a la conclusión que el cribado rutinario de los pacientes con CCR para síndrome de Lynch mediante inmunohistoquímica o PCR para MSI ofrece una mejor sensibilidad para la detección de mutaciones, que los criterios de Bethesda por si solos (57). Muchos estudios han identificado otras características histopatológicas, que están incluidas en los criterios de Bethesda, tales como la ubicación en el lado derecho, la ausencia de necrosis, un patrón de crecimiento circunscrito / expansivo y el carcinoma asociado con adenoma sénil / pólipo aserrado (vía aserrada), son todos indicativos de MSI-H (58-61). Sin embargo, la experiencia ha demostrado que entre un 3% y un 6% de los casos de CCR con necrosis y una parte de los tumores del lado izquierdo no mostró MSI-H, sobre todo con pérdida de MSH6(26).

Datos recientes han demostrado que se pueden realizar pruebas para la expresión de MMR en las muestras de biopsia al momento del diagnóstico de CCR antes de la cirugía definitiva (62), con resultados comparables a los obtenidos en los especímenes de resección quirúrgica (63,64). Usando este enfoque, el diagnóstico de síndrome de Lynch se puede hacer antes de la cirugía y esta información puede ayudar al cirujano en la planificación del abordaje quirúrgico (colectomía extendida, colectomía subtotal o colectomía total) y en las recomendaciones para la detección de cánceres en otros órganos. Otro argumento a favor de realizar primero estas pruebas para la expresión MMR, es el hecho de que la quimioterapia neoadyuvante y la radiación pueden causar pérdida o inmutación anormal de proteínas MMR. La tinción MMR disminuida en tumores tratados debe impulsar la evaluación IHC de muestras de biopsias pretratamiento, antes de la prueba genética para el síndrome de Lynch(65).

Muchos estudios han demostrado la importancia de las pruebas de MSI en el diagnóstico de síndrome de Lynch, la precisión del pronóstico y de la respuesta a los agentes quimioterapéuticos. Se hace hincapié en la relevancia de las pruebas para MSI en los individuos recién diagnosticados con CCR. Tanto las pruebas de IHC como la PCR para MSI, muestran una estrecha concordancia y una alta sensibilidad y especificidad en la detección de la MSI(66).

Conclusiones:

Las guías clínicas actuales y las características histopatológicas pueden dar indicios, pero no son sensibles, ni específicas para el diagnóstico de síndrome de Lynch, ni para el CCR con MSI. Actualmente, existen evidencias que el tamizaje para MSI a partir de cualquiera de las pruebas de IHC o PCR es rentable, sensible, específico y cada vez más aceptado, facilitan además realizar un diagnóstico molecular conclusivo con relevancia y aplicabilidad clínica

Agradecimientos:

A las Universidades del Tolima, California, Davis y en especial a Rodrigo Prieto Q.E.P.D. estudiante y maestro excepcional, ejemplo de liderazgo, paciencia y entrega a la docencia e investigación. Al padre y amigo que siempre tuvo una sonrisa y un consejo. Su legado es indeleble en nuestras memorias.

Contribuciones de los autores:

Mabel Bohórquez Lozano (MBL) y Rodrigo Prieto, inicialmente revisaron las bases de datos; MBL fue responsable de la primera versión del manuscrito. Ana Patricia Estrada F, Ángel Alejandro Criollo R, Rodrigo Prieto, María Magdalena E. de Polanco, Luis Guillermo Carvajal fueron cruciales en la elaboración de la versión final del artículo.

Referencias

1. Siegel R, DeSantis C, Virgo K, Stein K, Mariotto A, Smith T, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012;62(4):220-41.
2. WHO IAfRoC-. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 [on line]. World Health Organization - WHO; 2012 [cited 2012]. Available from: <http://globocan.iarc.fr/>.
3. Villamizar LA, R. Abadia, M. Oliveros, R. Gamboa, O. Alba, L. Bernal, L. Weisner, C. Tamización de cáncer colorrectal en población adulta asintomática: revisión sistemática. *Revista Colombiana de Cancerología.* 2010;14(3):152-68.
4. OMS OMDIS-. Cáncer 2013. Available from: <http://www.who.int/cancer/detection/colorectalancer/es/index.html>.
5. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science.* 1993;260(5109):816-9.
6. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell.* 1993;75(5):1027-38.
7. Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet.* 2009;76(1):1-18.
8. Newton KF, Newman W, Hill J. Review of biomarkers in colorectal cancer. *Colorectal Dis.* 2012;14(1):3-17.
9. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet.* 2010;375(9719):1030-47.
10. de Morton NA. The PEDro scale is a valid measure of the methodological quality of clinical trials: a demographic study. *Aust J Physiother.* 2009;55(2):129-33.
11. Moseley AM, Elkins MR, Janer-Duncan L, Hush JM. The Quality of Reports of Randomized Controlled Trials Varies between Subdisciplines of Physiotherapy. *Physiotherapy Canada Physiotherapie Canada.* 2014;66(1):36-43.
12. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature.* 2012;487(7407):330-7.
13. Ogino S, Chan AT, Fuchs CS, Giovannucci E. Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field. *Gut.* 2011;60(3):397-411.
14. Shi C, Washington K. Molecular testing in colorectal cancer: diagnosis of Lynch syndrome and personalized cancer medicine. *Am J Clin Pathol.* 2012;137(6):847-59.
15. Watson JD, Baker, Tania A., Bell Stephen, Gann Alexander., Levine Michael., Losik, Richard. . *Biología Molecular del Gen.* 2 ed: Panamericana 2008. 759 p.
16. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(3):153-62.
17. Zhang X, Li J. Era of universal testing of microsatellite instability in colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2013;5(2):12-9.
18. Loeb LA. Human cancers express mutator phenotypes: origin, consequences and targeting. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):450-7.
19. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2008;129(7-8):391-407.
20. Pino MS, Chung DC. Microsatellite instability in the management of colorectal cancer. *Expert review of gastroenterology & hepatology.* 2011;5(3):385-99.
21. Modrich P. Mechanisms in eukaryotic mismatch repair. *J Biol Chem.* 2006;281(41):30305-9.

22. Fukui K. DNA mismatch repair in eukaryotes and bacteria. *J Nucleic Acids*. 2010;2010.
23. Goodenberger M, Lindor NM. Lynch syndrome and MYH-associated polyposis: review and testing strategy. *J Clin Gastroenterol*. 2011;45(6):488-500.
24. Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med*. 2009;11(1):42-65.
25. Weissman SM, Burt R, Church J, Erdman S, Hampel H, Holter S, et al. Identification of individuals at risk for Lynch syndrome using targeted evaluations and genetic testing: National Society of Genetic Counselors and the Collaborative Group of the Americas on Inherited Colorectal Cancer joint practice guideline. *J Genet Couns*. 2012;21(4):484-93.
26. Klarskov L, Holck S, Bernstein I, Okkels H, Rambech E, Baldetorp B, et al. Challenges in the identification of MSH6-associated colorectal cancer: rectal location, less typical histology, and a subset with retained mismatch repair function. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(9):1391-9.
27. Pino MS, Chung DC. Application of molecular diagnostics for the detection of Lynch syndrome. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010;10(5):651-65.
28. Win AK, Lindor NM, Young JP, Macrae FA, Young GP, Williamson E, et al. Risks of primary extracolonic cancers following colorectal cancer in lynch syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(18):1363-72.
29. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat Genet*. 2009;41(1):112-7.
30. Kovacs ME, Papp J, Szentirmay Z, Otto S, Olah E. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Hum Mutat*. 2009;30(2):197-203.
31. Perez-Cabornero L, Infante Sanz M, Velasco Sampedro E, Lastra Aras E, Acedo Becares A, Miner Pino C, et al. Frequency of rearrangements in Lynch syndrome cases associated with MSH2: characterization of a new deletion involving both EPCAM and the 5' part of MSH2. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(10):1556-62.
32. Ladabaum U, Ford JM. Lynch syndrome in patients with colorectal cancer: finding the needle in the haystack. *JAMA*. 2012;308(15):1581-3.
33. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, et al. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA*. 2012;308(15):1555-65.
34. Pinol V, Castells A, Andreu M, Castellvi-Bel S, Alenda C, Llor X, et al. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA*. 2005;293(16):1986-94.
35. Angel L.H GA, Pardo C.E. MORTALIDAD POR CÁNCERES DEL APARATO DIGESTIVO EN COLOMBIA ENTRE 1980 Y 1998. *Revista Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia*. 2004;52:19-37.
36. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet*. 2012;49(3):151-7.
37. Coppede F. Epigenetic biomarkers of colorectal cancer: Focus on DNA methylation. *Cancer Lett*. 2014;342(2):238-47.
38. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, 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(22):5248-57.

39. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(4):261-8.
40. Cicek MS, Lindor NM, Gallinger S, Bapat B, Hopper JL, Jenkins MA, et al. Quality assessment and correlation of microsatellite instability and immunohistochemical markers among population- and clinic-based colorectal tumors results from the Colon Cancer Family Registry. *J Mol Diagn.* 2011;13(3):271-81.
41. Bacher JW, Flanagan LA, Smalley RL, Nassif NA, Burgart LJ, Halberg RB, et al. Development of a fluorescent multiplex assay for detection of MSI-High tumors. *Dis Markers.* 2004;20(4-5):237-50.
42. Agostini M, Enzo MV, Morandi L, Bedin C, Pizzini S, Mason S, et al. A ten markers panel provides a more accurate and complete microsatellite instability analysis in mismatch repair-deficient colorectal tumors. *Cancer Biomark.* 2010;6(1):49-61.
43. Bartley AN, Luthra R, Saraiya DS, Urbauer DL, Broaddus RR. Identification of cancer patients with Lynch syndrome: clinically significant discordances and problems in tissue-based mismatch repair testing. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012;5(2):320-7.
44. Rigau V, Sebbagh N, Olschwang S, Paraf F, Mourra N, Parc Y, et al. Microsatellite instability in colorectal carcinoma. The comparison of immunohistochemistry and molecular biology suggests a role for hMSH6 [correction of hMLH6] immunostaining. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(6):694-700.
45. Kalloger SE, Allo G, Mulligan AM, Pollett A, Aronson M, Gallinger S, et al. Use of mismatch repair immunohistochemistry and microsatellite instability testing: exploring Canadian practices. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(4):560-9.
46. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, et al. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol.* 2002;20(4):1043-8.
47. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol.* 2005;23(3):609-18.
48. Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2009;45(10):1890-6.
49. Jarvinen HJ, Renkonen-Sinisalo L, Aktan-Collan K, Peltomaki P, Aaltonen LA, Mecklin JP. Ten years after mutation testing for Lynch syndrome: cancer incidence and outcome in mutation-positive and mutation-negative family members. *J Clin Oncol.* 2009;27(28):4793-7.
50. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Diseases of the colon and rectum.* 1991;34(5):424-5.
51. Matloff J, Lucas A, Polydorides AD, Itzkowitz SH. Molecular tumor testing for Lynch syndrome in patients with colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013;11(11):1380-5.
52. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology.* 1999;116(6):1453-6.
53. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(23):1758-62.
54. Byfield SA, Syngal S. Clinical guidelines versus universal molecular testing: are we ready to choose an optimal strategy for Lynch syndrome identification? *Am J Gastroenterol.* 2008;103(11):2837-40.
55. Julie C, Tresallet C, Brouquet A, Vallot C, Zimmermann U, Mitry E, et al. Identification in daily practice of patients with Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): revised Bethesda

- guidelines-based approach versus molecular screening. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(11):2825-35; quiz 36.
56. Morrison J, Bronner M, Leach BH, Downs-Kelly E, Goldblum JR, Liu X. Lynch syndrome screening in newly diagnosed colorectal cancer in general pathology practice: from the revised Bethesda guidelines to a universal approach. *Scand J Gastroenterol.* 2011;46(11):1340-8.
 57. Perez-Carbonell L, Ruiz-Ponte C, Guarinos C, Alenda C, Paya A, Brea A, et al. Comparison between universal molecular screening for Lynch syndrome and revised Bethesda guidelines in a large population-based cohort of patients with colorectal cancer. *Gut.* 2012;61(6):865-72.
 58. Greenson JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, et al. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(1):126-33.
 59. Halvarsson B, Anderson H, Domanska K, Lindmark G, Nilbert M. Clinicopathologic factors identify sporadic mismatch repair-defective colon cancers. *Am J Clin Pathol.* 2008;129(2):238-44.
 60. Lugli A, Vljajnic T, Giger O, Karamitopoulou E, Patsouris ES, Peros G, et al. Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients. *Hum Pathol.* 2011;42(12):1833-40.
 61. Zlobec I, Bihl MP, Foerster A, Ruffe A, Lugli A. The impact of CpG island methylator phenotype and microsatellite instability on tumour budding in colorectal cancer. *Histopathology.* 2012;61(5):777-87.
 62. Warrier SK, Trainer AH, Lynch AC, Mitchell C, Hiscock R, Sawyer S, et al. Preoperative diagnosis of Lynch syndrome with DNA mismatch repair immunohistochemistry on a diagnostic biopsy. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(12):1480-7.
 63. Kumarasinghe AP, de Boer B, Bateman AC, Kumarasinghe MP. DNA mismatch repair enzyme immunohistochemistry in colorectal cancer: a comparison of biopsy and resection material. *Pathology.* 2010;42(5):414-20.
 64. Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, et al. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(11):1639-45.
 65. Bao F, Panarelli NC, Rennert H, Sherr DL, Yantiss RK. Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(12):1798-804.
 66. Linnekamp JF, Wang X, Medema JP, Vermeulen L. Colorectal cancer heterogeneity and targeted therapy: a case for molecular disease subtypes. *Cancer Res.* 2015;75(2):245-9.