



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
MAESTRIA EN INVESTIGACION DE LA SALUD**

**EXPRESION TISULAR DE PROTEINAS REPARADORAS DEL SISTEMA
MICROSATELITAL Y SU DISTRIBUCION DE ACUERDO A FACTORES
PRONOSTICOS EN CANCER COLORRECTAL EN SOLCA-CUENCA 2004-
2014**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADEMICO DE MAGISTER
EN INVESTIGACION DE LA SALUD**

Autora: Dra. Magdali del Rocío Murillo Bacilio C.I. 0102753910

Director: Dr. Jorge Edmundo Ugalde Puyol C.I. 0100868660

Asesor: Mgst. Dr. Fray Cleiton Martínez Reyes C.I. 0102032679

**Cuenca - Ecuador
2017**



Resumen

Antecedentes

A nivel mundial, el cáncer de colorrectal constituye la tercera neoplasia más común en hombres y la segunda en mujeres. Su aparición se relaciona con factores dependientes del paciente y alteraciones moleculares. La identificación de las vías de tumorigénesis, nos permite subclasificar a los pacientes y protocolizar tratamientos. La inestabilidad microsatelital constituye una de estas vías; se presenta en un 15% a 20% en el carcinoma colorrectal y su presencia se asocia a un mejor pronóstico.

Objetivo:

Determinar la frecuencia de expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital y su distribución de acuerdo a los factores pronósticos en biopsias de pacientes con cáncer colorrectal atendidos en el Instituto del Cáncer Solca-Cuenca durante el periodo 2004-2014”.

Método:

Es un estudio de tipo transversal, analítico.

Resultados:

Se estudiaron 240 pacientes con cáncer colorrectal. El 37.9% correspondió a hombres y el 62.1% a mujeres. La media de edad fue 66.2 años. El 58.75% (n= 141) tuvieron localización en colon. Se observó falta de expresión proteica en un 24.2 % (58 pacientes). En cuanto a que proteínas, el 68.96% (40 casos) fueron MLH1/PMS2; 1.72 % (1 caso) MSH2/MSH6. De los casos que no expresaron las proteínas el 87.93% se localizaron en el colon; 79.3% fueron adenocarcinoma; 58.6% fueron grado moderado y 37.9% fueron etapa II. En el análisis bivariado se estableció asociación estadísticamente significativa entre la inestabilidad microsatelital con localización del tumor (OR 7.4; IC 3.2-17) y el grado de diferenciación (OR 2.8; IC 1.5-5.4).

Palabras claves: IMS (INESTABILIDAD MICROSATELITAL) CCR: (CARCINOMA COLORRECTAL)



Abstract

Globally, colorectal cancer is the third most common neoplasm in men and the second in women. Its occurrence is related to factors dependent on the patient and molecular alterations. The identification of the pathways of tumorigenesis, allows us to subclassify patients and protocolize treatments. Microsatellite instability is one such path; Is present in 15% to 20% in colorectal carcinoma and its presence is associated with a better prognosis.

Objective:

To determine the frequency of tissue expression of reparative proteins of the microsatellite system and their distribution according to prognostic factors in biopsies of patients with colorectal cancer attended at the Solca-Cuenca Cancer Institute during the period 2004-2014.

Method:

It is a cross-sectional, analytical study.

Results:

We studied 240 patients with colorectal cancer. 37.9% were men and 62.1% were women. The mean age was 66.2 years. The 58.75% (n = 141) had colon location. A lack of protein expression was observed in 24.2% (58 patients). As for proteins, 68.96% (40 cases) were MLH1 / PMS2; 1.72% (1 case) MSH2 / MSH6. Of the cases that did not express the proteins, 87.93% were located in the colon; 79.3% were adenocarcinoma; 58.6% were moderate grade and 37.9% were stage II. In the bivariate analysis, a statistically significant association was established between microsatellite instability with tumor localization (OR 7.4, CI 3.2-17) and degree of differentiation (OR 2.8, CI 1.5-5.4).

Key words: IMS (MICROSATELLITE INSTABILITY) CCR: (CARCINOMA COLORRECTAL)



Índice

Contenido	Pág.
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
Capítulo I.....	10
Introducción.....	- 10
Planteamiento del problema.....	-11
Justificación.....	12
Capítulo II.....	13
2. Fundamento teórico.....	13
Definición.....	13
Factores pronósticos.....	14
Bases Moleculares.....	16
Inestabilidad microsatelital.....	17
Relación entre factores pronósticos e inestabilidad microsatelital.....	17
Métodos de valoración de inestabilidad microsatelital: Inmunohistoquímica....	18
Correlación con ADN.....	19
Estado de los microsatelites y pronóstico en cáncer colorrectal.....	19
Capitulo III.....	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos.....	21
Capitulo IV.....	22
Diseño metodológico.....	22
Tipo de estudio.....	22
Área de estudio.....	22
Universo.....	22
Criterios de inclusión.....	22
Criterios de exclusión.....	23



Operacionalización de las variables.....	23
Procedimientos y técnicas.....	23
Análisis de la información y presentación de los resultados.....	24
Aspectos éticos de la investigación.....	24
Capítulo V.....	25
Resultados.....	25
Capítulo VI.....	30
Discusión.....	30
Capítulo VII.....	34
Conclusiones y recomendaciones.....	34
Bibliografía.....	36
Anexos.....	43

RESPONSABILIDAD

Yo Magdalí del Rocío Murillo Bacilio autora de la tesis “EXPRESION TISULAR DE PROTEINAS REPARADORAS DEL SISTEMA MICROSATELITAL Y SU DISTRIBUCION DE ACUERDO A FACTORES PRONOSTICOS EN CANCER COLORRECTAL EN SOLCA-CUENCA 2004-2014”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 24 de abril del 2017



Magdalí del Rocío Murillo Bacilio

C.I. 0102753910



Cláusula de Licencia y Autorización para Publicación en el Repositorio Institucional

Magdalí del Rocio Murillo Bacilio en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales de la Tesis “EXPRESION TISULAR DE PROTEINAS REPARADORAS DEL SISTEMA MICROSATELITAL Y SU DISTRIBUCION DE ACUERDO A FACTORES PRONOSTICOS EN CANCER COLORRECTAL EN SOLCA-CUENCA 2004-2014.”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 24 de abril del 2017

Magdalí del Rocío Murillo Bacilio

C.I. 0102753910



AGRADECIMIENTO

Agradezco en forma infinita a Dios y luego a mis padres, hijas quienes han sabido estar conmigo apoyándome durante todo el tiempo y permitirme llegar a finalizar este proyecto emprendido.

DEDICATORIA

A Dios, mis padres, mis hijas



Capítulo I

1.1 Introducción

La patología oncológica durante los últimos años ha incrementado su incidencia. El carcinoma colorrectal no ha sido su excepción.

Actualmente constituye la tercera neoplasia más común en hombres (746.000 casos, 10% del total) y la segunda en mujeres (614.000 casos, 9.2% del total). Cerca del 55% de los casos ocurren en países desarrollados (1).

Existe una amplia variación geográfica de la incidencia en todo el mundo y los patrones geográficos son muy similares en hombres y mujeres. Las tasas más altas están en Australia / Nueva Zelanda y los más bajos en África occidental. La mortalidad es un 8.5% a nivel mundial, pero un 52% es a nivel de regiones pobres (1).

En una patología heterogénea, especialmente con respecto a la localización anatómica del tumor, las diferencias genéticas y raciales y, por último, las interacciones del estilo de vida que influyen en su desarrollo (2).

La evolución de la enfermedad está determinada por diversos factores, entendiéndose como factores como aquellos elementos que dan información sobre el desarrollo de la patología y en el cáncer de colon a estos factores los podemos dividir en tres aspectos:

- 1.- Dependientes del paciente: dentro de este grupo se hallan factores de riesgo como: edad, estilo de vida, hábitos dietéticos, actividad física y la obesidad.
- 2.- Dependientes del tumor: el más importante la etapa clínica en donde se analiza tamaño, compromiso ganglionar y presencia de metástasis.
- 3.- Dependientes de los cambios moleculares que constituyen las vías de la tumorigénesis.

En los últimos años hemos asistido a un avance muy significativo en el conocimiento de los mecanismos que participan en su desarrollo y progresión. Ese avance abarca desde la identificación de diversos factores genéticos o moleculares implicados en la fisiopatología de esta neoplasia, hasta la



caracterización de múltiples aspectos epidemiológicos involucrados en su génesis (3).

La mayoría de los carcinomas colorrectales que ocurren son de tipo esporádico (75%), es decir sin predisposición existente de tipo familiar o genética.

En la actualidad se han identificado 3 principales vías moleculares de tumorigénesis (4):

1.- Inestabilidad cromosómica, representan el 85% de los casos, en donde existen mutación de genes como el K-ras e inhibición de genes supresores (APC, DCC, TP53).

2.- Alteración del sistema de reparación de errores producidos durante la replicación del ADN, que está controlada por los genes de los microsatélites, fundamentalmente MLH1, MSH2, MSH6 y PSM2. Estas lesiones se denominan “tumores por inestabilidad de microsatélites” y suponen el 15% de los cánceres colorrectales esporádicos y el 95% de los cánceres colorrectales hereditarios no polipoideos o síndrome de Lynch. A su vez estos genes producen proteínas como la MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.

3.- El fenotipo metilador de islas CpG (CIMP, CpG Island Methylator Phenotype) (4,5,6,7).

Ahora, se ha observado que la identificación de estas vías de desarrollo neoplásico, tienen inferencia sobre el comportamiento del mismo. En suma, se ha aceptado un mejor pronóstico en aquellos pacientes con inestabilidad microsatelital. Reportes recientes de análisis retrospectivos sugieren que el beneficio de la quimioterapia adyuvante podría ser predecible, sobre la base del estado de los microsatélites en el tumor. Los mayores beneficios de la quimioterapia adyuvante basada en irinotecan se agrupan en aquellos con inestabilidad microsatelital, mujeres, y localizados en colon derecho (8).

1.2 Planteamiento del problema

En carcinoma colorrectal es una patología frecuente y a pesar de ser una neoplasia de aparición en pacientes de edad avanzada, cada día se detectan casos en gente más joven, de ahí la importancia de realizar un diagnóstico



oportuno, lo que representa un gran reto en el conocimiento de la patología y actualización en el manejo adecuado, con la finalidad de aumentar la supervivencia y mejorar, en lo posible, la calidad de vida.

Los estudios moleculares en pacientes con cáncer de colon en nuestro país y medio son escasos y está demostrado que en los procesos neoplásicos no solamente es de utilidad estudiar el fenotipo tumoral sino también el genotipo ya que implican evoluciones y tratamientos diferentes, por lo que con este estudio se pretende identificar un grupo distinto de pacientes con cáncer de colon desde el punto de vista molecular.

En base a lo expuesto nos planteamos la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es la frecuencia de falta de expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital, en biopsias de pacientes con diagnóstico de carcinoma colorrectal y como se distribuyen de acuerdo a los factores pronósticos?

1.3 Justificación

Los datos obtenidos nos darán un panorama actual y real de cómo utilizar este método en forma protocolizada y complementario de diagnóstico en nuestra población; mejorando tratamientos y la calidad de vida de los pacientes.

La información generada en este trabajo puede ser utilizada para fomentar investigaciones, teniendo mayor base científica.



Capítulo II

2. Fundamento teórico

Definición de cáncer de colon

Es una proliferación incontrolada de células epiteliales de la mucosa de colon, que puede dar metástasis. Es el proceso maligno más frecuente del tubo digestivo y causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo.

Epidemiología y factores de riesgo

El carcinoma colorrectal (CCR), es una neoplasia ubicada en tercer puesto a nivel mundial y causa de un índice elevado de muertes. Su incidencia es de 1.2 millones de nuevos casos por año con un 50% de mortalidad y la gran mayoría suelen ser adenocarcinomas (9). La edad promedio de diagnóstico es en la séptima década de la vida. Los varones se afectan con una frecuencia ligeramente mayor que las mujeres (10). En un pequeño porcentaje de casos, el diagnóstico se efectúa en edades inferiores a los 40 años, habitualmente en el contexto de formas hereditarias.

En el Cantón Cuenca, según los últimos datos publicados en el sexto informe 2005-2009 por el Registro de tumores del Instituto del Cáncer, SOLCA de la ciudad de Cuenca, el cáncer colorrectal se ubica en el noveno en las mujeres y sexto lugar en los hombres. La edad promedio es de 65 años en el sexo femenino y 67 años en el sexo masculino. El adenocarcinoma corresponde al 95% de todos los cánceres colorrectales.

Los factores de riesgo asociados a su aparición son múltiples, entre los que más se conocen los relacionados con el paciente y que pueden ser divididos como no controlables y los controlables.

- a. No controlables, la edad es importante. La probabilidad de diagnóstico de cáncer colorrectal aumenta a partir de los 40 años. Así, más del 90% de los casos de cáncer colorrectal se desarrollan en personas con edades en torno a los 50 años o mayores. Sin embargo, el diagnóstico de CCR parece incrementarse entre la población joven; en los Estados Unidos, el cáncer colorrectal se sitúa ahora entre uno de los 10 tipos de cáncer



diagnosticados más frecuentemente en hombres y mujeres, con edades comprendidas entre los 20 y 49 años (11). También está relacionado con el historial de pólipos adenomatosos y enfermedad inflamatoria intestinal

- b. Controlables: Se reconocen los siguientes: el estilo de vida: los hábitos dietéticos, la actividad física y la obesidad (12,13,14,15).

De acuerdo a su origen y expresión tres tipos CCR pueden ser distinguidos: los esporádicos (sin antecedentes familiares), familiares (aquellos en donde los genes no asociados han sido identificados) y los hereditarios (existen alteraciones en la línea germinal; aquí tenemos dos grupos: la polipomatosis adenomatosa familiar y el cáncer colorectal poliposico hereditario).

Los casos esporádicos acontecen en un 60-80%, mientras que en los casos familiares aparecen en un 20-40% y finalmente los hereditarios en un 3%(16).

Factores pronósticos

Las características clínicas como localización de la neoplasia, el tipo histológico, el grado y la etapa clínica están considerados como factores pronósticos.

Localización: pueden identificarse en colon derecho, transverso, izquierdo, sigma y recto. Sin embargo, varios estudios sustentan que el colon y el recto tienen comportamientos distintos por su desarrollo embriológico, riego sanguíneo, considerándolos como entidades diferentes. A su vez diferencian los carcinomas de colon de acuerdo a su localización en: derecho (comprende desde el ciego hasta la flexión esplénica) e izquierdo (colon descendente, sigmoides) (17).

Tipo histológico: la clasificación establecida por la organización Mundial de la Salud indica algunas variantes histomorfológicas de las cuales el 97% corresponden adenocarcinomas, sin otra especificación, el adenocarcinoma mucinoso en un 4 a 19%, el adenocarcinoma de células en anillo de sello en un 1% y con frecuencias muy bajas tenemos el carcinoma de células pequeñas, carcinoma medular y el carcinoma indiferenciado (18)



Grado de diferenciación: tenemos:

- a. G1 Bien diferenciado en donde las células tumorales tienen una gran semejanza con las del epitelio glandular.
- b. G2 Moderadamente diferenciado aquí las células tumorales tienen menos semejanza, pero aún recuerdan estructuras glandulares.
- c. G3 Pobremente diferenciado en donde las células tumorales tienen menos similitud al tejido original y es difícil identificar alguna estructura tubular.
- d. G4 Indiferenciado o anaplásico. En los indiferenciados las células tumorales no guardan ningún parecido con las originales no identificándose estructuras glandulares

Etapa tumoral: Se utiliza la clasificación modificada de Astler-Coller-Dukes o el sistema de estadificación que a su vez se basa en el TNM, que valora: tamaño tumoral, compromiso tumoral en el espesor de la pared intestinal, infiltración ganglionar y metástasis. De acuerdo a esto tenemos 4 etapas que se muestra en la figura 1 (19,20).

Figura 1

Etapa I	Carcinoma intramucoso (Tis).
ETAPA II	
Estadio IIA	Compromete hacia las capas más externas del colon o del recto, pero no ha atravesado estas capas (T3).
Estadio IIB	Compromete a través de la pared del colon o del recto, pero no ha crecido hacia otros tejidos u órganos adyacentes (T4a).
Estadio IIC	Compromete a través de la pared del colon o del recto y está unido o crece hacia otros tejidos u órganos adyacentes (T4b).
ETAPA III	
Estadio IIIA	Compromete las capas más externas del colon o del recto, pero no ha alcanzado los órganos adyacentes. Se propagó a entre 1 a 3 ganglios
Estadio IIIB	El tumor rebasa la capa muscular propia infiltrando los tejidos perirrectales o pericolónicos.
Estadio IIIC	to (incluyendo el peritoneo visceral). Se propagó a entre 4 a 6 ganglios.
ETAPA IV	
Estadio IVA	Se propagó a un órgano distante o a un grupo distante de ganglios linfáticos (M1a).
Estadio IVB	El cáncer se propagó a más de un órgano distante o a un grupo de ganglios linfáticos distantes, o se ha propagado a partes distantes del peritoneo.



Además se ha mencionado que la respuesta inflamatoria es de fundamental interés en este tipo de tumores. La misma es mediada por linfocitos y factores inmuno reguladores, por lo que el estudio de los linfocitos en la zona tumoral y peritumoral, además de los mediadores de la respuesta podría ser útil en la estimación del grado de respuesta de cada paciente. En pacientes con carcinoma colorrectal, la presencia de linfocitos T CD8 ha sido relacionada con estadios más tempranos, menor invasión tumoral y mejor sobrevida (21).

Bases Moleculares

Considerables progresos se han hecho durante los últimos 20 años para definir las bases moleculares del carcinoma colorrectal. La heterogeneidad genética de esta enfermedad es ahora bien conocida teniendo mejores implicaciones para los estudios etiológicos y respuestas a las terapias adyuvantes (22).

Desde el punto de vista de las alteraciones genéticas, se han mencionado tres vías moleculares de tumorigénesis:

1.- Vía supresora o de la inestabilidad cromosómica: la mayoría (90%) de los CCR presentan mutación de genes (*K-ras*) e inhibición de genes supresores (*DCC*, *APC*, *TP53*). Los tumores originados por esta asociación de alteraciones, denominada vía supresora, muestran entre sus características el ser euploides (23).

2.- Existe una segunda vía oncogénica caracterizada por la alteración del sistema de reparación de errores durante la replicación del ADN, controlado por los genes de los microsatélites (mismatch repair), principalmente *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2*. Los tumores desarrollados por esta vía presentan cientos de mutaciones en secuencias altamente repetitivas denominadas microsatélites. Para denominarlos se han aplicado en la literatura diversos términos como tumores con inestabilidad de microsatélites (IMS+), tumores con alteración de la vía reparadora (MMR+), tumores con fenotipo RER+ (replication errors) o tumores con fenotipo mutador.

3.- El fenotipo metilador de islas CpG (CIMP, CpG Island Methylator Phenotype



Inestabilidad microsatelital

Los microsatélites son secuencias repetitivas de nucleótidos que existen en el ADN en condiciones normales. Estas secuencias repetitivas son muy propensas a presentar deleciones o inserciones, que habitualmente son reparadas por los genes reparadores de errores. Estos genes son cuatro: MLH1, MSH2, MSH6 PMS2 que a su vez producen 4 proteínas como son MLH1, MSH2, MSH6 PMS2. Cuando estos genes se hallan inactivados, se produce el fenómeno de la inestabilidad de los microsatélites y es un reflejo de la incapacidad de la célula alterada para corregir las deleciones e inserciones en regiones del ADN que son repetitivas (microsatélites), debido a la ausencia de un sistema de reparación de ADN.

Fue reportado por primera vez en 1993 por varios autores con la presencia repetida de cientos de alteraciones somáticas en la longitud de microsatélites de ADN en casos de cáncer esporádicos y familiares.

Esta alteración acontece en un 10 al 20%. Aunque esta aberración genética es una característica del Síndrome de Lynch, también la encontramos en un 15% al 20% de los carcinomas colorrectales de tipo esporádico (24).

Estado del arte

Relación entre factores pronósticos e inestabilidad microsatelital

Existe evidencia acerca de que la inestabilidad es más frecuente en el sexo femenino y a su vez este se incrementa con la edad entre 4.9% entre edades comprendidas 41 a 50 años y 24% entre 71-80 años (25).

Una situación particular manifestada en la literatura, los carcinomas colorrectales con inestabilidad microsatelital se presentan sobre todo en los tumores productores de mucina. En este tipo histológico la frecuencia está relacionada con su localización: son inestables un 60% de los tumores mucinosos localizados en el lado derecho y tan solo un 20% de los localizados en el lado izquierdo. El segundo tipo en frecuencia es el carcinoma medular (8%). Prácticamente todos los carcinomas medulares son IMS+. El carcinoma de células en anillo de sello



es un tipo histológico raro que se asocia a inestabilidad en un 25% de casos y supone un 2,2% del total de tumores IMS+ (26).

En cuando al grado de diferenciación la IMS se presenta en un 63% en los poco diferenciados frente a un 8% de los bien diferenciado (27).

Sabemos que la etapa constituye un factor pronóstico importantísimo. Se ha observado que el estadio II es más frecuente que presente inestabilidad microsatelital y en ellos el uso de 5-fluorouracilo no beneficiaría al paciente, sugiriendo al estado de MSI como un valor predictivo de respuesta a terapia (28).

Métodos de valoración de inestabilidad microsatelital

El estudio de las alteraciones del mecanismo de reparación puede realizarse de tres maneras: a) estudiando los genes directamente b) analizando la expresión de las proteínas codificadas o c) analizando microsatélites, que son la diana final donde actúan las proteínas reparadoras. Como el análisis de mutaciones germinales es costoso, habitualmente se seleccionan los pacientes con tumores IMS mediante las dos últimas técnicas mencionadas anteriormente.

Inmunohistoquímica

Se recomienda en la actualidad el uso de 4 marcadores (MLH1, MSH, MSH6 y PMS2). El estudio se lo realiza sobre tejido fijado en formol e incluido en parafina. Para su valoración siempre se dispone de controles internos positivos (estroma, linfocitos), necesarios para poder determinar que la ausencia de expresión en un tumor, no es debida a un problema de la técnica. Un caso se considera con pérdida de expresión cuando no se observa inmuno-tinción en ninguna célula neoplásica. Frecuentemente la tinción obtenida es heterogénea. Por ello, siempre se debe valorar la pérdida de expresión en un campo de gran aumento que disponga de controles internos positivos. 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 adecuados. No deben establecerse valoraciones semicuantitativas basadas en la intensidad y porcentaje de inmunotinción porque se ha demostrado que hasta en un 5% de los tumores no se detecta pérdida de expresión del gen mutado. Para detectar estos casos se hace necesario recurrir al análisis de microsatélites (29, 30).



La falta de expresión de MLH1 / PMS2 sugiere que podría estar dañado el gen MLH1, sin poder distinguir si son de origen germinal. La falta de expresión de MSH2/MSH6 sugiere que podría existir mutación en la línea germinal MSH2 necesitándose del análisis genético por la probabilidad de presentar síndrome de Lynch (29,47,48).

El análisis de microsatélites a través de la inmunohistoquímica tiene una sensibilidad del 77-100% y una especificidad del 98 al 100% (31,32).

Correlación con ADN

En 1998 se acordó un consenso con un panel de 5 marcadores y los criterios para definir la inestabilidad. Se considera que un tumor presenta alta IMS (IMS-H) si muestra inestabilidad en 2 o más marcadores y baja IMS (IMS-L) si aparece en un marcador. Actualmente tiende a abandonarse el concepto de IMS-L porque se ha demostrado que este grupo presenta características superponibles a las de los tumores sin IMS. Excepto que se especifique lo contrario, el término IMS+ se refiere a los antes denominados IMS-H. El análisis se realiza mediante PCR comparando en cada caso el tamaño de los alelos del tumor con su correspondiente ADN no tumoral. En los tumores con IMS pueden observarse con los marcadores dinucleótidos inserciones o deleciones en el ADN tumoral, mientras que con los mononucleótidos siempre son deleciones (29).

Inestabilidad de los microsatelites como factor pronóstico

Numerosos estudios establecieron el valor del estado de IMS como factor pronóstico en todos los carcinomas colorrectales independientemente de la edad. Los resultados de un metaanálisis, incluidos 7642 pacientes, demostraron que los pacientes con carcinoma colorrectal que presentan inestabilidad de los microsatélites muestran un pronóstico significativamente mejor en comparación con aquellos que no lo tienen (33).

El impacto que ha producido esta investigación es variable. Algunos estudios exponen que tumores con IMS tienen una sobrevida mejor, comparados con los que no lo tienen pero el valor pronóstico varía significativamente entre los diferentes estudios (31).

En general se puede decir que la inestabilidad microsatelital puede ser utilizada como marcador pronóstico y responsable de la terapia posterior establecida.



Capítulo III

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

1. Determinar el porcentaje de la falta de expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital y su distribución de acuerdo a factores pronósticos en biopsias de pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal atendidos en el Instituto del Cáncer Solca-Cuenca durante el periodo 2004-2014.

3.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar a la población socio-demográficamente
2. Determinar la frecuencia de expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital en las biopsias de pacientes con cáncer colorrectal
3. Identificar factores pronósticos: sitio de lesión, tipo histológico, grado de diferenciación histológica, etapa clínica.
4. Determinar la distribución entre la expresión proteica y factores pronósticos.



Capítulo IV

4. Diseño metodológico

4.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio analítico transversal

4.2 Área de estudio

Servicio de Anatomía Patológica del Instituto del Cáncer, SOLCA, Cuenca, Ecuador.

4.3 Universo

En universo fue tomado como desconocido. El cálculo del tamaño de la muestra para determinar la presencia de la expresión proteica del conjunto de proteínas de la inestabilidad microsatelital se realizó utilizando una prevalencia estimada de 15% con un intervalo de confianza del 95%, precisión de 5%

Se utilizó el Software EpiInfo V 7.2.1.0

Population survey or descriptive study For simple random sampling, leave design effect and clusters equal to 1.			
	Confidence Level	Cluster Size	Total Sample
Population size: 999999	80%	84	84
Expected frequency: 15%	90%	138	138
Acceptable Margin of Error: 5%	95%	196	196
Design effect: 1,0	97%	240	240
Clusters: 1	99%	338	338
	99.9%	552	552
	99.99%	772	772

El tamaño de muestra requerido fue 196 casos. Al momento del inicio del proyecto contábamos con 240 casos que cumplían con criterios de inclusión y exclusión y trabajamos con este número de casos.

4.4 Criterios de inclusión

Todos los pacientes con diagnóstico de carcinoma colorrectal que cuenten con tejido para su análisis obtenido a través de endoscopias o resecciones quirúrgicas. Presencia de datos clínicos para el estudio.



4.5 Criterios de exclusión

Todos los pacientes con diagnóstico de carcinoma colorrectal que cuenten con tejido pero que el mismo presenten defectos de fijación y procesamiento que no permitan realizar técnicas de inmunohistoquímica.

Ausencia de datos de interés en la historia clínica

4.6 Variables.

- Variables demográficas: edad, sexo, residencia.
- Factores pronósticos: localización, tipo histológico, grado tumoral, etapa clínica
- Factores predictivos: falta de expresión tisular de proteínas del sistema microsatelital

4.7 Operacionalización de las variables

Las variables se operacionalizaron en una matriz. Anexo 1.

4.8 Procedimientos y técnicas

Una vez que el caso haya sido identificado mediante la revisión de los archivos de patología, se realizará:

- Verificación de criterios de inclusión y exclusión.
- Llenado del cuestionario por parte del equipo investigador en el que se incluyen los factores pronósticos a analizar y posteriormente con los que se quiere establecer relación. Esto se lo realizara revisando las historias clínicas digitalizadas y el informe de anatomía patológica. (Anexo 5)
- Se procedió a la recuperación del bloque de tejido y a la fabricación automatizada de los arreglos de tejido (TMA) con el equipo Unitma, modelo UATM-272 A de procedencia Koreana, para lo cual se puncionó núcleos de tejido cilíndrico que miden 3 mm de diámetro y se insertan en una parafina receptora. Todos los bloques contenían control positivo.
- Realización de la técnica de inmunohistoquímica: Se utilizó 4 proteínas como son MLH1, MSH6, MSH2, PMS2. Para el control de calidad cada uno de los casos fueron interpretados con un control positivo. Los



anticuerpos utilizados son MLH1 clona 6168-728 B105B, MSH2 clona 219-1129 B105B, MSH6 clona 44 B105B, PMS2 clona EP51 B105B. Se utilizó el kit de detección Ultra View Universal DAB Ventana Equipo para procesamiento Benchmark Ventana. La interpretación de la expresión fue realizada por dos patólogos previamente capacitados para ello.

- Interpretación: Casos que mostraron ausencia de tinción nuclear en presencia de tinción en tejidos no neoplásicos adyacentes, como el epitelio normal de colon, células del estroma e inflamatorias, fueron consideradas como falta de expresión.

4.9 Análisis de la información y presentación de los resultados

- Una vez recopilados los datos sobre las variables de estudio se ingresaron en una matriz de datos en el programa estadístico SPSS versión 15 en español para Windows™ y se procesó la información con estadística descriptiva y analítica.
- Las variables fueron analizadas en número de casos (n) y porcentajes (%). Se presentan los resultados en tablas simples y de doble entrada para la distribución de frecuencias, porcentajes. Se realizó análisis bivariado y regresión logística multivariado. Se consideraron significativos los valores de $P < 0.05$

4.10 Aspectos éticos de la investigación

El proyecto respetó las normas éticas de investigación en sujetos humanos establecidas. Se considera, implícitamente, que no invade el derecho a la privacidad del paciente, ni atenta contra sus derechos, por tanto, el presente estudio prescindió del consentimiento informado. Sin embargo, se garantizó que el manejo de la información se apegará estrictamente a los objetivos de la investigación y su divulgación se convierte en un atributo académico o de las instituciones de salud en las que se realizó.



Capítulo V

5. Resultados

Se estudiaron 240 pacientes. El 37.9% correspondió a hombres y el 62.1%, a mujeres. La media de la edad fue 66.2 años (DS 16.7), la mínima 19 años y la máxima 105, la mediana fue de 67 años; en ambos casos correspondieron a pacientes de sexo femenino. En la zona urbana residían el 82.9% de pacientes y en la rural el 17.1%.

En lo que se refiere a la expresión tisular del conjunto de las proteínas reparadoras del sistema microsatelital, se observó falta de expresión en un 24.2% (58 pacientes). El 82.75% (48 casos) no expresó 2 proteínas, 10.34% (6 casos) 3 proteínas y el 6.89% (4 casos) 4 proteínas. En cuanto a que proteínas, el 68.96% (40 casos) fueron MLH1/PMS2; 1.72 % (1 caso) MSH2/MSH6 y el 29.31% para otras combinaciones. El 75,8% del total (182 pacientes) si tuvieron una expresión conservada.

La distribución de los casos de acuerdo a los factores pronósticos y sus categorías, se presentó de la siguiente manera:

Tabla 1. Distribución de 240 pacientes con cáncer colorrectal de acuerdo a factores pronósticos Instituto del Cáncer, SOLCA. 2004 a 2014.

Factores pronósticos	n = 240	% = 100
<i>Localización</i>		
Recto	99	41,3
Sigmoides	30	12,5
Derecho	80	33,3
Izquierdo	19	7,9
Transverso	12	5,0
<i>Histología</i>		
Adenocarcinoma	207	86,3
A. Mucinoso	31	12,9
A. Anillo de sello	2	0,8
<i>Grado</i>		
Moderado	178	74,2
Poco	68	25,0
Bien	1	0,4
<i>Etapas Clínicas</i>		
I	36	15,0
II	76	31,7
III	59	24,6
IV	69	28,7

Fuente: Base de datos de la investigación
 Elaborado por: Murillo Rocío



En la actualidad, debido a las diferencias en la carcinogénesis, el comportamiento clínico, estrategias de manejo y expectativas de supervivencia al cáncer de colon y recto se lo estudia por separado; a su vez el colon se lo divide en derecho o proximal (ciego, colon ascendente y transversal) e izquierdo o distal (colon descendente y sigma). Para el análisis de la expresión proteica se ha tomado en cuenta estos aspectos.

La expresión tisular de proteínas reparadoras de acuerdo a los factores pronósticos en cáncer colorrectal se presenta en la tabla a continuación:

Tabla 2. Análisis bivariado de la expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital y factores pronósticos en 240 biopsias de pacientes con cáncer colorrectal. Instituto del Cáncer, SOLCA. 2004 a 2014. Cuenca.

Factores pronósticos	Expresión de proteínas				Total (n = 240)	%	OR	IC	p
	Si (n = 182)	%	No (n = 58)	%					
Sexo									
Masculino	71	39,01	20	34,48	91	37,92	1,2	0,6-2,2	0.5
Femenino	111	60,99	38	65,52	149	62,08			
Localización									
Recto	92	50,55	7	12,07	99	41,25	7.4	3,2 - 17	0.0
Colon	90	49,45	51	87,93	141	58,75			
Tipo Histológico									
Adenocarcinoma	161	88,46	46	79,31	207	86,25	2	0,9 - 4	0.07
Mucinoso y A. sello	21	11,54	12	20,69	33	13,75			
Grado Tumoral									
Bien y Moderado	146	80,22	34	58,62	179	75	2.8	1.5 - 5.4	*0.0001
Poco	36	19,78	24	41,38	60	25			
Etapas clínicas									
I	27	14,8	9	15,5	36	15	0.9	0.4 - 2.1	0.8
II	54	29,7	22	37,9	76	31,7	0.8	0.4 - 1.5	0.6
III	45	24,7	14	24,1	59	24,6	1.0	0.5 - 2.0	0.9
IV	56	30,8	13	22,4	69	28,8	1.5	0.7 - 3.0	0.2

Fuente: Base de datos de la investigación
Elaborado por: Murillo Rocío.

La asociación estadística de la expresión tisular de las proteínas reparadoras del sistema microsatelital se estableció con los factores localización del tumor y grado de diferenciación.



Los resultados que a continuación se presentan corresponden solamente a cáncer de colon.

Tabla 3. Análisis bivariado de la expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital y factores pronósticos en 141 biopsias de pacientes con cáncer colon. Instituto del Cáncer, SOLCA. 2004 a 2014. Cuenca

Factores pronósticos	Si (n = 90)	Expresión proteica		Total (n = 141)		OR	IC	p	
		%	No (n = 51)	%	%				
Localización									
Izquierdo	46	51,11	3	5,88	49	34,75	16	4.8 - 57.6	*0.000
Derecho	44	48,89	48	94,12	92	65,25			
Tipo Histológico									
Adenocarcinoma	78	86,67	42	82,35	120	85,11	1.39	0.5 - 3.5	0.48
Mucinoso	12	13,33	9	17,65	21	14,89			
Grado Tumoral									
Moderado	70	77,78	32	62,75	102	72,34	2.07	0.9 - 4.4	0.05
Poco	20	22,22	19	37,25	39	27,66			
Etapa clínica									
I	12	13,33	9	17,64	21	14,89	0.71	0.2 - 1.8	0.48
II	29	32,22	21	41,17	50	35,46	0.67	0.3 - 1.3	0.28
III	18	20,00	11	21,56	29	20,56	0.90	0.3 - 2.1	0.82
IV	31	34,44	10	19,60	41	29,07	2.15	0.9 - 4.8	0.06

Fuente: Base de datos de la investigación
Elaborado por: Murillo Rocío

La mayor frecuencia de los casos que no expresaron las proteínas del sistema microsatelital se observaron en los pacientes con localización del cáncer en el lado derecho, tipo histológico adenocarcinoma, grado moderadamente diferenciado y en la etapa clínica II.



Tabla 4. Distribución de la expresión tisular de proteínas reparadoras del sistema microsatelital y factores pronósticos en 99 biopsias de pacientes con cáncer de recto. Instituto del Cáncer, SOLCA. 2004 a 2014. Cuenca

Factores pronósticos		Expresión proteica				Total (n = 99)	%
		Si (n = 92)	%	No (n = 7)	%		
Tipo Histológico	Adenocarcinoma	83	90,21	4	57,14	87	87,87
	Mucinoso	9	9,78	3	42,85	12	12,12
Grado Tumoral	Moderado	75	81,52	2	28,57	77	77,77
	Poco	16	28,26	5	71,42	21	21,21
	Bien	1	1,086	0	0	1	1,01
Etapa clínica	I	15	16,3	0	0	15	15,15
	II	25	27,17	1	14,2	26	26,26
	III	27	29,34	3	42,85	30	30,3
	IV	25	40,32	3	42,85	28	28,28

Fuente: Base de datos de la investigación
Elaborado por: Murillo Rocío

Cabe señalar que los estudios no muestran que la no expresión de estas proteínas incida como factor predictivo cuando se localiza en recto.

Tabla 5. Análisis de regresión logística de los factores asociados a la no expresión de proteínas del sistema microsatelital en pacientes con cáncer de colon

Factor pronóstico	E.T.	Wald	Sig.	Exp(B)	
Sexo	0,449	0,496	0,481	1,372	
Localización	0,652	20,089	0	0,054	
Histología	0,741	1,257	0,262	2,296	
Grado	0,622	3,017	0,082	0,34	
Etapa	I	0,696	4,265	0,039	4,212
	II	0,536	4,916	0,027	3,284
	III	0,611	2,799	0,094	2,777

Fuente: Base de datos de la investigación
Elaborado por: Murillo Rocío

En el análisis multivariado se encontró asociación estadística entre la localización y la etapa clínica I y II.

Fig. 2

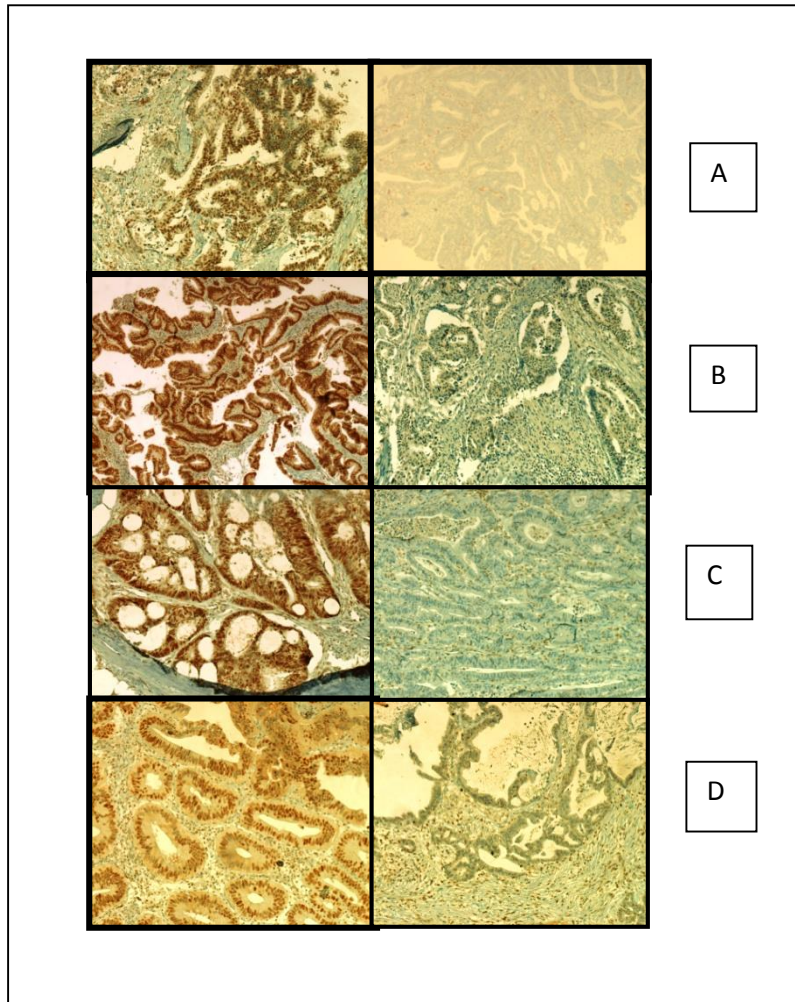


Fig. 2. Inmunohistoquímica
A.- MLH1 positivo y negativo
A.- MSH2 positivo y negativo
A.- MSH6 positivo y negativo
A.- PMS2 positivo y negativo



Capítulo VI

Discusión

El cáncer de colon constituye una de las neoplasias con mayor diagnóstico a nivel del mundo entero. La inestabilidad de los microsatélites es conocida como un factor pronóstico y predictivo en estos pacientes. El análisis genético de estas pruebas en forma rutinaria, a veces no es factible por costos. El objetivo de este trabajo fue identificar la frecuencia de la expresión de proteínas del sistema microsatelital en pacientes con cáncer colorrectal mediante técnicas de inmunohistoquímica.

En el estudio multicéntrico realizado por Yang et. al. que incluyó 57847 pacientes con cáncer colorrectal, la mediana de edad al momento del diagnóstico fue de 72 años, el sexo masculino fue ligeramente mayor (50.30%) que el femenino (49.69%) (34). En el 2015, Hassan y colaboradores publicaron en EE.UU. un estudio en 1628 pacientes hispanos con la misma enfermedad; la mediana de la edad fue 54 años, los hombres se afectaron en un 35.8% y las mujeres en un 64.2%(35). González et. al. en 2014 en un estudio realizado en España con 1482 pacientes, mostró que la mediana fue 69 años de edad; un 55.2% de los enfermos eran varones. El presente estudio establece una mediana de edad de 67 años, dato cercano al encontrado en los trabajos de Yang et. al. y Gonzalez et. al.; la edad presentada en el trabajo de Hassan et. al., dado que la población estudiada fueron hispanos, quizá pueda explicarse por la procedencia de los individuos y los cambios en el estilo que conlleva la migración. Los resultados obtenidos en el trabajo que se presenta, muestra diferencias en cuanto al sexo: las mujeres afectadas representaron el 62.1% y los hombres el 37.9%, datos más cercanos a los estudios realizados en pacientes hispanos; al parecer, se hacen necesarias investigaciones que agrupen las diferentes fuentes de información para identificar una distribución de la enfermedad más precisa en cuanto a sexo.

En la actualidad, la literatura menciona que el cáncer de colon y recto deberían ser considerados como entidades distintas y existen varios estudios que así lo sustentan: Akhoond et. al. trabajó con 1194 casos encontrando que el 67.2% se localizó en colon y el 32.8% en recto (36); Lee et. al. en 261.523 pacientes



presentó un 70.3% en colon y un 29.7% en recto (37). Nuestro estudio mostró en colon un 58.75% y en recto el 41.25%, manteniéndose la distribución proporcional entre estas localizaciones.

La utilidad de los factores pronósticos tipo histológico y grado de diferenciación ha sido demostrada desde tiempo atrás. Yang et. al (35); Akhoond et. al. (36); Tapia et.al. (39), y Sjo et. al. (40) mostraron que el tipo histológico más frecuente fue el adenocarcinoma, y en lo concerniente al grado, el moderadamente diferenciado representó el mayor porcentaje. En nuestros resultados, el adenocarcinoma correspondió al 86.25% y el grado moderadamente diferenciado al 75%, que son valores concordantes.

La etapa clínica constituye un aspecto determinante en lo referente a sobrevida de los pacientes oncológicos, y la frecuencia en cada una de ellas es variable. En este estudio, la etapa clínica II fue la más frecuente con 31.7%. Existen algunas investigaciones con resultados similares como las publicadas por Oca et. al en el 2012 (41), Arai en el 2006 (27), Baltalarli en 2013 (42), con 106 casos (28.3%), 184 casos (41.30%) y 56 pacientes (44.6%) respectivamente, en los que la etapa clínica II fue la más frecuente.

La inestabilidad de los microsatélites estudiados, ya sea por análisis del gen o por la expresión de sus proteínas (inmunohistoquímica) es de gran importancia. La investigación de alteraciones moleculares en los pacientes con cáncer colorrectal, constituyen indicadores de evolución clínica en base a lo cual, a futuro, se va a poder realizar una clasificación molecular (43). Varios autores muestran esta alteración molecular en sus estudios: Zarate et. al con 109 casos encontró inestabilidad de microsatélites en un 16 % (21); Zhenquiang en el 27.3% de 404 casos (44); Parc et. al. en el 17% de 142 (45) y Heald et. al. con 1108 pacientes reportó un 16 % (46) con este cambio molecular. En el trabajo que se presenta, la alteración se dio en un 24.2% de pacientes con cáncer colorrectal que tienen una vía de proliferación diferente a la conocida tradicionalmente; el porcentaje de pacientes que presentan este cambio parece ser relativamente parecido en los diferentes grupos poblacionales.



La utilización de 4 marcadores (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) equivalente a la inestabilidad de los microsatélites ha convertido a la inmunohistoquímica en una técnica de valor predictivo alto. Los hallazgos encontrados en el presente trabajo mostraron que el 82.75% no expreso dos proteínas; 10.34% tres y el 6.89% cuatro proteínas. En cuanto a que proteínas, el 68.96% fueron MLH1/PMS2 sugiriéndose que podría estar dañado el gen MLH1, sin poder distinguir si son de origen germinal o no; el 1.72% no expresaron MSH2/MSH6 en el cual podría existir mutación en la línea germinal MSH2 necesitándose del análisis genético por la probabilidad de presentar síndrome de Lynch, tal y como lo expresa Zhang et. al, Kheirelseid et. al. en sus publicaciones (47,48). Los autores mencionados no desagregan la información en cuanto a estos hallazgos. Cicek et. al en el 2011 publicó el 56.6% no expresaron MLH1/PMS2 y 19.1% MSH2/MSH6 (29).

Cuando se revisa la distribución de inestabilidad de los microsatélites determinado por la ausencia de expresión proteica en relación a los factores pronósticos en el cáncer colorrectal se encuentra que Jung et. al. publica 176 casos con inestabilidad de los microsatélites, el 42.6% fueron mujeres, 51.1% se localizaron en el lado derecho, 51.7% son poco diferenciados y el 34% son estadio II (49). Gryfe et. al en un trabajo con 607 carcinomas colorrectales e IMS publicó que 50.0% fueron mujeres, el 26% estuvieron en el lado derecho, 92% correspondieron a tipo adenocarcinoma, 73% mostraron grado moderado y el 26% tuvieron etapa II, datos que muestran una distribución cercana a los hallazgos de nuestro estudio (66.52% en mujeres; 94.12% se ubicaron en el lado derecho; 79,31% fueron adenocarcinomas, 58,62% estuvieron en grado moderado y el 37,9% en etapa II). El análisis multivariado realizado por Gryfe et. al. encontró que la inestabilidad de microsatélites actúa como factor significativamente independientemente de la supervivencia; el mecanismo por el cual influye en el resultado clínico se desconoce, pero puede estar relacionado con el tipo de mutaciones o las dianas genéticas implicadas (50), por lo que se requiere estudios multicéntricos. En nuestros hallazgos se encontró asociación estadística de la inestabilidad microsatelital con la localización ($p: 0.0$) y el grado tumoral ($p < 0.05$).

En 520 casos estudiados, Alexander et. al. reportaron un 15% con diferenciación mucinosa hallándose asociación significativa con este patrón distintivo,



reproducible y reconocido por la producción de mucina que puede ser focal (51); en el estudio que se presenta se analizó en conjunto el patrón histológico con sus categorías, no encontrándose asociación estadística en el análisis bivariado.

En los trabajos que se refieren a cáncer de colon por separado, datos reportados por Lin et. al. en Taiwan con 709 pacientes, la distribución favoreció al lado derecho (76.7%), tipo histológico adenocarcinoma (100.0%), grado moderado (71.7%) y etapa clínica II (55.0%) evidenciándose asociación estadística con localización, grado y tipo histológico ($p: 0.001$) (52). Kawakami et. al., Sinicrope et. al. mencionan que los pacientes que presentan inestabilidad tienen localización preponderante en colon derecho, son pocos diferenciados y de tipo mucinoso (53,54). En los hallazgos de la investigación que se presenta, la mayor frecuencia de los casos que presentaron inestabilidad de los microsatélites se dio en lado derecho (94.12%), tipo histológico adenocarcinoma (82.35%), grado moderado (62.75%) y en la etapa clínica II (41.17%), encontrándose asociación estadística con la localización ($p: 0.00$) y el grado tumoral ($p: 0.005$). En el análisis de regresión logística binaria se encontró asociación con las etapas clínica I y II.



CAPITULO VII

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- 1.- El 62.1% del cáncer colorrectal correspondió a mujeres. La media de la edad fue 66.2 años
- 2.- La mayor localización fue en colon con 58.75% y recto en 41.25%.
- 2.- En lo referente a factores pronósticos nuestros datos mostraron: el lado derecho en 65.25%; tipo histológico adenocarcinoma sin otra especificación el 86.25%; Grado: moderado en un 75%; y la etapa clínica II el 31.7% seguida de la IV en un 28.8%.
- 3.- Un 24.2 % (58 pacientes) mostraron inestabilidad de los microsatélites.
- 4.- El 68.96% (40 casos) no expresaron MLH1/PMS2; 1.72 % (1 caso) MSH2/MSH6.
- 5.- En pacientes con cáncer de colon, la inestabilidad de los microsatélites se observó con mayor frecuencia en lado derecho (94.12%), tipo histológico adenocarcinoma (82.35%), grado moderado (62.75%) y en la etapa clínica II (41.17%), encontrándose asociación estadística con la localización ($p: 0.00$) y el grado tumoral en el análisis bivariado y en el análisis de regresión logística binaria se halló significancia con la etapa clínica I y II.



RECOMENDACIONES

- 1.- La inestabilidad microsatélital (MSI) se considera un factor pronóstico y predictivo de la respuesta de la quimioterapia, por lo que en los pacientes con cáncer de colon, se requiere en forma protocolizada realizar un análisis integral tanto clínico como molecular y determinar su óptimo valor.
- 2.- La inmunohistoquímica es una técnica de menor costo que el análisis genético, con alto valor predictivo, por lo que se puede ser utilizada para el análisis de esta alteración molecular.
- 3.- En la actualidad la oncología y los diferentes tratamientos establecidos se están basando en clasificaciones moleculares y el cáncer de colon no es la excepción. La inestabilidad de los microsatélites forma parte de la nueva clasificación molecular del cáncer de colon que se está proponiendo junto con otros marcadores por lo que recomienda su realización en forma rutinaria.



Bibliografía

- 1.- Juárez Vásquez C, Rosales Reynoso M. Cancer colorrectal: alteraciones genéticas y moleculares. Gaceta Médica de México. [Serial on the internet 2014; [cited July 27,2015] 150:154-64. Available from: http://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n2/GMM_150_2014_2_154-164.pdf
- 2.- Hano García O, Wood Rodríguez L, Galban García E, Abreu Vasquez M. Factores de riesgo para el cáncer colorrectal. (Spanish). Revista cubana de Medicina [Serial on the internet].(2011,Ap), [cited July 27,2015].50(2):118-132. Available from: Academic Search Complete.
- 3.- Herzig DO, Tsikitis VL. Molecular markers for colon diagnosis, prognosis and targeted therapy. Journal of Surgical Oncology [Internet]. Wiley-Blackwell; 2014 Oct 8;111(1):96–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jso.23806>.
- 4.- Haggar F, Boushey R. Colorectal Cancer Epidemiology: Incidence, Mortality, Survival, and Risk Factors. Clinics in Colon and Rectal Surgery [Internet]. Thieme Publishing Group; 2009 Nov;22(04):191–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1242458>
- 5.- Rannug U. Microsatellite instability and loss of heterozygosity detected in middle-aged patients with sporadic colon cancer: A retrospective study. Oncol Lett [Internet]. Spandidos Publications; 2013 Sep 12; Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/ol.2013.1573>
- 6.- Borda F., Martínez-Peñuela J.M., Borda A., Urman J., Jiménez J., Zozaya J.M.. Expresión tisular de proteínas reparadoras e infiltración linfocítica tumoral: significado pronóstico en el carcinoma colorrectal resecao. Anales Sis San Navarra [revista en la Internet]. 2012 Dic [citado 2015 Nov 18] ; 35(3): 377-384. Disponible en:http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113766272012000300003&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S1137-66272012000300003>.
- 7.- Joost P, Veurink N, Holck S, Klarskov L, Bojesen A, Nilbert M, et al. Heterogenous mismatch-repair status in colorectal cancer. Diagnostic Pathology



[serial on the Internet]. (2014, July), [cited July 30, 2015]; 9(1): 1-16. Available from: Academic Search Complete.

8.- Vásquez Conus ME. Aplicaciones de la biología molecular en el cáncer colorrectal (I). Medwave [Internet]. Academy of Sciences and Arts of the Republic of Srpska; 2003 Jan 1;3(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.5867/medwave.2003.01.3576>.

9.- Kamat N. et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity detected in middle-aged patients with sporadic colon cancer: A retrospective study. Oncology Letters [serial on the Internet]. (2013, Sep), [cited January 23, 2015]; 6(5): 1413-1420. Available from: Academic Search Complete.

10.- Arcos M, Acevedo Tirado M. Revisión y actualización general en cáncer colorrectal. Anales De Radiologia, Mexico [serial on the Internet]. (2009, Jan), [cited November 17, 2015]; 8(1): 99-115. Available from: Academic Search Complete.

11.- Neumann J, Horst D, Kriegl L, Maatz S, Engel J, Jung A, et al. A simple immunohistochemical algorithm predicts the risk of distant metastases in right-sided colon cancer. Histopathology [Internet]. Wiley-Blackwell; 2012 Jan 25;60(3):416–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04126.x>

12.- Irabor D. Diet, environmental factors and increasing incidence of colorectal cancer in Nigeria. Annals Of Nigerian Medicine [serial on the Internet]. (2014, July), [cited October 2, 2015]; 8(2): 58-64. Available from: Academic Search Complete.

13.- Daniela C, Simona B, Melania M, Chindriş V. Alcohol Consumption and the Risk of Developing Colorectal Cancer and Colorectal Polyps. Acta Medica Marisiensis [serial on the Internet]. (2012, Dec), [cited October 5, 2015]; 58(6): 384-386. Available from: Academic Search Complete.

14.- Oluyemi A, Welch A, Yoo L, Lehman E, McGarrity T, Chuang C. Colorectal cancer screening in high-risk groups is increasing, although current smokers fall



behind. Cancer (0008543X) [serial on the Internet]. (2014, July 15), [cited October 5, 2015]; 120(14): 2106-2113. Available from: Academic Search Complete.

15.- Amarillo H, Fourcans S, Barbosa R, Manson R, Amarillo H. Tabaquismo y cáncer colorrectal. Revista Mexicana De Coloproctología [serial on the Internet]. (2008, May), [cited November 17, 2015]; 14(2): 57-62. Available from: Academic Search Complete.

16.- Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Biology of colorectal cancer. E cancer medicals science [serial on the Internet]. (2015, June), [cited July 30, 2015]; 9(519-548): 1-20. Available from: Academic Search Complete.

17.- Takahashi Y, Sugai T, Habano W, Ishida K, Eizuka M, Otsuka K, et al. Molecular differences in the microsatellite stable phenotype between left-sided and right-sided colorectal cancer. International Journal of Cancer [Internet]. Wiley-Blackwell; 2016 Sep 19;139(11):2493–501. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.30377>

18.- Silva AC, Hara AK, Leighton JA, Heppell JP. CT Colonography with Intravenous Contrast Material: Varied Appearances of Colorectal Carcinoma. RadioGraphics [Internet]. Radiological Society of North America (RSNA); 2005 Sep;25(5):1321–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1148/rg.255045184>.

19.- Tsikitis V. Predictors of recurrence free survival for patients with stage II and III colon cancer. BMC Cancer [serial on the Internet]. (2014, June), [cited January 23, 2015]; 14(1): 21-34. Available from: Academic Search Complete.

20.- Zarate C AJ, Álvarez V K, Villarroel S C, Wielandt N AM, Kronberg U, Cavada R G, et al. CARACTERIZACIÓN DEL INFILTRADO LINFOCITARIO (CD3, CD4, CD8, CD45RO Y FOXP3) E INESTABILIDAD MICRO-SATELITAL EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL. Revista chilena de cirugía [Internet]. Elsevier BV; 2015 Feb;67(1):43–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-40262015000100007>.

21.- Iacopetta B, Grieco F, Amanuel B. Microsatellite instability in colorectal cancer. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology [Internet]. Wiley-Blackwell; 2010



Oct 26;6(4):260–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-7563.2010.01335.x>

22.- Payá Romá A, Alenda González C, Jover Martínez R, Aranda López FI. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Revista Española de Patología* [Internet]. Elsevier BV; 2006 Oct;39(4):201–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1699-8855\(06\)70042-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1699-8855(06)70042-3)

23.- Grady WM, Markowitz SD. The Molecular Pathogenesis of Colorectal Cancer and Its Potential Application to Colorectal Cancer Screening. *Digestive Diseases and Sciences* [Internet]. Springer Nature; 2014 Dec 10;60(3):762–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-014-3444-4>

24.- Malkhosyan SR, Yamamoto H, Piao Z, Perucho M. Late onset and high incidence of colon cancer of the mutator phenotype with hypermethylated hMLH1 gene in women. *Gastroenterology* [Internet]. Elsevier BV; 2000 Aug;119(2):598. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2000.16154>

25.- Jover R, Payá A. Inestabilidad de microsatélites en el cáncer colorrectal: concepto, métodos de detección y utilidad clínica. *Gastroenterología y Hepatología* [Internet]. Elsevier BV; 2003 Jan;26(10):656–63. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5705\(03\)70427-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5705(03)70427-0)

26.- Arai T, Sugai T, Kasahara I, Sawabe M, Honma N, Aida J, et al. Age-related alteration in the association of microsatellite instability with absent hMLH1 expression and histological types of colorectal carcinoma. *PatholInt* [Internet]. Wiley-Blackwell; 2006 Oct;56(10):597–603. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1827.2006.02014.x>

27.- Hurtado Claudia, Wielandt Ana María, Zárate Alejandro J, Kronberg Udo, Castro Magdalena, Yamagiwa Ken et al . Análisis molecular del cáncer de colon esporádico. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2015 Mar [citado 2015 Nov 24]; 143(3): 310-319. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872015000300005&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872015000300005>



- 28.- Shia J. Immunohistochemistry versus Microsatellite Instability Testing For Screening Colorectal Cancer Patients at Risk For Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome. *The Journal of Molecular Diagnostics* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Jul;10(4):293–300. Available from: <http://dx.doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080031>
- 29.- Copija A, Waniczek D, Witkoś A, Walkiewicz K, Nowakowska-Zajdel E. Clinical Significance and Prognostic Relevance of Microsatellite Instability in Sporadic Colorectal Cancer Patients. *International Journal Of Molecular Sciences* [serial on the Internet]. (2017, Jan), [cited March 12, 2017]; 18(1): 1-12. Available from: Academic Search Complete.
- 30.- Sun Z, Yu X, Wang H, Zhang S, Zhao Z, Xu R. Clinical significance of mismatch repair gene expression in sporadic colorectal cancer. *ExpTher Med* [Internet]. Spandidos Publications; 2014 Aug 22; Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2014.1927>
- 31.- Zaanani A, Meunier K, Sangar F, Fléjou J-F, Praz F. Microsatellite instability in colorectal cancer: from molecular oncogenic mechanisms to clinical implications. *Cellular Oncology* [Internet]. Springer Nature; 2011 Apr 12;34(3):155–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13402-011-0024-x>
- 32.- Yang J, Du X, Li S, Wang B, Wu Y, Yang J, et al. Characteristics of Differently Located Colorectal Cancers Support Proximal and Distal Classification: A Population-Based Study of 57,847 Patients. *Plos ONE* [serial on the Internet]. (2016, Dec 9), [cited March 6, 2017]; 11(12): 1-12. Available from: Academic Search Complete.
- 33.- Murphy GA, Devesa SS, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Abstract 1817: Sex disparities in colorectal cancer incidence by anatomic subsite, race and age. *Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research (AACR); 2010 Apr 15;70(8 Supplement):1817–1817. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1538-7445.am10-1817>.
- 34.- Akhoond M, Kazemnejad A, Hajizadeh E, Motlagh A. Comparison of colon and rectum cancer: survival and prognostic factors. *Gastroenterology*



&Hepatology From Bed To Bench [serial on the Internet]. (2010, Oct), [cited March 6, 2017]; 3(4): 177-186. Available from: Academic Search Complete

35.- Sjo O, Lunde O, Nygaard K, Sandvik L, Nesbakken A. Tumour location is a prognostic factor for survival in colonic cancer patients. *Colorectal Disease* [serial on the Internet]. (2008, Jan), [cited March 11, 2017]; 10(1): 33-40. Available from: Academic Search Complete.

36.-González Sáez, L. A. (2014). Mortalidad por cáncer colorrectal en Galicia: supervivencia y factores pronósticos del cáncer colorrectal. [cited March 11, 2017]; Available from: http://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/13731/GonzalezSaez_Luis%20Alfonso_TD_2014.pdf?sequence=4&isAllowed=y

37.- Fariña Sarasqueta A, Forte G, Corver W, de Miranda N, Ruano D, Morreau H, et al. Integral analysis of p53 and its value as prognostic factor in sporadic colon cancer. *BMC Cancer* [serial on the Internet]. (2013, July), [cited March 6, 2017]; 13(1): 1-11. Available from: Academic Search Complete.

38.- Alejandro J. Zárate C, Karin Álvarez V, Cynthia Villarroel S, Wielandt N. A, Gabriel Cavada R, López-Köstner F, et al. Caracterización del infiltrado linfocitario (cd3, cd4, cd8, cd45ro y foxp3) e inestabilidad microsatelital en pacientes con cáncer colorrectal. *Revista Chilena De Cirugia* [serial on the Internet]. (2015, Feb), [cited March 11, 2017]; 67(1): 43-50. Available from: Academic Search Complete.

39.- Zhenqiang S, Xianbo Y, Haijiang W, Shuo Z, Zeliang Z, Ruiwei X. Clinical significance of mismatch repair gene expression in sporadic colorectal cancer. *Experimental & Therapeutic Medicine* [serial on the Internet]. (2014, Nov), [cited March 11, 2017]; 8(5): 1416-1422. Available from: Academic Search Complete.

40.- Parc Y. Prognostic significance of microsatellite instability determined by immunohistochemical staining of MSH2 and MLH1 in sporadic T3N0M0 colon cancer. *Gut* [Internet]. *BMJ*; 2004 Mar 1;53(3):371–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.019190>.



41.- Gryfe R, Kim H, Hsieh ETK, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [Internet]. *New England Journal of Medicine (NEJM/MMS)*; 2000 Jan 13;342(2):69–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/nejm200001133420201>

42.- Alexander J, Watanabe T, Wu T-T, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. *The American Journal of Pathology* [Internet]. Elsevier BV; 2001 Feb;158(2):527–35. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63994-](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63994-)



Anexos

Anexo 1

DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
Edad: tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta su intervención quirúrgica o toma de biopsia	Tiempo	Años	Menor 10 años 10 a 20 años 21 a 40 años 41 a 50 años 51 a 60 años Mayor 61 años
Sexo: diferentes características fenotípicas que diferencian hombre de la mujer	Características fenotípicas	Fenotipo registrado en el formulario	Masculino Femenino
Residencia: sitio geográfico registrado como domicilio	Lugar de residencia	Lugar de residencia	Urbana Rural
Sitio de lesión: Lugar de crecimiento	Anatomo-patológica	Historia clínica Reporte de colonoscopia	Derecho Transverso Izquierdo Sigma Recto
Tipo histológico de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud Características morfológicas y	Histológico	Características macro y microscópicas en el informe de patología	adenocarcinoma, adenocarcinoma mucinoso, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma de células pequeñas, carcinoma medular,



patrón de crecimiento			carcinoma indiferenciado carcinoma neuroendocrino
Grado de diferenciación Similitud existente entre las células parenquimatosas neoplásicas con respecto a las células parenquimatosas normales tanto morfológicamente como funcionalmente	Histológica	Informe de anatomía patológica	Bien diferenciados Moderadamente diferenciados Poco diferenciados
Etapa clínica según NCCN año 2016	Valoración clínica e imagenológica	Revisión en la historia clínica	I II III IV
Inestabilidad microsatelital Mutaciones en secuencias altamente repetitivas denominadas microsatélites	Expresión proteica	Análisis por inmunohistoquímica	<u>IHQ</u> MLH1: Expresa No expresa MSH2: Expresa No expresa MSH6 : Expresa No expresa PMS2: Expresa No expresa

ANEXO 2.

OFICIO DE AUTORIZACIÓN AL DOCTOR ALVARADO.

Cuenca, 5 de octubre del 2015

Doctor.

Raúl Alvarado

DIRECTOR DE SOLCA

De nuestra consideración

Yo Magdalí del Rocío Murillo Bacilio, estudiante de la Maestría de Investigación de la Escuela de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca, con un cordial saludo me dirigimos a Usted, para solicitarle de la manera más comedida me brinde su autorización para la realización de mi tesis en el Instituto de SOLCA.

Por la favorable atención que se digne en dar a la presente, anticipamos nuestros agradecimientos.

Atentamente.

f).....

Magdalí del Rocío Murillo Bacilio

Tfno 0998718063

Email: rocimurillo4@yahoo.com.mx



Formulario N°		
DATOS GENERALES		
	Fecha de llenado del formulario	
P1	Edad en años cumplidos	
P2	Residencia:	<input type="checkbox"/> Urbana <input type="checkbox"/> Rural
P3	Sexo	<input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Femenino
P4	Localización de la lesión	Derecho Transverso Izquierdo Sigma Recto Multicéntrico
P5	Tipo histológico	adenocarcinoma, adenocarcinoma mucinoso carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma de células pequeñas carcinoma medular, carcinoma indiferenciado carcinoma neuroendocrino
P6	Grado de diferenciación	Bien diferenciados Moderadamente diferenciados Poco diferenciados
P7	Etapas clínicas según NCCN año 2016	I II III IV
P8	Expresión proteica del sistema MMR	MLH1 Expresa No expresada MSH2 Expresa No expresada MSH6 Expresa No expresada PMS2 Expresa No expresada