



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
CENTRO MÉDICO ABC

FRECUENCIA DE INESTABILIDAD MICROSATELITAL EN CÁNCER
DE COLON DEL LADO DERECHO, EN EL CENTRO MÉDICO ABC.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA
-ONCOLOGÍA MÉDICA-**

PRESENTA:

JOSÉ FABIÁN MARTÍNEZ HERRERA

DIRECTO DE TESIS:

DRA. RAQUEL GERSON CWILICH

FECHA DE PRESENTACIÓN: 10 DE NOVIEMBRE DE 2017.

LUGAR DE PRESENTACIÓN: CENTRO MÉDICO ABC, CAMPUS
OBSERVATORIO.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice

A. Resumen	3
B. Introducción	4
1. Antecedentes Generales	
2. Antecedentes Particulares	
C. Justificación	22
D. Pregunta de investigación	23
E. Objetivos	24
1. Objetivo principal	
2. Objetivos secundarios	
F. Metodología	25
G. Resultados	30
H. Discusión	39
I. Bibliografía	44

A. Resumen

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es una de las neoplasias más frecuente en el mundo y en México. Los tumores del lado derecho tienen pocas opciones de tratamiento y suelen ser de comportamiento más agresivo en etapas avanzadas. Recientemente, la identificación de inestabilidad microsatelital (IMS) por PCR o IHQ, se ha vuelto un biomarcador predictor a la inmunoterapia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión de expediente de patología de casos de cáncer colorrectal del hospital ABC de enero de 2015 a abril de 2017, seleccionando los casos con lateralidad derecha. Se describen las características clínicas, histológicas y moleculares de estos casos y la respuesta a la inmunoterapia en aquellos con IMS.

RESULTADOS

De 2,080 casos de patología revisados en el periodo señalado, se identificaron 90 casos de carcinoma de colon invasor. **De los 90 casos, solo 24 fueron testados, de los cuales 7 fueron positivos (29.2%).** En el colon derecho se identificaron 4 casos de IMS de 20 (7 testados por PCR y 5 por IHQ), lo que representa una frecuencia del 20% (4/20), comparando con solo 3 casos de IMS de 67 casos con lateralidad izquierda (4.48%). Se testaron 13 mujeres y 11 hombres, con mayores casos positivos en mujeres (20.8%), de lateralidad derecha (**16.7%, p=0.05**), con T3 (16.7%), N negativa o N2 (25%), no metastásico (12.5%), KRAS no mutado (16.7%) y BRAF mutado (8.3%). Fueron detectados más casos por PCR que por IHQ (6 vs 2), aunque solo en un caso se testó por ambos métodos siendo positivo en ambos. De los pacientes con **lateralidad derecha** (20), el género femenino también fue más frecuente (55%), con etapas tempranas (I y II) y localmente avanzada representando el 80%, y la etapa metastásica el 20% de los casos al diagnóstico. La mayoría presentó un aspecto macroscópicamente ulcerado (50%), en su mayoría con patrón intestinal, y con componente mucinoso y mucinosos puros correspondió al 45%, moderadamente diferenciados (65%), con algún grado de respuesta linfocítica intra tumoral en el 40%, y peri tumoral en el 35%, y una asociación a adenomas sin displasia en el 15% y con displasia en el 20%. De los casos con IMS, dos fueron expuestos a inmunoterapia, sin presentar respuesta al tratamiento. Por el tiempo de seguimiento no se determinó supervivencia global.

CONCLUSIONES

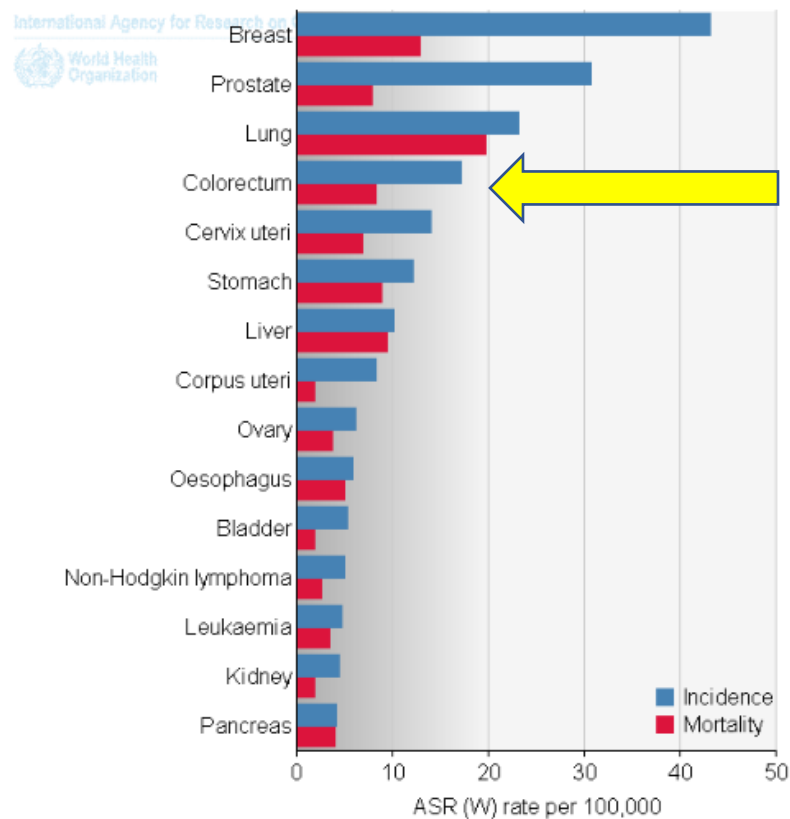
En esta revisión de casos, se encontró una frecuencia de inestabilidad microsatelital alta del 29.2% en el subgrupo testado y del 16.7% para el colon derecho, con otras características compatibles con lo previamente descrito y que podría ser más alta de realizar el escrutinio universal.

B. Introducción

1. Antecedentes Generales

El cáncer colorrectal representa una de las enfermedades oncológicas más frecuentes en incidencia y prevalencia en el mundo, ocupando el 4° lugar en incidencia según los datos del proyecto GLOBOCAN en su último reporte del 2012 (fig B1.1)¹. En Estados Unidos ocupa el 3er lugar en incidencia para ambos sexos, así como el 2° y 3er lugar en mortalidad para sexo masculino y femenino respectivamente (fig B1.2)², con un tercio diagnosticado en etapa temprana y casi un cuarto en etapa metastásica.

Estimated age-standardised incidence and mortality rates: both sexes



Estimated incidence, mortality and 5-year prevalence: both sexes

Fig. B1.1 Tasas de incidencia y mortalidad estimadas ajustadas para la edad en ambos sexos.

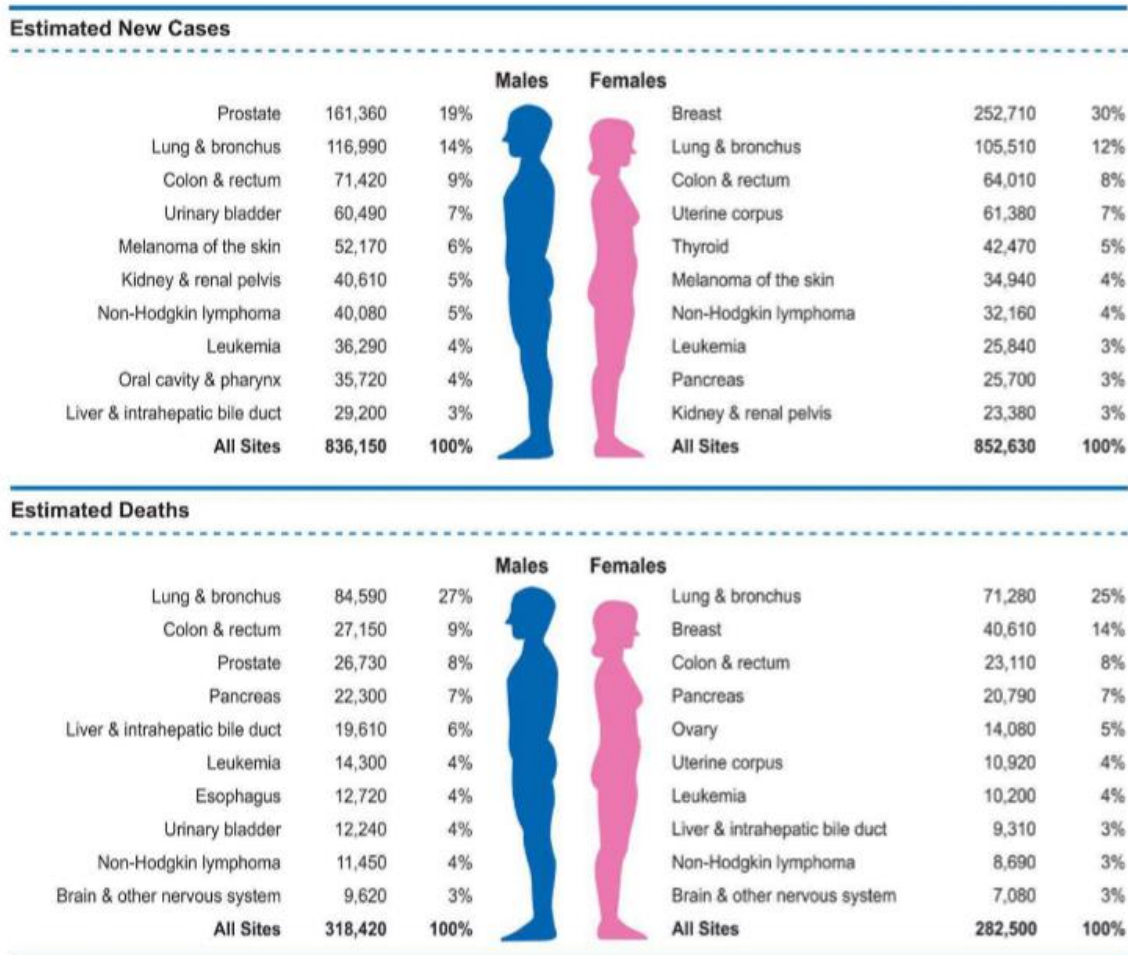


Fig. B1.2 Las 10 principales neoplasias en EU por sexo, 2017.

En México su epidemiología es menos clara con datos puntuales de instituciones de salud pública o centros de tercer nivel que se especializan en el tratamiento de paciente con cáncer.

En el reporte del Instituto Nacional de Salud Pública del 2016 reportan la Carga Global de Cáncer de 1990 a 2013, analizando la incidencia y la mortalidad de 28 tipos de cáncer por nivel de marginación, grupos de edad y sexo. De manera general los datos muestran una tendencia decreciente para algunos cánceres (pulmón y cervical), mientras otros aparecen como prioritarios y relevantes (próstata, mama, estómago, colon e hígado). Específicamente, el cáncer colorrectal se reportó en 4º lugar a nivel nacional, siguiendo a próstata, mama y cérvico uterino (figura 1.3) y manteniendo un lugar similar a través de la república independientemente del nivel

socioeconómico. Se reportó una incidencia ajustada para la edad de 14.6 casos por 100,000 hab con 13,010 casos nuevos y con una mortalidad ajustada para edad de 7.2 casos por 100,000 hab y 6,255 defunciones para el año 2013³.

Deprivation status	State	Prostate	Breast	Cervical	Colon and rectum	Stomach	Tracheal, bronchus and lung	Thyroid	Hodgkin lymphoma	Leukemia	Liver	Ovarian	Non-melanoma skin cancer	Testicular	Uterine	Kidney
	Mexico National	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Low	Distrito Federal	1	2	4	3	5	7	8	6	11	14	10	16	9	12	13
	Nuevo León	1	2	4	3	6	5	8	7	9	13	10	16	15	12	11
	Baja California	1	2	4	3	6	5	7	8	9	14	10	16	15	13	11
	Coahuila	1	2	3	4	6	5	7	10	9	13	8	16	12	14	11
	Agascalientes	1	2	3	4	6	5	7	9	8	13	11	10	16	14	15
	Jalisco	1	2	3	4	6	5	7	9	8	14	10	12	16	11	15
	Colima	1	3	2	6	5	4	8	11	10	12	9	7	18	13	16
	Tamaulipas	1	2	3	4	6	5	9	8	10	7	11	16	14	15	12
	Sonora	1	2	3	5	6	4	7	8	9	13	10	14	16	15	11
	Baja California Sur	1	2	3	4	6	5	9	8	10	14	7	11	17	15	12
	State of Mexico	1	2	3	4	5	7	6	8	11	13	10	12	9	15	14
	Chihuahua	1	2	3	4	6	5	7	9	11	15	8	13	14	16	10
	Quintana Roo	1	4	2	5	3	6	9	10	8	7	12	11	17	15	13
	Morelos	1	3	2	5	4	6	7	9	8	11	12	10	14	15	16
	Querétaro	1	2	3	4	5	8	6	12	10	14	9	7	11	15	16
Middle	Sinaloa	1	2	4	6	5	3	7	10	8	9	13	12	19	17	14
	Tlaxcala	1	3	2	4	5	13	6	9	8	14	11	10	7	16	12
	Durango	1	2	3	4	6	5	8	9	7	12	10	11	15	16	13
	Guanajuato	1	2	3	4	5	6	7	11	8	14	9	10	16	13	15
	Zacatecas	1	2	3	5	4	6	7	9	8	12	10	11	17	15	13
	Nayarit	1	3	2	5	6	4	10	8	9	7	12	11	17	14	15
	Yucatán	1	3	2	5	4	9	10	8	7	6	14	11	16	12	13
	Campeche	1	4	2	5	3	6	10	7	8	9	13	11	19	12	14
	Tabasco	1	3	2	5	4	6	9	10	8	7	13	11	17	12	15
	Michoacán	1	3	2	4	5	6	7	11	9	13	12	8	16	14	15
	San Luis Potosí	1	3	2	5	4	6	7	10	9	8	11	12	13	14	16
	High	Hidalgo	1	2	3	4	5	11	6	8	10	9	12	13	7	16
Puebla		1	3	2	5	4	14	6	7	9	10	12	11	8	13	15
Veracruz		1	3	2	5	4	7	9	11	8	6	10	13	12	14	15
Oaxaca		1	4	2	5	3	12	7	6	9	8	10	11	17	13	15
Chiapas		1	4	2	5	3	9	7	8	11	6	13	10	16	12	14
Guerrero		1	4	2	5	3	6	7	8	10	9	12	11	18	15	14

Fig. B1.3. Cáncer clasificado por incidencia ajustada para la edad en ambos sexos por estado socioeconómico para 2013 en México³.

En un reporte de 20 años del Hospital General de México publicado por Charúa-Guindic L et al. 2009 se describió un incremento del 80% de casos reportados entre el periodo de 1988 a 1997 comparado con el periodo de 1998 a 2007; con un discreto predominio por el sexo femenino (52% a 53%), con una media de edad al diagnóstico de 69 y 66 años en cada periodo, con un incremento en el número de casos en paciente menores de 40 años de casi el doble (4.5% vs 7.3%) y también un incremento con la distribución por región anatómica en el colon derecho (32% vs 45%)⁴. Esto sugiriendo que la incidencia está incrementando, afectando cada vez más a paciente jóvenes e incrementando la frecuencia de aparición de tumores en el lado derecho.

A propósito de lo anterior, se publicó un reporte por el servicio de Gastroenterología del Hospital Juárez de México que considerando un incremento de la detección de cáncer colorrectal en personas jóvenes, describen las características epidemiológicas e histológicas de una población de pacientes menores de 50 años entre 2008 y 2015, que representaron el 14% de todos los casos en ese mismo periodo, siendo el 53% hombres, y representando un poco más del 33%, de localización en el colon ascendente (27.9%) y transversal (5.8%), con el restante en colon descendente (26.7%), sigmoideas (13.95%), recto (12.79%) y ciego (9.3%)⁵. Esto nuevamente sugiriendo que la incidencia en pacientes jóvenes se está incrementando y la localización en el lado derecho también.

En los últimos 20 años, el desarrollo de nuevos esquemas de tratamiento quimioterapéutico y la llegada de terapia dirigida ha logrado extender la esperanza de vida en el escenario metastásico, y prolongar el tiempo sin enfermedad en escenarios localmente avanzados.

Con el entendimiento de las vías de carcinogénesis y el desarrollo de nuevas terapias, las opciones de tratamiento se han diversificado y afinado. Sin embargo, en aquellos pacientes que se vuelven refractarios a las fluoropirimidinas, el pronóstico es malo y estas opciones de tratamiento disminuyen significativamente. La identificación de características clínicas (lateralidad) y moleculares (mutaciones

de la vía RAS) como predictores de mala respuesta a tratamiento han sido parte de los objetivos de los ensayos clínicos y la investigación traslacional.

Con el desarrollo de la inmunoterapia y su actividad antineoplásica clara en tumores como melanoma, pulmón y riñón, su papel en otros tumores se ha vuelto un punto de investigación activa incluyendo al cáncer colorrectal. Es en este escenario, donde la identificación de un biomarcador se vuelve esencial, como la presencia o ausencia de inestabilidad microsatelital, con la capacidad de predecir respuesta a una terapia novedosa.

2. Antecedentes Particulares

El tratamiento en etapas tempranas y localmente avanzadas se basa en la cirugía con evidencia clara del beneficio de la adyuvancia con quimioterapia en etapas III. En etapas tempranas, la decisión de administrar quimioterapia adyuvante se basa en la presencia de factores de riesgo bien descritos (número de ganglios obtenidos en la cirugía, perforación u obstrucción intestinal como debut clínico, invasión linfovascular) y la presencia de estabilidad o inestabilidad micro satelital.

En etapas avanzadas, la presencia de inestabilidad micro satelital parece seleccionar un subgrupo de pacientes en el que se puede esperar un beneficio terapéutico de la inmunoterapia, nicho de investigación muy activo actualmente.

En los tumores epiteliales humanos se han identificado 2 tipos de inestabilidad genómica: la inestabilidad cromosómica que describe aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas en células neoplásicas aneuploides, y la inestabilidad microsatelital que refleja variaciones en la longitud de secuencias repetitivas de ADN en células diploides tumorales^{6,7}.

Los micro satélites son unidades de 1 a 6 nucleótidos repetidos múltiples veces en tándem a través del genoma⁸. Su naturaleza repetitiva los hace vulnerables a errores durante la replicación in vivo, y cuando esto sucede, el sistema de reparación de discordancia (“mismatch”) (SRD) detecta y repara estos errores, manteniendo la estabilidad global de los micro satélites durante la división celular⁹. Cuando el sistema de reparación falla (mutación germinal o somática), los errores no son reparados y causan inestabilidad micro satelital.

La “inestabilidad micro satelital” (IMS) se define como a desviación en el número de repeticiones en tándem cuando se compara con la normalidad¹⁰. Numerosos micro satélites codificantes existen en el genoma humano por lo que se ha definido un

grupo de genes diana específicamente alterados en el sistema de reparación de malapareamiento de las células tumorales.

La IMS alta se define como el número aberrante de repeticiones en el 30% o más del loci micro satelital examinado comparado con el número de repeticiones en el genoma germinal¹¹. Existen muchos tipos de neoplasias con IMS alta con frecuencia de más del 10% como cáncer endometrial (22-33%)¹², gástrico (22%)¹³, carcinoma hepato celular (16%)¹⁴, colo rectal (13%)¹⁵ y melanoma (11%)¹⁶ (tabla B2.1).

Tabla B2.1 Frecuencia de IMS alta por histología.

>10%	10-2%	<2%
Endometrial - 22-33%	Ovario – 10%	Próstata 1%
Gástrico -22%	Adenocarcinoma de esófago – 7%	CPCNP 0-2%
Hepatocelular – 16%	Epidermoide de Cabeza y cuello – 2%	Mama 1%
Colorrectal – 13%		Vejiga 1%
Melanoma – 11%		Glioblastoma esporádico – 0%

La presencia de IMS alta resulta en un sistema de reparación de ADN deficiente que genera inestabilidad genética global en el genoma y promueve la aparición de mutaciones. Tales mutaciones generan proteínas alteradas consideradas neo antígenos tumorales y potencialmente reconocibles como moléculas no propias por el sistema inmunológico¹⁷.

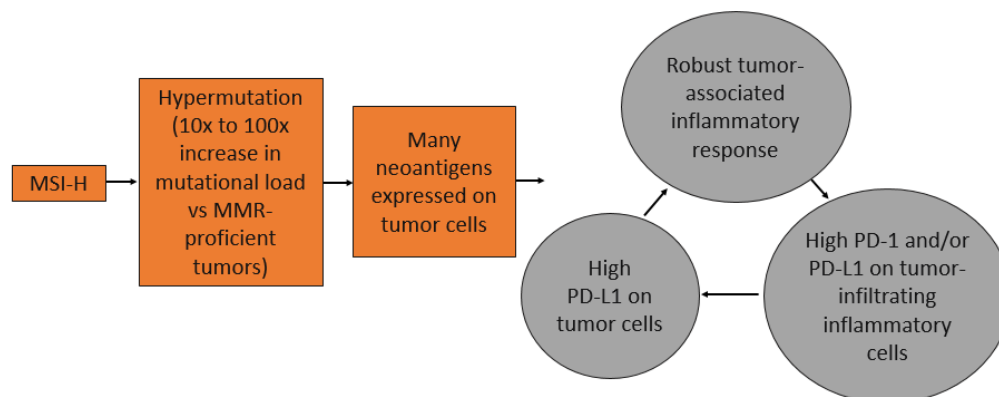


Fig. B2.1 Inestabilidad micro satelital alta y su asociación con neo antígenos y las características histopatológicas en los tumores¹⁸.

La IMS ocurre en el 90% de los casos de cáncer colorrectal hereditario no polipósico hereditario (Sx Lynch) así como en el 15% de los casos esporádicos de cáncer colorrectal y esta ocasionada por la mutación inactivante de diferentes genes de reparación de ADN discordante (hMSH2, hMLH1, hMSH6, hPMS1, hPMS2)¹⁹. Entre 1993 y 1996 se identificaron alteraciones en 4 proteínas clave (MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2) del sistema de reparación de discordancia del ADN como las mutaciones germinales predominantes responsables del síndrome de Lynch, descrito inicialmente por el Dr. Henry Lynch en la década de los 60's al revisar la genealogía de dos familias afectadas por la propensión de desarrollar tumores en edades tempranas²⁰.

En 1993 se describieron por diferentes grupos^{21,22,23,24}, tumores con alta tasa de mutaciones, concretamente en regiones de repeticiones en tándem, posteriormente llamadas micro satélites²⁵; con características histopatológicas particulares²⁶ y asociadas inicialmente a un mejor pronóstico cuando se compara con tumores colorrectales con estabilidad microsatelital.

Durante la replicación de ADN con el sistema de reparación de discordancia proficiente, pequeños errores son detectados por los heterodímeros de MSH2/MSH6 y MSH2/MSH3. El heterodímero de MLH1/PMS2 es subsecuentemente reclutado para la escisión y re síntesis de una hebra nueva y corregida. La deficiencia cuantitativa o cualitativa por proteínas anormales conlleva a la acumulación de errores en la replicación y subsecuentemente inestabilidad micro satelital, conduciendo a un fenotipo hipermutador.

Aunque la mayoría de los micro satélites se localizan en regiones no codificantes, estas pueden producir errores y mutaciones de marco de lectura, lo que puede ocasionar inactivación de proteínas, activación constitutiva de proteínas o proteínas truncadas no funcionantes del sistema de reparación necesarias para la reparación de ADN, apoptosis, crecimiento celular y regulación epigenética.

El síndrome de Lynch surge de mutaciones germinales en la vía del sistema de reparación de discordancia (SRD), y predispone a la aparición de diferentes tipos de tumores, especialmente cáncer de colon no polipósico y cáncer endometrial²⁷. Se han descrito más de 1500 variantes mutantes del síndrome Lynch, siendo las deleciones de MLH1 y MSH2 los más comunes con una frecuencia del 50 y 39% respectivamente²⁸. Menos frecuentes son las deleciones de MSH6 y PMS2²⁹. También se han descrito alteraciones epigenética heredadas como la deleción del gen EPCAM que conlleva la inactivación del gen MSH2³⁰.

Bethesda revised guidelines for Lynch syndrome related CRC.

Tumors from individuals should be tested for MSI in the following situations:

1. CRC diagnosed in a patient who is less than 50 y.o
 2. Presence of synchronous, metachronous CRC or other Lynch Syndrome related tumours, regardless of age (*endometrial, stomach, ovarian, pancreas ureter and renal pelvis, biliary tract and brain tumors, small bowel cancers, sebaceous gland adenomas and keratoacanthomas as seen in Muir-Torre syndrome*)
 3. CRC with the MSI-H histology diagnosed in a patient who is less than 60 y.o (*presence of tumor-infiltrating lymphocytes, Chron's-like reaction, mucinous/signet-cell differentiation or medullary growth pattern*)
 4. CRC diagnosed in a patient with one or more first-degree relatives with Lynch Syndrome-related cancers, with one of *the cancers* diagnosed before 50 y.o
 5. CRC diagnosed in a patient with two or more 1st or 2nd degree relatives with Lynch Syndrome related cancers regardless of age
-

Adapted Ref. [15]

Table 2
Amsterdam II criteria.

At least three relatives must have cancer associated with Lynch Syndrome (colorectal, endometrium, small bowel, ureter or renal-pelvis); all of the following criteria should be present:

- One must be a first-degree relative of the other two
 - At least two successive generations must be affected
 - At least one relative with cancer associated with Lynch Syndrome should be diagnosed before age 50
 - FAP should be excluded in the CRC cases
 - Tumors should be verified by pathological examination
-

Adapted Ref. [16].

Fig. B2.2. Criterios clínicos de Bethesda y Amsterdam II. Tomado de ³¹y³².

Así como se han descrito mutaciones asociadas a síndromes genéticos, también se han descrito mutaciones somáticas del SRD en casos esporádicos. Las características de cada uno de los estudios para determinar la presencia de inestabilidad microsatelital son diferentes, pero con un alto nivel de concordancia en los casos esporádicos, siendo suficiente la determinación por IHQ de pérdida de las enzimas de reparación, no así en los casos de Sx de Lynch donde se requerirá la confirmación del caso por PCR (Ver tabla B2.2)³³.

Estudio	Objetivos	Sensibilidad	Especificidad	HNPCC	Esporádico
IHQ	Expresión de las proteínas del SRD	91%	87%	Perdida de <i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i>	Perdida de <i>MLH1/PMS2</i>
PCR	Cambio alélico del estado de IMS	97%	95%	Positivo	Positivo
Metilación de hMLH1				Negativo	Positivo
Mutación de <i>BRAF V600E</i>				Negativo	Positivo
Mutación Germlinal en los genes del SRD				Positivo	Negativo

Tabla B2.3 Características de las pruebas relacionadas con la IMS³³. IHQ, Inmunohistoquímica, PCR, reacción en cadena de la polimerasa, SRD, Sistema de reparación de discordancia, IMS, inestabilidad microsatelital.

Inestabilidad microsatelital en cáncer colorrectal

En el cáncer colorrectal, una de las características moleculares más estudiadas, después de la vía de RAS, es la presencia de inestabilidad microsatelital. Como ya se mencionó, entre un 13 a 10% de todos los tumores colorrectales presenta algún grado de inestabilidad microsatelital³⁸, pero a diferencia con las etapas tempranas, en las etapas metastásicas esta frecuencia disminuye al 4% aproximadamente.

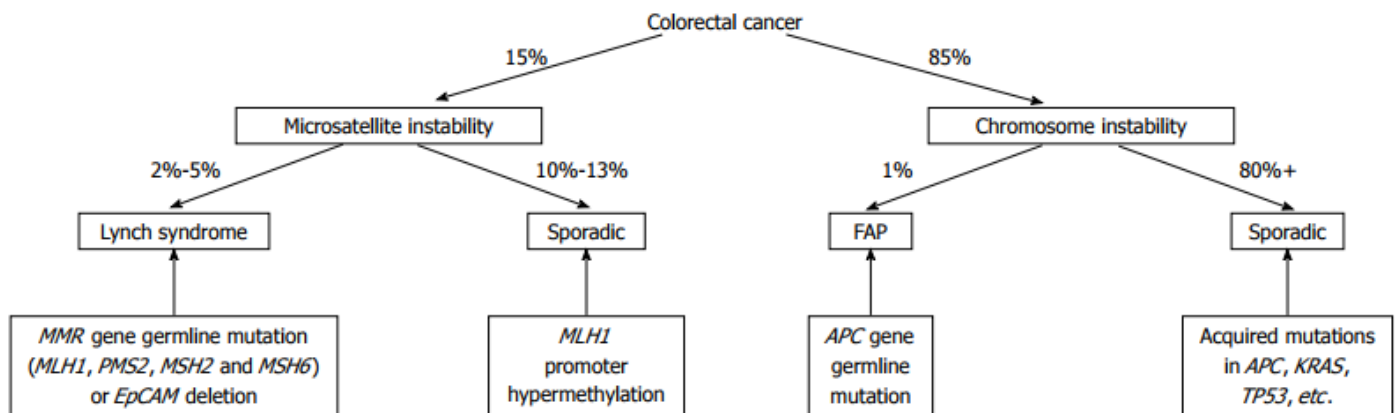


Fig. B2.4 Clasificación molecular del cáncer colorrectal. EpCAM, molécula epitelial de adhesión celular, MMR, sistema de reparación de discordancia, FAP, poliposis adenomatosa familiar, APC, poliposis adenomatosa coli. Tomado de ³⁸.

A nivel clínico, los tumores con IMS alta asociados a síndrome de Lynch, se diagnostican a edades más tempranas, con un mayor predominio de tumores en colon derecho, asociado a adenomas polipoides sésiles y en etapas clínicas más tempranas comparados con los tumores con estabilidad MS^{34,35}. Por el otro lado, los pacientes con casos esporádicos se presentan a edades más tardías y más frecuentes en mujeres³⁶.

Histológicamente se describen con mayor frecuencia en tumores mucinosos, en células en anillo de sello, poco diferenciados, con incidencia más alta de carcinoma medular, e infiltración linfocítica³⁷. Esta infiltración linfocítica, caracterizada por linfocitos infiltrantes del estroma o por linfocitos infiltrantes del tumoral que están

asociados a tumores con IMS alta, típicamente CD8+, y que correlacionan con mayor número de errores o mutaciones del marco de lectura³⁸.

A nivel molecular, la presencia de IMS alta puede inferirse a partir del estatus de dos oncogenes: BRAF y KRAS. Ambos, involucrados en la vía de RAS-RAF-MEK-ERK, por lo general mutuamente excluyentes, son genes que se han asociado con la presencia o ausencia de IMS. La mutación de BRAF V600E se asocia frecuentemente con la presencia de IMS alta en casos esporádicos, que generalmente se ocasiona por metilación del promotor de MLH1³⁹. Mientras que, por el otro lado, la mutación de KRAS, especialmente los codones 12 y 13, se encuentran inversamente relacionados con la presencia de IMS alta⁴⁰.

Clásicamente, la presencia de inestabilidad micro satelital se ha asociado inicialmente a un mejor desenlace en etapas II y III, siendo esto algo confuso por el efecto de la quimioterapia adyuvante (Ver tabla B2.1, adaptado de⁴¹). Los datos preclínicos muestran que el estado deficiente del sistema de reparación se asocia con resistencia a la quimioterapia⁴².

REFERENCIA	ETAPA	RÉGIMEN DE QT	RESULTADOS
MALESCI A ET AL. 2007	III	5FU-Lev	Beneficio
FRENCH AJ ET AL. 2008	III	Basado en 5FU	Beneficio
VENDERBOSCH S ET AL. 2014	IV	5FU-AF	Beneficio
NAGASAKA T ET AL. 2010	II-III	5FU-AF	Deletéreo
JOVER R ET AL. 2009	II-III	Basado en 5FU/Lev	Sin impacto
KIM JH ET AL. 2014	I-IV	Basado en 5FU	Sin impacto
LOCHHEAD P ET AL. 2013	I-IV	Basado en 5FU	Sin impacto
GOLDSTEIN J ET AL. 2014	I-IV	Basado en 5FU	Sin impacto
OGINO S ET AL. 201 2	II-III	Basado en 5FU	Sin impacto
HALLER DG ET AL. 2011	II-III	Basado en 5FU	Sin impacto
ELSALEH H ET AL. 2000	II-III	5FU-AF	
STADLER L ET AL. 2016	I-IV	Basado en 5FU	Sin impacto
LUKISH JR ET AL. 1998	II-III	Basado en 5FU	Beneficio

BENATTI ET AL. 2005	II-III	5FU-AF	Beneficio
LAMBERTI C ET AL. 2007	II-III	5FU-AF	Beneficio en EIII

Tabla B2.1. Resumen de ensayos con quimioterapia basada en fluoropirimidinas e IMS alta en cáncer colorrectal³⁸. 5FU, 5 fluorouracilo, Lev, levimasol, AF, ácido fólico.

En un meta análisis de 1277 pacientes con etapas I a IV con IMS alta, de un total de 32 estudios, publicado por Popat S, et al en JCO 2005, se calculó el impacto con una reducción del 35% de riesgo de muerte (HR 0.65, 95% CI 0.59–0.71) independientemente de la etapa clínica o tratamiento recibido⁴³.

Un segundo meta análisis de 31 estudios, 1972 pacientes, publicado por Guastadisegni et al. en Eur J Cancer 2009 confirmó la asociación entre la IMS alta y el pronóstico favorable, en términos de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad⁴⁴.

En un análisis retrospectivo del estudio QUASAR⁴⁵, que incluyó 1,913 pacientes, aleatorizados a recibir o no, 5FU/leucovorin adyuvante, con el objetivo de determinar su impacto en una población de bajo riesgo de recurrencia, el buen pronóstico del estado de IMS alta no se modificó por recibir o no el tratamiento adyuvante⁴⁶. El riesgo de recurrencia fue del 11 vs 26% entre los tumores deficientes de los proficientes del sistema de reparación, y como mencionado previamente, no se modificó por el tratamiento adyuvante⁴². Esta misma observación fue hecha en el brazo control del estudio PETACC3, un ensayo clínico fase III negativo⁴⁷, donde se incluyeron pacientes con diagnóstico de cáncer de colon en etapas II y III, y se aleatorizaron a recibir quimioterapia adyuvante con el esquema de Gramont con o sin Irinotecan, donde también se mantuvo el efecto pronóstico positivo de la IMS alta, en el grupo tratado con 5FU⁴⁸.

Otros análisis, como el de la base de datos ACCENT reportó diferencias entre los pacientes con etapa II y deficiencia o proficiencia del sistema de reparación, en tiempo a la recurrencia (0.27) y SG (HR 0.27), que se atenuó con el uso de quimioterapia adyuvante (HR 0.81 en el tiempo a la recurrencia y HR 0.87 en la SG).

El valor pronóstico de los pacientes con etapa III e IMS también se observó en pacientes tratados con cirugía solamente y con quimioterapia adyuvante⁴⁹, por lo que al menos más que resistencia parece que no aporta mayor beneficio en pacientes con ya de por sí buen pronóstico, a diferencia de los pacientes en etapa III donde debe considerarse una opción tratarlos con quimioterapia adyuvante.

En contraste con el 5 fluorouracilo, la información preclínica sugiere que las células tumorales con IMS son sensibles al oxaliplatino⁵⁰, pero a la fecha existe poca información en el contexto clínico, y esta es contradictoria. En un análisis de los pacientes tratados en los ensayos NSABP C07 y NSABP C08 reveló que los pacientes un sistema de reparación deficiente se asoció a un mejor pronóstico basado en HR 0.48 (IC95% 0.33-0.7, $p < 0.0001$), pero no fue predictivo de beneficio al exponerse al oxaliplatino⁵¹. En otro análisis del ensayo MOSAIC, un estudio pivote de la adyuvancia en colon localmente avanzado, la deficiencia del sistema de reparación (SRdef) se reportó como un factor pronóstico adverso con un HR de 2.02 (IC95% 1.15-3.55, $p < 0.014$) y se observó un beneficio de tratarse con el brazo que incluía el oxaliplatino con HRs de 0.48 (IC95% 0.20-1.12) y 0.41 (IC95% 0.16-1.07) para SLE y SG en aquellos con un sistema de reparación deficiente⁵². Similar a un reporte de estudio AGEO con 433 casos de CCR con SRdef, donde la SLE tuvo un beneficio en el análisis multivariado, que se limitó a los tumores en etapa III y casos esporádicos, al contrario de los asociados al síndrome de Lynch⁵³. Además, en el ensayo N017 donde se exploró un anti EGFR en el escenario adyuvante con KRASwt, se observó una SLE favorable para tumores con SRdef y de localización proximal, al contrario de tumores distales y N2, lo que sugiere un valor predictivo diferente en función de la localización del primario y el estado ganglionar⁵⁴, que también concuerda con su buen pronóstico en escenarios tempranos y mal pronóstico en escenarios avanzados. Es en este último escenario, donde existe poca evidencia en contraste con escenarios más tempranos, debido como se mencionó previamente a una frecuencia menor al 5%. Esto ejemplificado por el metaanálisis de Des Guetz y colegas, donde se encontró 91 casos con IMS alta de 964 casos (9.4%), donde no se encontró beneficio o detrimento en tasas de respuesta (HR

0.82 IC95% 0.65-1.03) a la quimioterapia comparado con los casos de EMS⁵⁵, lo que dificulta interpretar un estado de quimioresistencia o quimiosensibilidad.

También las mutaciones de BRAF ha sido de especial interés, dado que la presencia y la combinación con IMS alta, han resultado lograr subdividir los casos con comportamientos clínicos diferentes, que podrían tener un papel pronóstico, aunque esto deriva de observaciones retrospectivas. En una revisión de una gran base de datos americana⁵⁶, la presencia de IMS+BRAFwt¹ se asoció con el mejor pronóstico, mientras que los tumores con BRAFmt² se asoció con el peor pronóstico. También en un análisis retrospectivo de 34 pacientes del ensayo CALGB 89803⁵⁷, la supervivencia fue más larga con la combinación de IMS+BRAFwt, peor con aquellos con SMS+BRAFmt, e intermedia si se combinaba IMS alta+BRAFmt o SMS + BRAFwt, lo que sugiere que en etapas tempranas la mutación de BRAF tiene un pronóstico negativo en tumores con SMS o IMS baja, y mitiga el buen pronóstico en aquellos con IMS.

En el escenario metastásico y recurrente, la presencia de IMS también parece tener un rol pronóstico. En un análisis combinado de 4 estudios fase III con 153 pacientes con IMS, la SLP y SG fueron significativamente menores al compararla con los casos con un sistema proficiente de reparación microsatelital⁵⁸. En otra revisión retrospectiva, con 55 pacientes con cáncer de colon metastásico e IMS, no parecían tener un desenlace mejor a pesar de lograr cirugías R0/1, con una SG de 15.4 meses que es inferior al comparar con la SG histórica de más de 20 meses sin terapia dirigida⁵⁹. En este mismo escenario, se observó que aquellos pacientes con IMS+BRAFmt tenían un peor pronóstico comparando con aquellos con BRAF wt, lo que a diferencia del escenario adyuvante donde parece tener un mejor pronóstico el tener IMS, en el escenario metastásico parece tener un papel negativo, y la mutación de BRAF volverlo aún peor.

¹ BRAFwt. Hace referencia al estado no mutado de BRAF, "wild type" o salvaje.

² BRAFmt. Hace referencia al estado mutado de BRAF, "mutated".

El Rol de la Inmunoterapia en cáncer colorrectal

En el escenario metastásico, refractario a fluoro pirimidinas, las opciones de tratamiento son pocas y con beneficio clínico escaso. Con el desarrollo de nuevas terapias, la inestabilidad micro satelital se ha propuesto como un marcador predictor de respuesta a la inmunoterapia basado en el concepto de que los tumores que la presentan tienen mayor número de errores de transcripción y traducción, y a su vez generar mayor número de neo antígenos.

Lo anterior ya ha tenido su parte de experiencia clínica con otros tumores donde la carga mutacional es muy alta y han surgido como una opción terapeutica revolucionara como el caso de melanoma, o con buenas tasas de respuesta y supervivencia libre de progresión (SLP) comparado con la quimioterapia como en el caso de pulmón de células pequeñas y carcinoma renal de células claras⁶⁰. En el caso de los tumores de colon, que presenta IMS, se ha reportado cargas mutacionales muy altas lo que propone teoricamente un beneficio de la inmunoterapia (Figura B2.3).

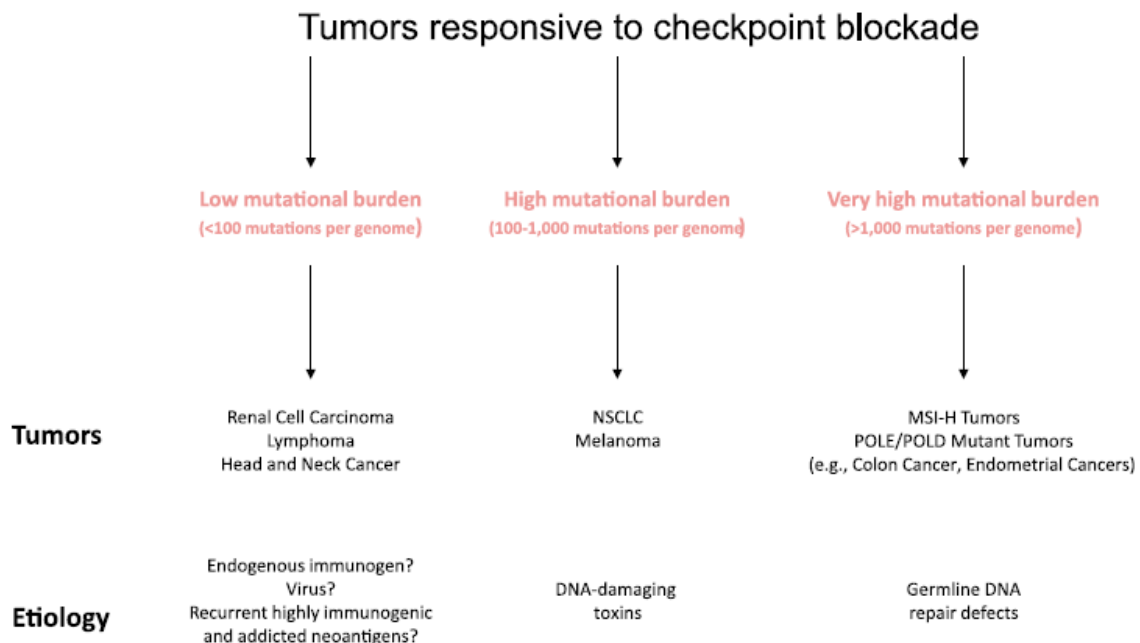


Fig B2.5 Respuesta a la inmunoterapia en función de la carga mutaciones y ejemplos de factores etiológicos. Tomada de ²⁷.

Aunque la inmunoterapia tiene casi 100 años en la oncología desde la “toxina de Coley”, mucho se ha investigado sobre la utilización del sistema inmunológico en contra de diferentes tipos de neoplasias; desde la administración de agentes microbiológicos potenciadores del sistema (ej. BCG), el desarrollo de vacunas, infusión de citocinas, hasta el desarrollo de células especializadas contra antígenos tumorales, la inmunoterapia ha tomado cada vez mayor importancia en el tratamiento de las neoplasias sólidas y líquidas. En el cancer colorrectal, con lo anterior expuesto, se postuló un potencial beneficio con anticuerpos antagonistas de las señales de bloqueo del ligando de PD1, como se observó en un ensayo fase I con tumores refractarios, donde un caso de cancer colorrectal con IMS presentó respuesta completa al ser tratado con Pembrolizumab, lo que llevó al diseño de un estudio fase II con dos cohortes de pacientes. La primera con pacientes con cancer colorrectal proficientes y deficientes del SRD y la segunda cohorte compuesta por tumores diversos con deficiencia del SRD. El estudio cumplió su objetivo primario reportando una respuesta objetiva medida por RECIST e iRECIST del 40%, con un control de la enfermedad del 90% y una duración del control de la enfermedad a las 20 semanas del 78%, contra ningún beneficio clínico en la cohorte proficiente al SRD⁶¹. Con base en este estudio es que la FDA aprobó la indicación de pembrolizumab en tumores colorrectales con IMS en tercera o más líneas de tratamiento dada la respuesta y escasas opciones de tratamiento en este contexto⁶².

Para confirmar este resultado actualmente están corriendo dos ensayos más, el KEYNOTE 164⁶³, un estudio fase II en pacientes previamente tratados, con IMS alta; y el KEYNOTE 177⁶⁴, un ensayo clínico fase III, en paciente con IMS alta, sin tratamiento previo, comparando contra el mejor esquema de quimioterapia.

Finalmente, otro anti PD1, Nivolumab fue puesto en escena, con un ensayo fase II, el CheckMate 142⁶⁵, publicado recientemente en Lancet Oncology, reclutó 74 pacientes de más de 31 centros en ocho países con cáncer colorrectal con inestabilidad microsatelital alta y progresión al menos una línea de quimioterapia estándar, de los cuales más de la mitad (54%) habían sido expuestos a más de 3

líneas de tratamiento. El estudio mostró actividad antineoplásica, con una tasa de respuesta objetiva medida por el investigador del 31.1% y un control de la enfermedad por 12 o más semanas en un 69%, con un perfil de toxicidad aceptable.

ENSAYO	DROGA	FASE	ESCENARIO
KEYNOTE-164	Pembrolizumab	II	Previamente tratados
KEYNOTE-177	Pembrolizumab	III	1ª línea
CHECKMATE-142	Nivolumab	I/II	Previamente tratados

Tabla B2.2 Ensayos clínicos avanzados explorando el papel de la inmunoterapia en cáncer colorrectal con IMS alta.

Con este nuevo ensayo, confirmando una actividad similar al pembrolizumab, solo se puede esperar nuevas opciones de tratamiento, con otros anticuerpos monoclonales y combinaciones de estos, para lograr mejores tasas de respuesta y mayor control de la enfermedad por más tiempo.

C. Justificación

Las opciones de tratamiento en aquellos pacientes con cáncer colorrectal refractario o progresivo a las fluoro pirimidinas son escasas y con beneficio clínico escaso, a expensas de toxicidad y deterioro funcional. La presencia de inestabilidad microsatelital se ha vuelto un marcador de respuesta al tratamiento con inmunoterapia, y en escenarios adyuvantes un predictor negativo de respuesta a la quimioterapia por lo que reportar la frecuencia de inestabilidad microsatelital y sus características histopatológicas podría ser de utilidad en nuestro hospital como marcador de mala respuesta y valorar desde el inicio el beneficio de la inmunoterapia comparado a la quimioterapia.

D. Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de inestabilidad micro satelital en los casos de cáncer colo-rectal de lateralidad derecha del 2015 a mayo de 2017 en el centro médico ABC?

Hipótesis

Basado en la literatura internacional se espera una frecuencia del 10% de inestabilidad microsatelital.

E. Objetivos

1. Objetivo principal

Describir la frecuencia de inestabilidad microsatélital en casos de cáncer de colon de lado derecho, en muestras de patología del hospital ABC de 2015 a la fecha.

2. Objetivos secundarios

Describir las características clínicas de los pacientes.

Determinar las características de histopatología e inmunohistoquímicas.

Describir las características clínicas de los pacientes con cáncer de colon en escenario adyuvante.

Describir las características clínicas de los pacientes con cáncer de colon en escenario metastásico.

Describir tasa de respuesta objetiva, tiempo libre de progresión y supervivencia global.

Comparar la tasa de respuesta objetiva con la literatura.

F. Metodología

Es un estudio retrospectivo, de carácter descriptivo, unicéntrico. Se consultaron los registros del departamento de patología Centro Médico ABC para identificar todos los casos de adenocarcinoma de colon y seleccionar las muestras enviadas para determinación de Inestabilidad microsatelital o aquellas en las que se determinó por Inmunohistoquímica (ver fig. F.1).

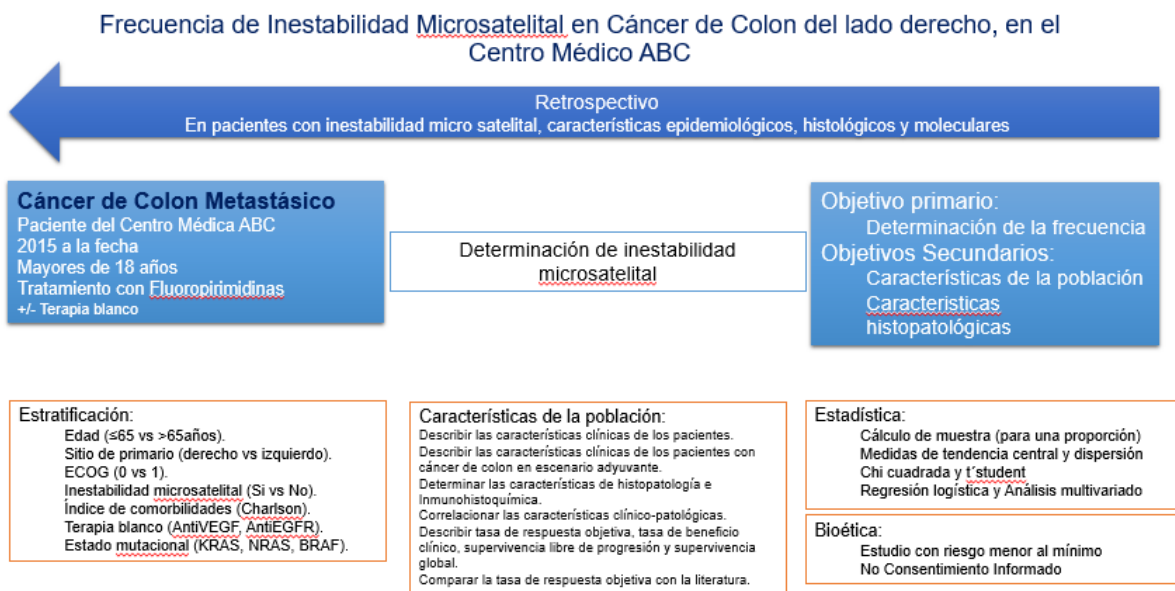


Fig. F.1. Diseño del estudio.

Se incluyeron biopsia o piezas de patología de pacientes mayores de 18 años, con diagnóstico de cáncer colon con histología adenocarcinoma, con determinación de inestabilidad microsatelital por Inmunohistoquímica o PCR, con expediente clínico completo (impreso y/o electrónico). Se excluyeron aquellos casos en los que no hubiera material de patología o tejido insuficiente para su revisión. Para una correcta revisión inicialmente se identificaron todos los casos y en un segundo momento se seleccionaron los casos con lateralidad derecha para su revisión y descripción.

El tamaño de la muestra fue por conveniencia, pero se hizo el ejercicio de calcular el tamaño de muestra para una proporción considerando una frecuencia del 13% y una precisión del 5 y 8%.

Frecuencia de Inestabilidad Microsatelital en Cáncer de Colon del lado derecho, en el Centro Médico ABC

$$d = Z_{\alpha} \frac{\sqrt{p_0 \times q_0}}{n}$$

↓

$$n = \frac{Z_{\alpha} \times \sqrt{p_0 \times q_0}}{d^2}$$

[1]

Frecuencia reportada = 13%[2]

$p_0 = 13\%$
 $q_0 = (1-p_0)=0.87$
 $d=(0.1)^2=0.01$ – considerando una precisión del 8%.
 $Z_{\alpha} = (1-\alpha)$ – Con un nivel de confianza de 95% ($\alpha=0.05$).
 $Z_{\alpha}=1.96, (Z_{\alpha})^2=3.8416$

$N=3.8416 \times 0.87 \times 0.13 / (0.08)^2$
 $N=0.43448495 / 0.0064$
 $N=67.88$

Frecuencia reportada = 13%[2]

$p_0 = 13\%$
 $q_0 = (1-p_0)=0.87$
 $d=(0.05)^2=0.0025$ – considerando una precisión del 5%.
 $Z_{\alpha} = (1-\alpha)$ – Con un nivel de confianza de 95% ($\alpha=0.05$).
 $Z_{\alpha}=1.96, (Z_{\alpha})^2=3.8416$

$N=3.8416 \times 0.87 \times 0.13 / 0.0025$
 $N=0.43448495 / 0.0025$
 $N=173.7$

1. Talavera JO. Tamaño de muestra. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2011; 49 (5): 517-522.
 2. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. Nature 2012;487:330–7.

Referencias^{66, 67}.

Las variables revisadas fueron las siguientes.

Datos	Variable	Tipo de Variable	Unidad de Medición	Indicador	
Demográficos clínicos histopatológicos	y e	Edad	Cuantitativa-Continua	Años	Media y DE
		Género	Cualitativa-Dicotómica	Femenino/Masculino	Frecuencia y porcentajes
		Antecedentes heredofamiliares de cáncer	Cualitativa-Dicotómica	Sí/No	Frecuencia y porcentajes
		Antecedentes personales de otras neoplasias	Cualitativa-Dicotómica	Sí/No	Frecuencia y porcentajes
		Localización anatómica del primario	Cualitativa-Nominal	Derecho, transverso, descendente, sigmoides, recto	Frecuencia y porcentajes
	T	Cuantitativa-Nominal	1,2,3,4	Frecuencia y porcentajes	

N	Cuantitativa-Nominal	1,2,3	Frecuencia y porcentajes
M	Cuantitativa-Nominal	0,1	Frecuencia y porcentajes
Etapa clínica	Cuantitativa-Nominal	I-IV	Frecuencia y porcentajes
Adyuvancia	Cualitativa	Si/No	Frecuencia y porcentajes
Esquema de 1ª línea	Cualitativa - Nominal	FOLFOX/ FOLFIRI/ FOLFOXIRI	Frecuencia y porcentajes
Esquema de 2ª línea	Cualitativa - Nominal	FOLFOX/ FOLFIRI/ FOLFOXIRI/ Regorafenib/ Afibercept	Frecuencia y porcentajes
Esquema de 3ª línea	Cualitativa - Nominal	FOLFOX/ FOLFIRI/ FOLFOXIRI/ Regorafenib/ Afibercept	Frecuencia y porcentajes
Inmunoterapia	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes

Tiempo a la recurrencia	Cuantitativa-Continua	Años	Media y DE
Sitio de recurrencia	Cualitativa	Sitio anatómico	Frecuencia y porcentajes
Características macroscópicas	Cualitativa - Nominal	Polipoide, exofítico, nodular, fungante,	Frecuencia y porcentajes
Patrón histológico	Cualitativa - Nominal	Mucinoso, intestinal	Frecuencia y porcentajes
Grado histológico	Cualitativa - Nominal	G1, 2, 3	Frecuencia y porcentajes
Respuesta linfocitaria Intratumoral	Cualitativa - Nominal	Ausente, leve, moderada, severa.	Frecuencia y porcentajes
Respuesta linfocitaria Peritumoral	Cualitativa - Nominal	Ausente, leve, moderada, severa.	Frecuencia y porcentajes
Poliposis asociada	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes

Pruebas especiales

MLH1 (IHQ)	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
MSH2 (IHQ)	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
MSH6 (IHQ)	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
PMS2 (IHQ)	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
IMS (PCR)	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
KRAS	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
NRAS	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
BRAF	Cualitativa-Dicotómica	Si/No	Frecuencia y porcentajes
Expresión PD-L1 / PD-1 (IHQ)	Cuantitativa	0-100%	Frecuencia y porcentajes

Se recolectaron los datos por medio de la revisión del sistema de patología, y seleccionando los reportes de patología con diagnóstico de “colon”, para identificar los casos positivos para carcinoma de colon. Además, se complementó con la revisión del expediente clínico y electrónico. De estos se seleccionaron los de lateralidad derecha.

Se hizo revisión de las características de patología en el reporte escrito por médico patólogo del centro médico ABC, y en los casos que faltó información o haya incongruencia se revisaron nuevamente sobre el material en laminilla o parafina.

Se propuso realizar determinación de IHQ al departamento de inmunohistoquímica del Centro Médico ABC para calcular la concordancia con los estudios de PCR como objetivo de un protocolo subsiguiente.

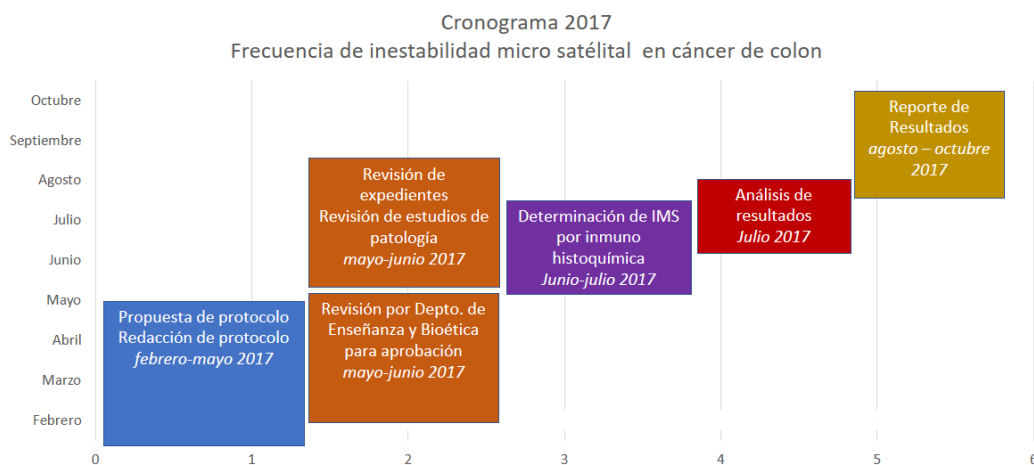


Fig. F.2. Cronograma del protocolo.

El desarrollo de este protocolo y sus gastos fueron absorbidos por el Tesista. No se contó con aporte financiero externo o interno, de institución pública o privada hasta la presentación de resultados.

Bioética.

Con base en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial referente a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, cuya

última revisión se llevó a cabo en la 59ª Asamblea General realizada en Seúl, Corea, en octubre de 2008 y en la Normatividad derivada de la Ley General de Salud Mexicana en su apartado de investigación y las normas técnicas 313, 314 y 315 publicadas el 26 de julio de 1988 y con base a las disposiciones por el Artículo 16 en las investigaciones en seres humanos se protegió la privacidad del individuo sujeto de investigación en todo momento, por lo que por ninguna razón se capturó el nombre del paciente, solo se extrajo el número de expediente y los datos mencionados anteriormente del expediente clínico, así como sus variables clínicas y resultados obtenidos.

Con base en la Normatividad derivada de la Ley General de Salud Mexicana en su apartado de investigación y las normas técnicas 313, 314 y 315 publicadas el 26 de julio de 1988 y con base a las disposiciones por el Artículo 17 de dicho documento, se considera un estudio de menor que el mínimo, por lo que se no se dispondrá de hoja de consentimiento informado para la inclusión de las muestras en el protocolo.

Este protocolo fue presentado ante los comités del Centro Médico ABC para su aprobación especial y orientada.

Confidencialidad

Se reitera que no se identificó al material de investigación por el nombre o iniciales del paciente origen, en ninguno de los registros durante la fase de captura de datos y descarga de los mismos. Una vez que se presente el informe parcial o final, no se volverá a hacer mención por escrito o verbal de los números de expediente. Por protocolo no se buscará contactar al paciente origen de las biopsias.

G. Resultados

De enero de 2015 a abril de 2017 se identificaron 2,080 muestras de patología etiquetadas como "colon". De estas, se identificaron 111 reportes de patología con diagnóstico principal de adenocarcinoma de colon que correspondieron a 90 casos.

De estos 90 casos, se testó el 26.67% (24/90) en búsqueda de inestabilidad microsatelital (IMS) por PCR (23) o pérdida de la expresión de las enzimas de reparación por IHQ (13), habiendo 8 casos en los que se testó por ambos métodos, identificando 7 casos compatibles con IMS, que representa el 7.78% de la muestra total (Fig G.1).

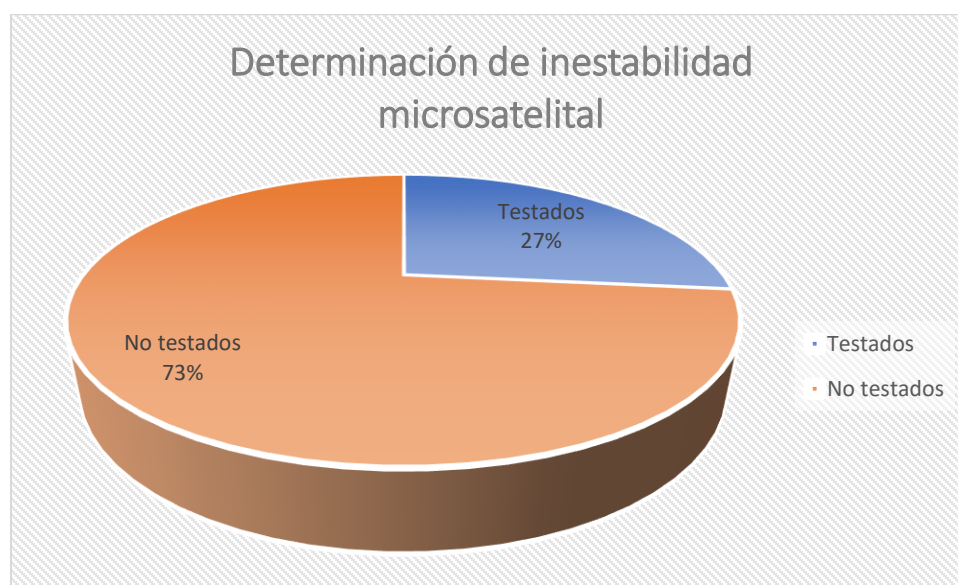


Fig G.1. Porcentaje de pacientes testados para identificar inestabilidad microsatelital.

Seleccionando a los pacientes con lateralidad derecha (ciego, colon ascendente y colon transversal hasta ángulo esplénico), de un total de 20 casos se identificaron 4 casos de IMS (7 testados por PCR y 5 por IHQ) lo que representa una frecuencia del 20% (4/20), comparando con solo 3 casos de IMS de 67 casos con lateralidad izquierda (recto, colon sigmoideos y ascendente) correspondiente a un 4.48% (Tabla G.1 y Fig G.2). Se encontraron 3 casos en los que no se pudo identificar el sitio primario.

Localización	Casos	%	PCR	IMS- inestable	%	IHQ	IHQ- Inestable	%
Derecho	16	17.7	5	3	60	4	2	50
Transverso	4	4.44	2	0	0	1	0	0
Izquierdo	20	22.22	5	2	40	0	0	0
Sigmoides	28	31.11	6	0	0	5	0	0
Recto	19	21.11	3	1	33.3	1	0	0
NA	3	3.33	3	0	0	2	0	0
Total	90	100	24	6	25	13	2	15

Tabla G.1. Proporción de casos por localización del tumor primario, y determinación por PCR de inestabilidad, o IHQ de pérdida de las enzimas de reparación y porcentaje de resultados positivos.

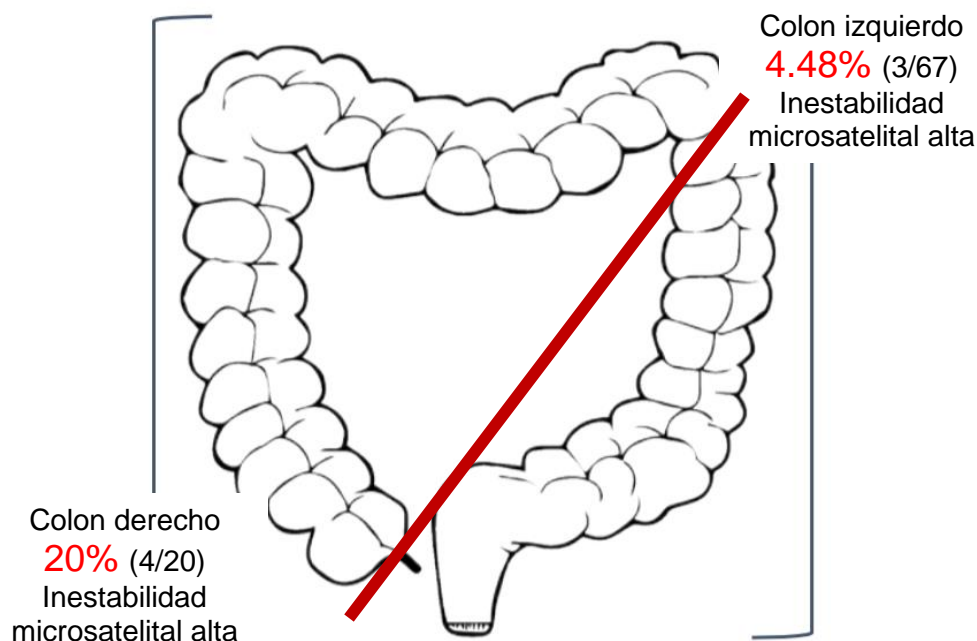


Fig G.2 Proporción de casos detectados compatibles con inestabilidad microsatelital por lateralidad.

Analizando los casos testados (24), 7 fueron positivos (29.2%). Se testaron 13 mujeres y 11 hombres, con mayores casos positivos en mujeres (20.8%) y con lateralidad derecha (16.7%), con T3 (16.7%), N negativa o N2 (25%), no metastásico (12.5%), KRAS no mutado (16.7%) y BRAF mutado (8.3%). Fueron detectados más casos por PCR que por IHQ (6 vs 2) (Ver tablas G.2 y G3).

CARACTERÍSTICAS	INESTABLE		ESTABLE	
N	7	29.2%	17	70.8%
LOCALIZACIÓN				
DERECHA	4	16.7%	2	8.3%
IZQUIERDA	3	12.5%	15	62.5%
GÉNERO				
MUJERES	5	20.8%	8	33.3%
HOMBRES	2	8.3%	9	37.5%
ETAPA DEL TUMOR (T)				
2	1	4.2%	5	20.8%
3	4	16.7%	6	25.0%
4	2	8.3%	3	12.5%
NO DISPONIBLE		0.0%	3	12.5%
ETAPA DEL TUMOR (N)				
0	3	12.5%	6	25.0%
1	1	4.2%	6	25.0%
2	3	12.5%	2	8.3%
NO DISPONIBLE		0.0%	3	12.5%
ETAPA DEL TUMOR (M)				
0	3	12.5%	5	20.8%
1	2	8.3%	3	12.5%
NO DISPONIBLE	2	8.3%	9	37.5%
KRAS				
MUTADO	1	4.2%	5	20.8%
NO MUTADO	4	16.7%	3	12.5%
NO DISPONIBLE	2	8.3%	9	37.5%
BRAF				
MUTADO	2	8.3%	0	0.0%
NO MUTADO	1	4.2%	3	12.5%
NO DISPONIBLE	4	16.7%	14	58.3%

Fig. G.2. Características de los tumores testados.

	MUJERES n (%)	HOMBRES n (%)	N=24 (%)
INESTABILIDAD GENERAL			
INESTABLE	5 (20.8)	2 (8.3)	7 (29.2)
DERECHO	4 (16.7)	0	4 (16.7)
IZQUIERDO	1 (4.2)	2 (8.3)	3 (12.5)
ESTABLE	8 (33.3)	9 (37.5)	17 (70.8)
DERECHO	1 (4.2)	1 (4.2)	2 (8.3)
IZQUIERDO	7 (29.2)	8 (33.3)	15 (62.5)
INESTABILIDAD PCR			
INESTABLE	4 (20)	2 (10)	6 (30)
DERECHO	3		3
IZQUIERDO	1	2	3
ESTABLE	6 (30)	8 (40)	14 (70)
DERECHO	1	1	2
IZQUIERDO	5	7	12
INESTABILIDAD IHQ			
INESTABLE	2 (16.7)	0	2 (16.7)
DERECHO	2		2
ESTABLE	6 (50)	4 (33.3)	10 (83.3)
DERECHO	2	1	3
IZQUIERDO	4	3	7

Fig. G.3. Determinación de IHQ y PCR para IMS. IHQ inmunohistoquímica, PCR reacción en cadena de la polimerasa, IMS inestabilidad microsatelital.

De los pacientes con lateralidad derecha, el género femenino fue más frecuente, representando el 55% de la muestra, con etapas tempranas (I y II) 40%, etapa localmente avanzada en el 40% y metastásica en el 20% de los casos al diagnóstico (Fig G.3 a G.6).

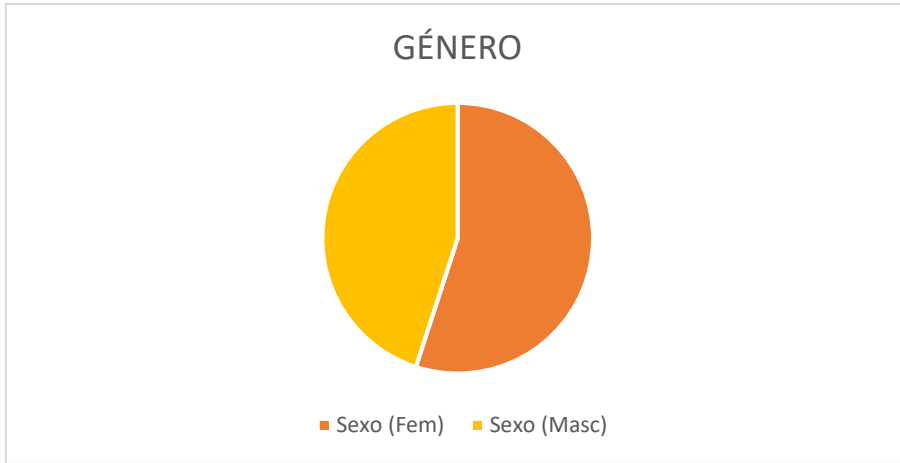


Fig. G.3. Distribución por Género.

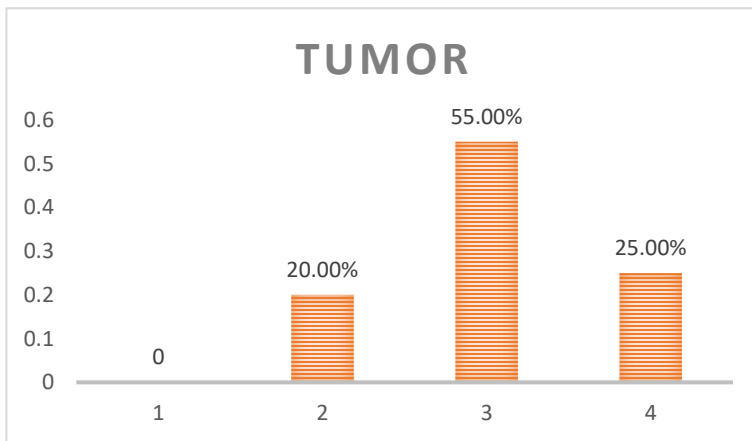


Fig. G.4. Distribución por grado de afección a colon (T) de la clasificación TNM.

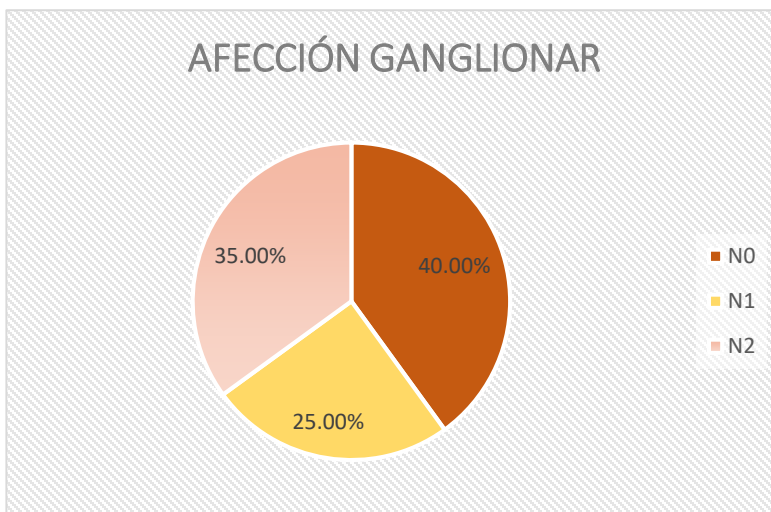


Fig. G.5. Distribución por afección ganglionar (N) de la clasificación TNM.

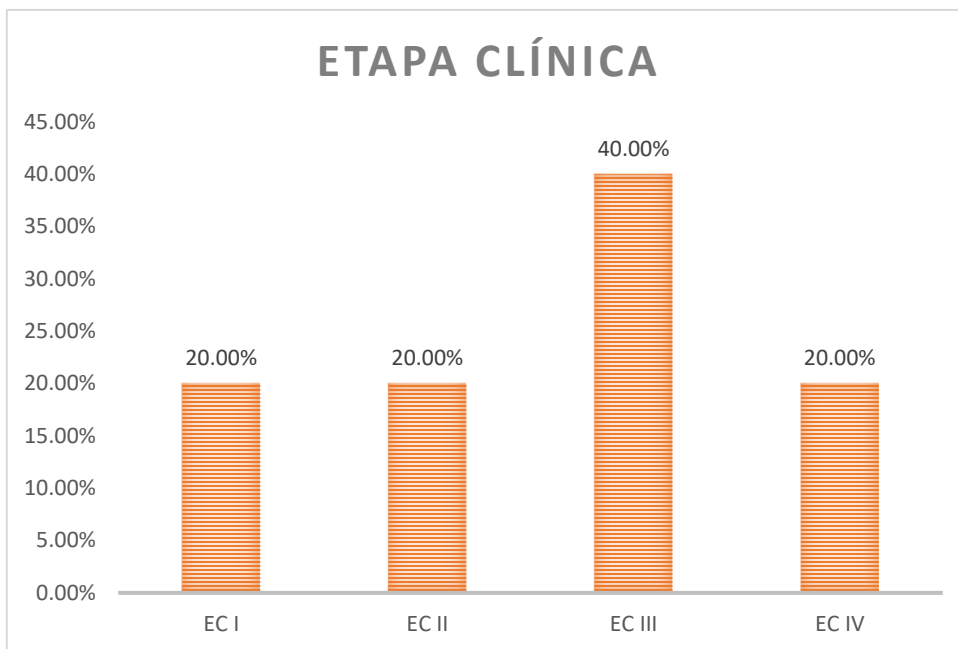


Fig. G.6. Distribución por etapa clínica según la clasificación TNM.

El 65% de los pacientes tenían antecedentes familiares de enfermedades oncológicas y el 20% tenía historia de un segundo primario (Fig. G.7). Se identificó un caso que cumplía criterios de Ámsterdam II para Síndrome de Lynch tipo II.

Antecedentes familiares		Antecedentes personales			
	Frecuencia		Frecuencia		
MAMA	4	20%	ENDOMETRIO	1	5%
LINFOMA	3	15%	MELANOMA	1	5%
			CA		
			MUCOEPIDERMIOIDE		
LEUCEMIA	2	10%	PULMON	1	5%
VEJIGA	1	5%	SCHWANOMA	1	5%
GASTRICO	1	5%			
PROSTATA	1	5%			
COLON	2	10%			
C&C	1	5%			
HEPÁTICO	1	5%			
UTERO	1	5%			

Fig F.7. Antecedentes familiares y personales de otros diagnósticos neoplásicos.

Describiendo las características de los casos de tumores de lateralidad derecha, la mayoría presento un aspecto macroscópicamente ulcerado (50%), en su mayoría

con patrón intestinal, aunque considerando aquellos con componente mucinoso y mucinosos puros, estos comprendieron el 45%. En el grado de diferenciación, los tumores moderadamente diferenciados representaron el 65%, con algún grado de respuesta linfocítica intra tumoral en el 40% y peri tumoral en el 35% y una asociación a adenomas sin displasia en el 15% y con displasia en el 20%. Aquellos con IMS también presentaron un aspecto ulcerado más frecuentemente, de patrón intestinal, con grado de diferenciación moderado o indiferenciado, sin un patrón de respuesta linfocitaria intra tumoral o peri tumoral por los pocos casos, sin pólipos asociados a displasia de alto grado (Ver tabla G.2).

	n=20 (colon derecho)		n=4 (con IMS+)	
Aspecto Macroscópico				
ULCERADO	10	50%	3	75%
FUNGANTE/EXOFITICO	3	15%	1	25%
POLIPOIDE	1	5%	0	0%
Patrón Histológico				
INTESTINAL	6	30%	2	50%
CON COMPONENTE MUCINOSO	4	20%	0	0%
MUCINOSO PURO	5	25%	1	25%
Grado de diferenciación				
G1	3	15%	0	0%
G2	12	60%	2	50%
G3	5	25%	2	50%
Resp. Linf. Intratumoral				
SI	8	40%	2	50%
NO	12	60%	2	50%
Resp. Linf. Peritumoral				
SI	13	65%	1	25%
NO	7	35%	0	0%
Poliposis asociada				
NO	13	65%	0	0%
ADENOMAS SIN DISPLASIA	3	15%	1	25%
ADENOMAS CON DISPLASIA	4	20%	0	0%

Tabla F.2. Características histológicas de los tumores de lateralidad derecha en total y con Inestabilidad microsatelital.

De los 16 pacientes con enfermedad temprana y localmente avanzada 6 (37%) recibieron adyuvancia con esquema de quimioterapia basada en fluoro pirimidinas y oxaliplatino, todos con indicación por T3-4 o enfermedad ganglionar, dos de los cuales tuvieron recurrencia de la enfermedad, uno a nivel de la anastomosis y el segundo a nivel ganglionar retroperitoneal. Se encontró un caso con enfermedad localmente avanzada que no recibió adyuvancia y presentó recurrencia a los 8 meses de seguimiento. Dos de estos casos con determinación de mutación de KRAS (Gly12Ser y Gly12Asp). Los pacientes con enfermedad temprana no recibieron adyuvancia y sin registro de recurrencia de la enfermedad hasta el término de la recolección de datos.

Por el tiempo de seguimiento, no es posible calcular el periodo libre de recurrencia o supervivencia global, dado que hay casos que continúan en vigilancia sin presentar evidencia de la enfermedad.

De los 4 pacientes que debutaron metastásicos, más los 3 que tienen registro de recurrencia metastásica en el seguimiento, hay 2 casos (28.5%) con inestabilidad microsatelital por PCR o pérdida de la expresión de las enzimas de reparación, los mismos casos con mutación BRAF V600E. De estos mismos 7 casos, se determinó estado mutacional de KRAS en 4 y NRAS en 2, sin encontrar casos positivos. El 85% (6/7) recibió quimioterapia de primera línea con fluoro pirimidinas como columna de tratamiento, con 70% (5/7) anti angiogénico, Oxaliplatino en el 57% (4/7) e irinotecan en el 28.5% (2/7). En aquellos que se pudo calcular la primera supervivencia libre de progresión (SLP1), se obtuvo un promedio 6.6 meses. En la segunda línea de tratamiento, 4 recibieron tratamiento, nuevamente basado en fluoro pirimidinas, ahora en su presentación oral, más Irinotecan y Oxaliplatino en la misma frecuencia, con bevacizumab en 1 caso y cetuximab en otro caso. En segunda línea se encontró un caso con inestabilidad microsatelital en el que se utilizó un anti-PD1 que presentó franca progresión clínica y radiológica después de 4 dosis. En aquellos que se puede calcular la SLP2 se promedió 3.75 meses. En

tercera línea solo un paciente recibió un anti-PD1 sin tiempo de evaluar la respuesta al fallecer por mal estado general.

Al término de la captura de los datos, con menos de 24 meses de seguimiento a la mayoría de los casos, menos del 50% de los casos sin reporte de defunción por lo que no se calculó la supervivencia global.

De los 2 pacientes expuestos a un anti-PD1, ninguno presento una respuesta objetiva completa, parcial o enfermedad estable.

H. Discusión.

Se reviso una cohorte de casos a partir de enero de 2015 a la fecha, identificando 90 casos de cáncer colorrectal por medio de una búsqueda sistemática del registro de patología del hospital. Aunque bien esta metodología de búsqueda nos asegura la identificación de la mayoría de casos, tiene dos sesgos importantes. El primero, que no incluye aquellos casos de cáncer colorrectal que debutaron en un escenario metastásico y donde el diagnóstico se debió lograr por toma de patología de otro tejido como ganglio, hígado o pulmón. Esto seguramente afecta la proporción de paciente en escenarios avanzados que se incluyen en esta revisión y por lo tanto que tienen un comportamiento más agresivo. A su vez, y como segundo sesgo, la revisión tiene una sobrerrepresentación de casos en etapas tempranas y localmente avanzadas por el sitio de búsqueda. Con eso en mente, de los 90 casos solo el 26.67% (24/90) fueron testados para inestabilidad microsatelital (IMS) por alguno de los dos métodos disponibles (PCR [23] o perdida de la expresión de las enzimas de reparación por IHQ [13]), reflejando la práctica habitual del oncólogo médico y del cirujano oncólogo, que hasta hace unos meses, no era la de determinar de manera habitual la presencia de inestabilidad microsatelital en todos los casos.

Del total, el 22% corresponde a lateralidad derecha y el 74% a lateralidad izquierda, con un 4% no pudiendo identificar la lateralidad. Esto es comparativamente un poco menor a la proporción esperada, con menos casos de lateralidad derecha a lo usualmente reportado. A manera de ejemplificar, en el estudio CALGB 80405⁶⁸, la proporción de casos derechos correspondió a un poco menos del 30% del total, mientras que en el estudio FIRE-3⁶⁹ correspondió a un 22%. De acuerdo con el reporte de la base de datos del SEER (Surveillance, Epidemiology and End Result) de los Institutos Nacionales del Cáncer de EU, se ha reportado un incremento del 6% de los casos de lateralidad derecha en comparación con los izquierdos entre 1973 y 1997⁷⁰. Además, en dos reportes nacionales⁴⁻⁵, se sugiere que la incidencia de los casos de lateralidad derecha está incrementando y la edad de presentación disminuyendo, sin embargo, en nuestra revisión con una proporción en el rango

menor, un predominio femenino y con una media de 68 años de edad, lo que es concordante con reportes americanos (Cheng L et al. 2005)⁷¹, lo que sugiere que nuestra población puede tener más parecido a poblaciones caucásicas.

De estos 24 casos testados, se identificaron 7 casos compatibles con IMS, que representa el 7.78% de la muestra total y el 29.16% de los testados. Comparando a los pacientes con lateralidad derecha (ciego, colon ascendente y colon transverso hasta ángulo esplénico), de un total de 20 casos se identificaron 4 casos de IMS lo que representa una frecuencia del 20% (4/20), comparando con solo 3 casos de IMS de 67 casos con lateralidad izquierda correspondiente a un 4.48% (Tabla G.1 y Fig. G.2) lo que es concordante con lo reportado en la literatura^{72,73}.

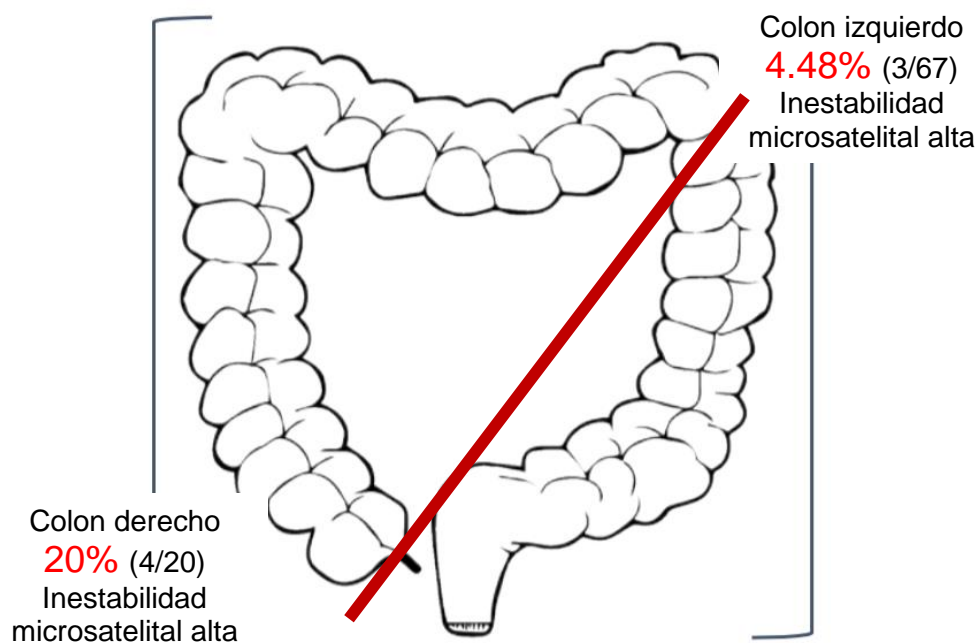


Fig. G.2 Proporción de casos detectados compatibles con inestabilidad microsatelital por lateralidad.

Se testaron 13 mujeres y 11 hombres, con mayores casos positivos en mujeres con primario de localización en colon derecho (16.7%, $p=0.05$), con T3, N negativa o N2, no metastásico, KRAS no mutado y BRAF V600E mutado. De los pacientes con lateralidad derecha (20), el género femenino también fue más frecuente (55%), con

etapas tempranas (I y II) y localmente avanzada representando el 80%, y la etapa metastásica el 20% de los casos al diagnóstico.

Es de llamar la atención que el 65% de los pacientes tenían antecedentes familiares de enfermedades oncológicas y el 20% tenía historia de un segundo primario lo que relaciona una alta carga genética no reportada previamente y que requiere mayor investigación (Fig G.7), relacionando a mama y enfermedades hemato-oncológicas como las más frecuentes dentro de los antecedentes familiares.

Antecedentes familiares		Antecedentes personales			
	Frecuencia		Frecuencia		
MAMA	4	20%	ENDOMETRIO	1	5%
LINFOMA	3	15%	MELANOMA	1	5%
			CA		
			MUCOEPIDERMIOIDE		
LEUCEMIA	2	10%	PULMON	1	5%
VEJIGA	1	5%	SCHWANOMA	1	5%
GASTRICO	1	5%			
PROSTATA	1	5%			
COLON	2	10%			
C&C	1	5%			
HEPÁTICO	1	5%			
UTERO	1	5%			

Fig G.7. Antecedentes familiares y personales de otros diagnósticos neoplásicos.

A nivel histológico, cumpliendo lo descrito previamente con aspecto macroscópico ulcerado (50%), patrón intestinal, y gran expresión de componente mucinoso, moderadamente diferenciados y con respuesta linfocítica intratumoral en el 40% y peritumoral en el 35%. No se observaron diferencias entre los tumores derechos con y sin IMS en cuanto a las características histológicas, pero esto puede deber a la poca muestra.

En cuanto al tratamiento, pocos recibieron tratamiento adyuvante por presencia de estabilidad microsatelital, si no por indicaciones histológicas, con el esquema basado en fluoro pirimidinas y oxaliplatino. La mayoría continúan en vigilancia sin

presentar evidencia de la enfermedad a excepción de un caso que tenía indicación tratamiento. De los 4 pacientes que debutaron metastásicos, más los 3 que tienen registro de recurrencia metastásica en el seguimiento, hay 2 casos (28.5%) con inestabilidad microsatelital por PCR o pérdida de la expresión de las enzimas de reparación, los mismos con mutación BRAF V600E, sin mutaciones en la vía de RAS que fueron expuestos a un anti-PD1, sin presentar respuesta al tratamiento. Esto comparativamente con lo reportado en el estudio de LE DT et al 2015⁶¹ y en el CheckMate-145⁶⁵, es muy inferior y poco alentador. Sin embargo, hay que considerar varias situaciones. La primera es que la experiencia es muy pobre, con solo 2 pacientes tratados, uno de los cuales se encontraba en una 4ª línea de tratamiento y probablemente un mal estado funcional. La segunda es que no se sabe aún cual es el mejor momento para iniciar la inmunoterapia. En los ensayos, la población era muy heterogénea con algunos pacientes con más de 3 línea de tratamiento, y en este momento se desconoce si la inmunoterapia ofrece mayor beneficio si se inicia en primera línea. Por el momento ya hay más de una docena de estudios clínicos evaluando varias moléculas en diferentes fases del protocolo y del tratamiento por lo que es probable en los siguientes años tengamos más opciones de tratamiento para considerar⁷⁴.

Type	Registration number	Compound	Exclusive for CRC	Targeting several malignancies	Sponsor	Phase	Initiated	Recruiting	Completed	
Anti-PD-1	NCT02060188	Nivolumab&ipilimumab	x		Bristol-Meyers	2		x		
	NCT00836888	Nivolumab		x	Bristol-Meyers	1	x			
	NCT01714739	Nivolumab&lirilumab		x	Bristol-Meyers	1		x		
	NCT01629758	Nivolumab		x	Bristol-Meyers	1			x	
	NCT02054806	Pembrolizumab		x	Merck	1		x		
	NCT02332668	Pembrolizumab		x	Merck	1 and 2		x		
	NCT02460198	Pembrolizumab		x	Merck	2		x		
	NCT02179918	Pembrolizumab&PF05082566		x	Pfizer	1		x		
	NCT01352884	AMP-224		x	Amplimmune and GSK	1			x	
	NCT02298946	AMP-224&radiation		x	Amplimmune and GSK	1	x			
	NCT02013804	AMP-514		x	MedImmune LLC	1	x			
	NCT02118337	AMP-514&MEDI4736		x	MedImmune LLC	1		x		
	NCT02383212	REGN2810&radiation&chemotherapy		x	Regeneron	1		x		
	NCT01693562	MEDI4736		x	MedImmune LLC	1 and 2		x		
	Anti-PD-L1	NCT02227667	MEDI4736	x		MSK Cancer Center	2		x	
NCT00729664		BMS-936,559		x	Bristol-Meyers	1			x	
NCT01633970		MPD-L3280A&Ch	x		Genentech	1		x		
NCT02350673		MPD-L3280A&IL-2		x	Hoffmann-La Roche	1		x		
NCT01988896		MPD-L3280A&cobimetinib		x	Hoffmann-La Roche	1		x		
NCT01943461		Avelumab		x	Merck	1		x		
NCT01772004		Avelumab		x	EMD Serono	1		x		
NCT01375842		Atezolizumab		x	Genentech	1			x	
Anti-CTLA-4		NCT01750983	Ipilimumab&lenalidomide		x	MD Anderson Cancer Center	1			x
		NCT02239900	Ipilimumab&radiation		x	MD Anderson Cancer Center	1 and 2			x
	NCT00313794	Tremelimumab		x	AstraZeneca	2			x	
	NCT01975831	Tremelimumab&MEDI4736		x	Ludwig Institute for Cancer	1			x	
	NCT02261220	Tremelimumab		x	MedImmune LLC	1			x	

In bold are indicated those enrolling specifically MSI-H patients.

Fig. H.1. Resumen de los ensayos clínicos más relevantes probando inhibidores de puntos de control en cáncer colorrectal.

Con estos resultados, se proponen diseñar 2 protocolos. El primero es el de completar el panel de inmunohistoquímica de los pacientes con determinación de IMS por PCR para poder calcular la sensibilidad, especificidad y concordancia. Existe evidencia de que la IHQ para deficiencia de la enzima de reparación son un excelente subrogado de la PCR para determinar IMS, lo que pondría a disposición de mayor cantidad de casos la determinación y el posible beneficio de otra opción de tratamiento⁷⁵. Además, actualmente se recomienda por diversas organizaciones internacionales, realizar escrutinio universal por cualquiera de los dos métodos, en individuos con nuevo diagnóstico de cáncer colorrectal para reducir morbilidad y mortalidad en parientes en casos de sospecha de síndrome de Lynch⁷⁶.

El segundo protocolo, sería una vez corroborada la IHQ como subrogado de la PCR, la de la expansión de la determinación a otros tumores gastrointestinales como estómago, esófago o páncreas, y no GI (ovario o endometrio); donde, existen pocas opciones de tratamiento efectivas, y la inmunoterapia, puede volverse una opción de tratamiento⁷⁷.

I. Bibliografía

- ¹ GLOBOCAN 2012 (IARC) Section of Cancer Surveillance (8/5/2017). http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
- ² Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017;67:7–30.
- ³ Gómez-Dantés H et al. The burden of cancer in Mexico, 1990-2013. *Salud Publica Mex* 2016;58:118-131.
- ⁴ Charúa-Guindic L et al. Epidemiological characteristics of colorectal cancer in the General Hospital of Mexico. A 20 years analysis: 1988-2007. *Rev Gastroenterol Mex* 2009; 74:99-104.
- ⁵ Burbano-Luna DF et al. Epidemiología del cáncer colorrectal en menores de 50 años en el Hospital Juárez de México. *Endoscopia*. 2016;28(4):160---165.
- ⁶ Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cáncer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816 –9.
- ⁷ Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558–61.
- ⁸ Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 1989;44:388–96.
- ⁹ Parsons R, Li GM, Longley MJ, et al. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER+ tumor cells. *Cell* 1993;75:1227–36.
- ¹⁰ Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558–61.
- ¹¹ Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012;487:330–7.
- ¹² Zigelboim I, Goodfellow PJ, Gao F, et al. Microsatellite instability and epigenetic inactivation of MLH1 and outcome of patients with endometrial carcinomas of the endometrioid type. *J Clin Oncol* 2007;25:2042–8.
- ¹³ Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014;513:202–9.
- ¹⁴ Chiappini F, Gross-Goupil M, Saffroy R, et al. Microsatellite instability mutator phenotype in hepatocellular carcinoma in non-alcoholic and non-virally infected normal livers. *Carcinogenesis* 2004;25:541–7.
- ¹⁵ Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012;487:330–7.
- ¹⁶ Palmieri G, Ascierto PA, Cossu A, et al. Assessment of genetic instability in melanocytic skin lesions through microsatellite analysis of benign naevi, dysplastic naevi, and primary melanomas and their metastases. *Melanoma Res* 2003;13:167–70.
- ¹⁷ Naboush A, Roman CAJ, Shapira I. *J Investig Med* 2017;65:754–758.
- ¹⁸ Le DT, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372:2509-2520.
- ¹⁹ Woerner SM, , Gebert J, Yuan YP, et al. Systematic identification of genes with coding microsatellites mutated in DNA mismatch repair-deficient cancer cells. *Int J Cancer*. 2001 Jul 1;93(1):12-9.
- ²⁰ Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG et al. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer* 2015;15:181–194.
- ²¹ Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993;260:812–816.
- ²² Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558–561.
- ²³ Peltomäki P, Aaltonen LA, Sistonen P et al. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science* 1993;260:810–812.
- ²⁴ Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816–819.
- ²⁵ Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138: 2073–2087.

-
- ²⁶ Watson P, Lin KM, Rodriguez-Bigas MA, Smyrk T, Lemon S, Shashidharan M, et al. Colorectal carcinoma survival among hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma family members. *Cancer* 1998;83:259–66.
- ²⁷ Lee V, et al. Mismatch Repair Deficiency and Response to Immune Checkpoint Blockade. *The Oncologist* 2016;21:1–12.
- ²⁸ Peltomäki P, Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition—Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis Markers* 2004;20: 269–276.
- ²⁹ Woods MO, Williams P, Careen A et al. A new variant database for mismatch repair genes associated with Lynch syndrome. *Hum Mutat* 2007;28: 669–673.
- ³⁰ Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 39 exons of TACSTD1. *Nat Genet* 2009;41:112–117.
- ³¹ 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.
- ³² Vasen HF. Clinical diagnosis and management of hereditary colorectal cancer syndromes. *J Clin Oncol* 2000;18(21 Suppl):81S–92S.
- ³³ Zhang X1, Li J. Era of universal testing of microsatellite instability in colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2013 Feb 15;5(2):12-9.
- ³⁴ Raut CP, Pawlik TM, Rodriguez-Bigas MA. Clinicopathologic features in colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Mutat Res* 2004 Dec 21;568(2):275–82.
- ³⁵ Ward R, Meagher A, Tomlinson I, O'Connor T, Norrie M, Wu R, et al. Microsatellite instability and the clinicopathological features of sporadic colorectal cancer. *Gut* 2001;48(6):821–9.
- ³⁶ Poynter JN, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Long TI, Thibodeau SN, Lindor N, et al. Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLH1 promoter methylation, immunohistochemistry, and mismatch repair germline mutation screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(11):3208–15.
- ³⁷ Takemoto N, Konishi F, Yamashita K, Kojima M, Furukawa T, Miyakura Y, et al. The correlation of microsatellite instability and tumor-infiltrating lymphocytes in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) and sporadic colorectal cancers: the significance of different types of lymphocyte infiltration. *Jpn J Clin Oncol* 2004;34(2):90–8.
- ³⁸ Takemoto N, Konishi F, Yamashita K, Kojima M, Furukawa T, Miyakura Y, et al. The correlation of microsatellite instability and tumor-infiltrating lymphocytes in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) and sporadic colorectal cancers: the significance of different types of lymphocyte infiltration. *Jpn J Clin Oncol* 2004;34(2):90–8.
- ³⁹ 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.
- ⁴⁰ Stadler ZK, Battaglin F, Middha S, Hechtman JF, Tran C, Cercek A, et al. Reliable detection of mismatch repair deficiency in colorectal cancers using mutational load in next-generation sequencing panels. *J Clin Oncol* 2016;34(18):2141–7.
- ⁴¹ Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7(3):153–62.
- ⁴² Arnold CN, Goel A, Boland CR. Role of hMLH1 promoter hypermethylation in drug resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer cell lines. *Int J Cancer* 2003;106(1):66–73.
- ⁴³ Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23(3):609–18.
- ⁴⁴ Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a metaanalysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer* 2010;46(15):2788–98.
- ⁴⁵ Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, McConkey C, Hills RK, Williams NS, Kerr DJ. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet.* 2007 Dec 15;370(9604):2020-9.

- ⁴⁶ Hutchins G, Southward K, Handley K, Magill L, Beaumont C, Stahlschmidt J, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(10):1261–70.
- ⁴⁷ Van Cutsem E, Labianca R, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, Topham C, Tabernero J, André T, Sobrero AF, Mini E, Greil R, Di Costanzo F, Collette L, Cisar L, Zhang X, Khayat D, Bokemeyer C, Roth AD, Cunningham D. Randomized phase III trial comparing biweekly infusional fluorouracil/leucovorin alone or with irinotecan in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: PETACC-3. *J Clin Oncol*. 2009 Jul 1;27(19):3117-25.
- ⁴⁸ Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010;28(3):466–74.
- ⁴⁹ Sargent DJ, Shi Q, Yothers G, Tejpar S, Bertagnolli MM, Thibodeau SN. Prognostic impact of deficient mismatch repair (dMMR) in 7,803 stage II/III colon cancer (CC) patients (pts): a pooled individual pt data analysis of 17 adjuvant trials in the ACCENT database. *J Clin Oncol* 2014;32:5s.
- ⁵⁰ Fink D, Nebel S, Aebi S, Zheng H, Cenni B, Nehme A, et al. The role of DNA mismatch repair in platinum drug resistance. *Cancer Res* 1996;56(21):4881–6.
- ⁵¹ Gavin PG, Colangelo LH, Fumagalli D, Tanaka N, Remillard MY, Yothers G, et al. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin Cancer Res* 2012;18(23):6531–41.
- ⁵² Andre T, de Gramont A, Vernerey D, Chibaudel B, Bonnetain F, Tijeras-Raballand A, et al. Adjuvant fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in stage II to III colon cancer: updated 10-year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol* 2015;33(35):4176–87.
- ⁵³ Tougeron D, Mouillet G, Trouilloud I, Lecomte T, Coriat R, Aparicio T, et al. Efficacy of adjuvant chemotherapy in colon cancer with microsatellite instability: a large multicenter AGEO Study. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(7).
- ⁵⁴ Sinicrope FA, Mahoney MR, Smyrk TC, Thibodeau SN, Warren RS, Bertagnolli MM, et al. Prognostic impact of deficient DNA mismatch repair in patients with stage III colon cancer from a randomized trial of FOLFOX-based adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2013;31(29):3664–72.
- ⁵⁵ Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, Schischmanoff O, Perret GY, Morere JF. Microsatellite instability does not predict the efficacy of chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res* 2009;29(5):1615–20.
- ⁵⁶ Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, Liao X, Yamauchi M, Nishihara R, et al. Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(15):1151–6.
- ⁵⁷ Ogino S, Shima K, Meyerhardt JA, McCleary NJ, Ng K, Hollis D, et al. Predictive and prognostic roles of BRAF mutation in stage III colon cancer: results from intergroup trial CALGB 89803. *Clin Cancer Res* 2012;18(3):890–900.
- ⁵⁸ Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res* 2014;20(20):5322–30.
- ⁵⁹ Goldstein J, Tran B, Ensor J, Gibbs P, Wong HL, Wong SF, et al. Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H). *Ann Oncol* 2014;25(5):1032–8.
- ⁶⁰ Drake CG, Lipson EJ, Brahmer JR. Breathing new life into immunotherapy: review of melanoma, lung and kidney cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014 Jan; 11(1): 24–37.
- ⁶¹ Le DT, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372:2509-2520.
- ⁶² <http://www.esmo.org/Oncology-News/Pembrolizumab-Receives-FDA-Breakthrough-Therapy-Designation-in-Advanced-Colorectal-Cancer>.
- ⁶³ Le DT et al. KEYNOTE-164: Phase II study of pembrolizumab (MK-3475) for patients with previously treated, microsatellite instability-high advanced colorectal carcinoma. *Journal of Clinical Oncology* 34, no. 4_suppl.
- ⁶⁴ Diaz LA et al. KEYNOTE-177: Randomized phase III study of pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high metastatic colorectal carcinoma. *Journal of Clinical Oncology* 35, no. 4_suppl.

-
- ⁶⁵ Overman MJ et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2017 Jul 19.
- ⁶⁶ Talavera JO. Tamaño de muestra. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011; 49 (5): 517-522.
- ⁶⁷ Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012; 487:330–7.
- ⁶⁸ Venook AP et al. CALGB/SWOG 80405: Phase III trial of irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with KRAS wild-type (wt) untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (MCR). *Journal of Clinical Oncology* 32, no. 18. suppl.
- ⁶⁹ Heinemann V et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014 Sep;15(10):1065-75.
- ⁷⁰ Cucino C, Buchner AM, Sonnenberg A. Continued rightward shift of colorectal cancer. *Dis colon rectum* 2002;45:1035–40.
- ⁷¹ Cheng L, Eng C, Nieman LZ, Kapadia AS, Du XL. Trends in colorectal cancer incidence by anatomic site and disease stage in the United States from 1976 to 2005. *Am J Clin Oncol* 2011;34:573–80.
- ⁷² Greenson JK, Huang SC, Herron C, et al. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009;33:126–33.
- ⁷³ Kloor M, Michel S, von Knebel Doeberitz M. Immune evasion of microsatellite unstable colorectal cancers. *Int J Cancer Journal international du cancer* 2010;127:1001–10.
- ⁷⁴ Sanchez-Castañón M et al. Immunotherapy in colorectal cancer:What have we learned so far? *Clinica Chimica Acta* 460 (2016) 78–87.
- ⁷⁵ Rigau, V., Sebbagh, N., Olschwang, S., Paraf, F., Mourra, N., Parc, Y., Flejou, J.F., 2003. 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.* 127 (6),694–700.
- ⁷⁶ EGAPP, 2009. Recommendations from the Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer. *Genet. Med.* 11 (1), 35–41.
- ⁷⁷ Raufi AG Klempner SJ. Immunotherapy for advanced gastric and esophageal cancer: preclinical rationale and ongoing clinical investigations. *J Gastrointest Oncol.* 2015 Oct; 6(5): 561–569.