

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DEFICIENCIA DE LA REPARACIÓN DE LA INCOMPATIBILIDAD DE ADN EN EL CÁNCER
COLORRECTAL COMO ESTRATEGIA DE DETECCIÓN DEL SÍNDROME DE LYNCH EN EL
HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO 2015 AL 31 DE
DICIEMBRE 2017

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en
Ciencias Médica para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Médicas y
Quirúrgicas

GEINER JIMÉNEZ JIMÉNEZ

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

Dedicatoria y Agradecimientos

Dedicada a mi familia por su incondicional apoyo a lo largo de mi carrera de medicina y posgrados.

Un agradecimiento especial al Servicio de Patología del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, particularmente a la Dra. Johanna Sauma Rodríguez y al Dr. Jadd Abbas Chaktoura por su invaluable apoyo.

Un agradecimiento a mi tutora académica PhD. Lizbeth Salazar Sánchez y a mi tutor institucional PhD. Carlos Santamaría Quesada por la confianza, apoyo y estímulo durante esta tesis.

“Esta Tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Médicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Médicas y Quirúrgicas”

Dr. José Moncada Jiménez
Representante del Decano
Sistema de Estudios de Posgrado

PhD. Lizbeth Salazar Sánchez
Profesora guía

MSc. Oswaldo Alvarado Jiménez
Lector

MSc. Juan José Madrigal Sánchez
Lector

Dr. Eduardo Induni López
Representante de la Directora del
Programa de Posgrado en Ciencias Médicas

Geiner Jiménez Jiménez
Sustentante

Índice

Portada	i
Dedicatoria y Agradecimientos	ii
Hoja de aprobación	iii
Resumen	vi
Abstract	vii
Lista de Tablas	viii
Lista de Figuras	x
Lista de abreviaturas	xi
I. Marco teórico	1
a. Epidemiología del cáncer colorrectal	1
b. Biología molecular del cáncer colorrectal	2
c. Síndrome de Lynch	3
1. Bases genéticas	3
2. Manifestaciones clínico patológicas.....	4
3. Detección de SL	4
4. Diagnóstico molecular confirmatorio de un Síndrome de Lynch.....	13
5. Impacto del manejo integral de los pacientes con Síndrome de Lynch.....	13
II. Justificación	15
III. Propósito del estudio	15
a. Pregunta a estudiar	15
b. Objetivo general	15
c. Objetivos Específicos	16
IV. Metodología	17
a. Diseño del estudio	17
b. Variables del estudio	17
c. Participantes	19
d. Procedimientos	20
e. Análisis estadístico	23
f. Consideraciones éticas	24
V. Resultados	25
a. Características epidemiológicas y clínicas	25
b. Criterios clínicos de sospecha de Síndrome de Lynch	31

<i>c. Prevalencia y patrón de expresión de las proteínas de reparación</i>	33
<i>d. Comparación de las características de pacientes con alteración de la inmunohistoquímica</i>	34
<i>e. Concordancia de las herramientas clínicas con la inmunohistoquímica</i>	39
<i>f. Detección de casos sospechosos y propuesta de diagrama de flujo diagnóstico</i>	41
VI. Discusión	47
VII. Conclusiones y recomendaciones	52
VIII. Referencias	54
IX. Anexos.....	63

Resumen

Contexto: El Síndrome de Lynch es la causa hereditaria de cáncer colorrectal más frecuente en el cual los individuos tienen un riesgo aumentado de desarrollar cáncer colorrectal y otras neoplasias extracolónicas. La detección de las personas en riesgo permite instaurar medidas de prevención primaria y secundaria que han demostrado disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer. Existen diferentes herramientas clínicas, patológicas y genéticas para detectar este síndrome con una capacidad discriminatoria variable y que depende de la experiencia y el recurso hospitalario. En el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia no se realiza una detección rutinaria de estos casos por lo que se desconoce el rendimiento de las diferentes estrategias de tamizaje de esta condición.

Propósito: Determinar si se detectan más casos sospechosos de Síndrome de Lynch utilizando la inmunohistoquímica de las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 en todos los pacientes diagnosticados con un adenocarcinoma colorrectal a una edad ≤ 70 años en comparación con la práctica actual que aplica estas pruebas sólo a pacientes que cumplan criterios clínicos.

Metodología: Se realizó un estudio observacional y transversal en el cual se analizó y comparó las características de 249 pacientes con adenocarcinoma colorrectal con una alteración de la inmunohistoquímica de las proteínas de reparación, así como la concordancia de esa herramienta con los criterios clínicos Amsterdam, Bethesda y PREMM₅.

Resultados: El uso de inmunohistoquímica en esta muestra logró detectar más casos sospechosos del Síndrome de Lynch. Se demostró que hay una mayor prevalencia de esta alteración patológica cuando el cáncer es de localización derecha (segmentos proximales al ángulo esplénico), se cumplen los criterios de Bethesda 3 o 4 y cuando el puntaje PREMM₅ es ≥ 5 . Se probó que existe poca concordancia entre los criterios clínicos y la inmunohistoquímica.

Conclusiones: El uso de inmunohistoquímica en todos los pacientes con adenocarcinoma colorrectal ≤ 70 años detecta más casos sospechosos que si se realiza solo en aquellos pacientes que cumplan criterios clínicos. Con el fin de implementar a nivel local una estrategia de diagnóstico para el Síndrome de Lynch se proponen dos diagramas de flujo tomando en consideración los recursos hospitalarios de nuestro sistema de salud.

Abstract

Background: Lynch syndrome is the most frequent hereditary colorectal cancer cause, in which individuals have a higher risk of developing colorectal cancer and other extracolonic neoplasms. The detection on risk people allows to establish primary and secondary prevention measurements that have been proven to decrease cancer incidence and cancer mortality. There are different clinical, pathological, and genetic tools to detect this syndrome with variable discriminatory ability, which depend on hospital experience and resources. Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia Hospital does not perform a routine detection of these cases, reason why the performance of the screening strategies for this condition are unknown.

Purpose: To determine if more Lynch Syndrome suspected cases are detected using MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2 proteins immunohistochemistry in all patients diagnosed with colorectal adenocarcinoma age ≤ 70 years old in comparison with the current practices, which apply this testing only on patients who meet the clinical criteria.

Methods: An observational and transversal study was conducted, in which 249 patients' characteristics with colorectal adenocarcinoma, with a repair protein immunohistochemistry alteration, as well as the concordance of this tool with the Amsterdam, Bethesda and PREMM₅ clinical criteria were analyzed and compared.

Results: The use of immunohistochemistry in this sample detected more suspected cases of Lynch Syndrome. It was proven that there exists a higher prevalence of this pathological alteration when the cancer location is right-sided (proximal segments according to the splenic flexure), when the Bethesda 3 or 4 criteria are met, and when the PREMM₅ score is $\geq 5\%$. It was proven that there exists little concordance between the clinical criteria and immunohistochemistry.

Conclusions: The use of immunohistochemistry in all patients with colorectal adenocarcinoma age ≤ 70 years old detects more suspected cases when compared with its use in patients who only meet the clinical criteria. Two flowcharts, taking into consideration the hospital resources from our health system, have been proposed with the objective of implementing a Lynch Syndrome diagnosis strategy at a local level.

Lista de Tablas

TABLA 1. VARIABLES ANALIZADAS EN EL ESTUDIO.....	17
TABLA 2. CRONOGRAMA DEL ESTUDIO.....	22
TABLA 3. DISTRIBUCIÓN POR GÉNERO Y EDAD DE LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	26
TABLA 4. DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL CANTÓN DE RESIDENCIA DE PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	26
TABLA 5. DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL ORIGEN ANATÓMICO DEL ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	27
TABLA 6. DISTRIBUCIÓN SEGÚN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	28
TABLA 7. DISTRIBUCIÓN DE LAS NEOPLASIAS SINCRÓNICAS Y METACRÓNICAS DIAGNOSTICADAS EN LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	29
TABLA 8. DISTRIBUCIÓN SEGÚN LOS CRITERIOS DE LA GUÍA DE BETHESDA EN LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	32
TABLA 9. DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL CÁLCULO PREMM5 DE LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	33
TABLA 10. DISTRIBUCIÓN SEGÚN LA ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE REPARACIÓN EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	34
TABLA 11. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN GÉNERO EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL	

DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	35
TABLA 12. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN LOCALIZACIÓN DERECHA VERSUS IZQUIERDA DEL TUMOR EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	35
TABLA 13. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN MORFOLOGÍA DEL TUMOR EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	36
TABLA 14. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN HISTORIA PERSONAL DE SEGUNDAS NEOPLASIAS EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	36
TABLA 15. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN EL CUMPLIMIENTO DE CRITERIOS DE AMSTERDAM EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	37
TABLA 16. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN EL CUMPLIMIENTO DE CRITERIOS DE BETHESDA EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	38
TABLA 17. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA ALTERACIÓN EN LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SEGÚN EL PUNTO DE CORTE PREMM5 EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	39
TABLA 18. FRECUENCIA DE CUMPLIMIENTO DE CRITERIOS SIN ESTRATIFICAR POR ALTERACIÓN DE INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.	40

TABLA 19. CONCORDANCIA COMPARATIVA DE LOS CRITERIOS CLÍNICOS CON LA INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON ADENOCARCINOMA COLORRECTAL DIAGNOSTICADO EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	40
TABLA 20. PACIENTES SIN CRITERIOS CLÍNICOS CON ALTERACIÓN DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS REPARADORAS SOSPECHOSOS DE SÍNDROME DE LYNCH EN LOS ADENOCARCINOMAS COLORRECTALES DIAGNOSTICADOS EN EL HOSPITAL DR. RAFAEL ÁNGEL CALDERÓN GUARDIA DEL 01 DE ENERO DEL 2015 AL 31 DE DICIEMBRE DEL 2017.....	41
TABLA 21. ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS ESCENARIOS SEGÚN EL CRITERIO PARA SELECCIONAR TAMIZAJE PARA EL SÍNDROME DE LYNCH MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA.	44

Lista de Figuras

FIGURA 1. VARIANTES HISTOLÓGICAS DEL ADENOCARCINOMA DE COLON.....	7
FIGURA 2. ANÁLISIS MOLECULAR DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES.....	9
FIGURA 3. ANÁLISIS DE INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS PROTEÍNAS DE REPARACIÓN.....	11
FIGURA 4. DIAGRAMA DE FLUJO DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.....	25
FIGURA 5. DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL PATRÓN FAMILIAR.	31
FIGURA 6. DIAGRAMA DE FLUJO DIAGNÓSTICO 1.....	43
FIGURA 7. DIAGRAMA DE FLUJO DIAGNÓSTICO 2.....	46

Lista de abreviaturas

CCR: cáncer colorrectal

CCSS: Caja Costarricense de Seguro Social

dMMR: deficiencia en el mecanismo de reparación MMR

HNPCC: siglas del inglés *hereditary nonpolyposis colon cancer*

IMS: inestabilidad de microsatélites

MMR: siglas del inglés *DNA Mismatch Repair*

IHQ: inmunohistoquímica

SL: Síndrome de Lynch



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Geiner Jiménez Jiménez, con cédula de identidad 109240803, en mi condición de autor del TFG titulado Deficiencia de la reparación de la incompatibilidad de ADN en el cáncer colorrectal como estrategia de detección del Síndrome de Lynch en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero 2015 al 31 de diciembre 2017.

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: 2 años año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:

Nombre Completo: Geiner Jiménez Jiménez

Número de Carné: 944278 Número de cédula: 109240803

Correo Electrónico: geiner.jimenezjimenez@ucr.ac.cr

Fecha: 22 de junio del 2021 Número de teléfono: 88145948

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Lizbeth Salazar Sánchez

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

I. Marco teórico

a. Epidemiología del cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más frecuentes y mortales en el mundo(1). En Costa Rica representa el tercer cáncer más frecuente en ambos géneros y para el 2016 ocupó el segundo lugar en mortalidad entre las mujeres y el tercero entre los hombres costarricenses(2). En los países desarrollados se ha estimado que la población general tiene un riesgo promedio de desarrollar CCR cercano al 5% a lo largo de la vida, el cual se diagnostica con mayor frecuencia entre los 65 a los 74 años con una edad media de 68 años(3). Según los datos de Globocan en Costa Rica el riesgo acumulado de desarrollar CCR a lo largo de la vida se estima en un 3%(4).

La etiología del CCR está relacionado con múltiples factores de riesgo modificables y no modificables, entre los últimos se encuentra las causas hereditarias que podría explicar el 7-10% de todos los casos(1). Según el factor de riesgo genético el CCR se puede clasificar en tres categorías. El cáncer esporádico (60%) en el cual la persona afectada no tiene una historia familiar notable ni una mutación heredada; el cáncer familiar (30%) en el cual el paciente tiene al menos un familiar con el diagnóstico de CCR pero sin una causa genética demostrable ni patrón hereditario; y el cáncer hereditario (10%) el cual se presenta habitualmente con historial familiar y se demuestra una herencia de alguna mutación con alta penetrancia(5).

En los datos internacionales del 1 al 3% de todos los casos de CCR diagnosticados se explican por una causa hereditaria conocida como Síndrome de Lynch, cuya identificación oportuna permitiría la prevención y la detección temprana de esta y otras neoplasias asociadas en el afectado y su familia(6). La causa genética de este síndrome es la herencia con un patrón autosómico dominante de alguna variante patogénica en genes de la Reparación de la Incompatibilidad de ADN (MMR, acrónimo del inglés *mismatch repair genes*): *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS* y *EPCAM*(7). El riesgo de desarrollar CCR es mayor en una persona que es portadora de alguna de estas alteraciones y puede ser hasta 43-52%, con edades promedio al diagnóstico entre 43 a 45 años(8).

b. Biología molecular del cáncer colorrectal

En el origen molecular del CCR se identifican tres vías principales: la inestabilidad cromosómica, el fenotipo metilador de las islas CpG y la inestabilidad de microsatélites(9).

El mecanismo molecular de la inestabilidad cromosómica es el evento somático más frecuente y se presenta en aproximadamente del 70% al 85% de los cánceres colorrectales(5,10,11), en el cual se acumulan alteraciones favoreciendo un proceso evolutivo histopatológico a partir del epitelio normal, la aparición de adenomas y finalmente carcinoma(12).

El fenotipo metilador de las islas CpG es también una condición somática que se encuentra en cerca del 15% al 20% de los CCR y se describe como un proceso aberrante de metilación a nivel del carbono 5 de la citosina que modifica el dinucleótido CpG (citosina – fosfato – guanina) en regiones de promotores de genes, induciendo un silenciamiento epigenético de la expresión de los genes, tales como el *MLH1*(9,13).

Investigaciones previas indican que del 13% al 15% de todos los cánceres colorrectales presentan el tercer mecanismo conocido como inestabilidad de microsatélites (IMS)(11,14,15), el cual es consecuencia de una deficiencia en el mecanismo MMR; si bien esta alteración no es exclusiva del CCR es una de las neoplasias con mayor prevalencia de esta alteración(16), la cual puede variar según la población, la técnica diagnóstica empleada y el estadio de la enfermedad(17–19).

Cerca del 12% de estos casos se debe a una causa somática y el 3% a una hereditaria como el Síndrome de Lynch (SL)(20). Cuando se produce una incorporación inexacta de nucleótidos en el momento de la replicación del ADN, el proceso de reparación es llevado a cabo en el ser humano por genes que reciben su nombre según la homología estructural con las proteínas bacterianas MutS (*MSH2*, *MSH6*, *MSH3*), MutL (*MLH1*) y homólogos de la segregación postmeiosis (*PMS1*, *PMS2*)(21). En el caso en que se determine un emparejamiento incorrecto se forman complejos entre las proteínas MLH1 y PMS2 o PMS1, así como entre MSH2 y MSH6 o MSH3 que permiten localizar el sitio del error para que una exonucleasa realice una excisión y posteriormente se ejecute la síntesis y ligadura correcta en el ADN(12,13,22–24). Las alteraciones en este mecanismo de reparación facilita que se

acumulen errores de la enzima ADN polimerasa en diferentes regiones del ADN a lo largo del genoma donde se encuentran normalmente repeticiones de 1-6 nucleótidos en tándem (microsatélites), produciendo alteraciones en la longitud de esas regiones o lazos temporales de inserción-delección, un fenotipo conocido como inestabilidad de microsatélites(21).

El proceso anterior puede tener consecuencias al producir mutaciones con pérdida del sentido, cambios en el marco de lectura y finalmente proteínas disfuncionales en el proceso de translación(19,25). Utilizando secuenciación de nueva generación se ha descrito en tumores con IMS una alta prevalencia de mutaciones en genes cuyas funciones son evidentes en los procesos implicados en la tumorigénesis (reparación de ADN, regulación del ciclo celular, apoptosis) lo que sugiere que esta condición de hipermutación secundaria a la falla en este mecanismo de reparación es la responsable de la carcinogénesis del CCR(12,22-24).

c. Síndrome de Lynch

1. Bases genéticas

La causa de este síndrome es la herencia de una variante patogénica en alguno de los genes encargados del MMR, lo cual genera en estas personas errores de la replicación del ADN y un estado de IMS, este último fenómeno se demuestra en más del 90% de los tumores en estos individuos(26,27). Entre las familias con SL se demuestran variantes patogénicas en el gen *MLH1* en el 50%, en el gen *MSH2* en el 40%, en el gen *MSH6* en el 7-10%, en el gen *PMS2* en <5% y en el gen *EPCAM* en 1-3 % de los casos(28), con similares hallazgos moleculares descritos en la población latinoamericana(29). Si bien el gen *EPCAM* no es un gen de reparación, una alteración estructural del mismo puede afectar la función del gen *MSH2* debido a su posición adyacente y río arriba en el ADN(24), de manera que una delección en el extremo 3' del gen *EPCAM* produce un transcrito de fusión *EPCAM-MSH2*, una hipermetilación del promotor y pérdida de la transcripción de *MSH2*(30).

2. Manifestaciones clínico patológicas

Las principales características fenotípicas del SL son: un patrón de herencia autosómico dominante con una penetrancia de CCR del 85-90%, aparición de tumores a una edad menor (promedio de 45 años), tumores colónicos de localización derecha (70% se ubican proximal a la flexura esplénica); además se reporta con frecuencia algunas características histológicas que pueden coexistir tales como pobre diferenciación, marcada inflamación peritumoral linfocítica (reacción tipo Crohn), presencia de células en anillo de sello y componente mucinoso. Se presentan neoplasias colónicas sincrónicas o metacrónicas con más frecuencia que la población general (25-30% tendrán un segundo primario), asimismo estas personas tienen un incremento en el riesgo de diversas neoplasias extracolónicas y se reconoce un proceso de carcinogénesis más acelerado (desarrollo de un adenoma a carcinoma en 2-3 años). Una característica constante en los tumores es la presencia de IMS(6,31,32).

Los tumores extracolónicos que se consideran asociados al SL son: el cáncer de endometrio, estómago, ovario, hepatobiliar, tracto urinario, intestino delgado, cerebro, páncreas y próstata(3). El riesgo de cada neoplasia asociada a este síndrome depende de la mutación causal, siendo *MLH1*, *MSH2* y *MSH6* los genes relacionados con el mayor riesgo(8).

3. Detección de SL

La identificación de pacientes con SL se puede realizar por diversos métodos, sin embargo, es conocido que la mayoría de los casos no se detectan en la práctica clínica, lo que limita implementar medidas preventivas que son altamente efectivas y que podrían disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer en esta población(33,34). A continuación se describen las diferentes alternativas disponibles.

Historia personal y familiar

En los años noventa se establecieron como consenso de expertos del *International Collaborative Group in Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer* los criterios de Amsterdam I y II. Los primeros se enfocaron principalmente en el CCR y luego se integraron los cánceres extracolónicos para mejorar el diagnóstico del síndrome en los criterios de Amsterdam II(35).

En los criterios de Amsterdam I deben presentarse al menos 3 familiares con un CCR y todos los siguientes criterios: a. ser familiar de primer grado de los otros 2, b. al menos 2 generaciones sucesivas deben estar afectadas, c. al menos un CCR debe ser diagnosticado antes de los 50 años, d. debe excluirse la Poliposis Adenomatosa Familiar, e. los tumores deben ser confirmados por patología(36).

Los criterios de Amsterdam II requieren que existan al menos 3 familiares con algún cáncer asociado al SL (CCR, endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal y otros) y mantiene los demás criterios: a. uno debe ser familiar de primer grado de los otros 2, b. al menos 2 generaciones sucesivas deben estar afectadas, c. al menos un CCR debe ser diagnosticado antes de los 50 años, d. debe excluirse la Poliposis Adenomatosa Familiar, e. los tumores deben ser confirmados por patología(37).

Los criterios de Amsterdam en una familia son útiles no solo para sospechar un SL sino también para estimar el riesgo de desarrollar CCR y tumores extracolónicos en los miembros de la familia afectada(38). No obstante, la aplicación de estos criterios en la práctica es compleja, no están diseñados para determinar la probabilidad de ser portador de una mutación genética de cada individuo analizado en una familia y en análisis de pacientes con CCR asociado a IMS y/o SL, se ha demostrado que hasta un 40-50% de pacientes no cumplen de manera completa estos criterios(39-41). Se ha estimado para este criterio clínico una sensibilidad del 22% y una especificidad del 98% para diagnosticar el SL(3).

En el año 1996, un consorcio de expertos internacional en conjunto con el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos desarrolló las Guías de Bethesda para la identificación de individuos con riesgo de ser parte del SL e indicación para que se evaluara por IMS. Esta guía inicial se revisó y actualizó en el año 2004(42,43), donde se reitera la evaluación por el IMS en el tumor en individuos con las siguientes condiciones:

- 1) un CCR diagnosticado a una edad menor que 50 años,
- 2) presencia de CCR sincrónico o metacrónico u otro tumor asociado con el SL,
- 3) un CCR con histología sugestiva de IMS (infiltración de linfocitos en el tumor, reacción linfocítica similar al Crohn, diferenciación mucinosa o células en anillo de sello, patrón de crecimiento medular) en un paciente con menos de 60 años de edad,
- 4) un CCR diagnosticado en uno o más familiares de primer grado con un tumor relacionado al SL con uno de ellos diagnosticado antes de los 50 años,
- 5) un CCR diagnosticado en dos o más familiares de primer o segundo grado con tumores relacionado al SL independiente de la edad(42,44).

Esta evaluación presenta la limitante que algunos de sus componentes son complejos y se puede perder la posibilidad de identificar pacientes con SL en 20-30% aproximadamente si solo se usaran estos criterios(41,44,45). La sensibilidad y especificidad para diagnosticar SL es del 82% y 72% respectivamente(3).

Se requiere rigurosidad en la recolección de los antecedentes mediante una genealogía extendida que incluya más allá de los familiares de primer grado para que esos criterios se cumplan(46), con limitaciones dadas por familias pequeñas, la penetrancia incompleta de las variantes patogénicas, las muertes prematuras por otras causas, así como las intervenciones quirúrgicas en personas que tienen un efecto de reducción de riesgo de cáncer(26).

Morfología del tumor

Las características morfológicas del CCR se han analizado con el fin de establecer un fenotipo que correlacione con IMS y SL. El patrón medular, la linfocitosis intraepitelial (3 o más linfocitos intraepiteliales por campo de gran aumento), la pobre diferenciación, el componente mucinoso, la presencia de células en anillo de sello, la infiltración linfoidea tipo Crohn (Figura 1), son todos aspectos que podrían discriminar entre tumores con IMS de aquellos estables(47-49). Utilizar la morfología por sí sola podría encubrir hasta el 40% de los tumores que si tendría alta inestabilidad, y al contrario hasta el 6% de los tumores con alta inestabilidad no tienen estas características patológicas del todo(26).

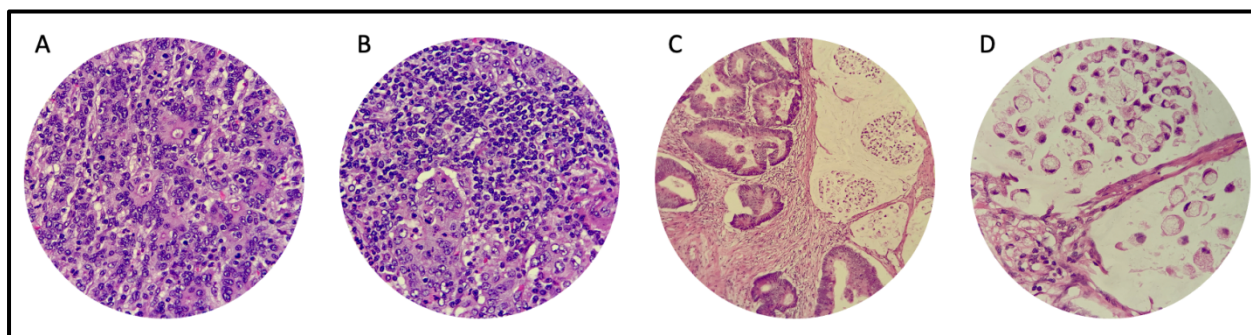


Figura 1. Variantes histológicas del adenocarcinoma de colon.

Figura cortesía Servicio de Patología Hospital Calderón Guardia. A: adenocarcinoma poco diferenciado; B: adenocarcinoma con linfocitosis intratumoral; C: adenocarcinoma mucinoso; D: adenocarcinoma con células en anillo de sello.

Modelos clínicos de predicción de riesgo

Varios modelos predictivos se han desarrollado desde el año 2006 con la finalidad de cuantificar el riesgo de ser portador de una mutación en alguno de los genes de reparación y facilitar la identificación de pacientes y familias con SL(50). Los tres más utilizados y disponibles en línea han sido MMRpro, MMRpredict y PREMM_{1,2,6}, que si bien tienen la capacidad de distinguir entre portadores y no portadores de mutaciones existen pocos estudios que los comparen(51,52).

Al comparar y analizar el desempeño de dichos modelos se ha demostrado que MMRPro y PREMM_{1,2,6} pueden ser eficaces en detectar pacientes candidatos a análisis de mutación germinal de los genes relacionados con el mecanismo MMR cuando se obtiene un valor de corte >5%, pero principalmente cuando el puntaje es $\geq 15\%$ (53). Un análisis comparativo de PREMM_{1,2,6} con la inmunohistoquímica demostró un alto provecho como método de identificación de portadores de mutaciones cuando el resultado del cálculo es $\geq 5\%$ (54).

En el año 2017 se publicó el desarrollo y validación del modelo PREMM₅ que cuantifica el riesgo de ser portador de mutaciones en los genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e incorpora el cálculo de los genes *PMS2* y *EPCAM*, cuyos resultados demostraron que con un cálculo de probabilidad $\geq 2.5\%$ se justifica confirmar con una prueba genética a esos individuos pues logra un valor predictivo negativo del 99% comparado a un 98% si se utiliza el corte de $\geq 5\%$, demostrando ser superior al anterior modelo PREMM_{1,2,6}(55).

Análisis molecular de inestabilidad de microsatélites

Es una prueba molecular basada en una reacción de cadena de polimerasa (PCR por sus siglas en inglés *polymerase chain reaction*) diseñada para detectar IMS, en el cual se utilizan perfiles alélicos de marcadores de microsatélites generados por amplificación del ADN para comparar el tamaño de los alelos del tumor con su correspondiente ADN no tumoral(56). Esta prueba detecta cambios en la longitud de los alelos de microsatélites debido a unidades que anormalmente se repiten durante la replicación del ADN consecuencia de una falla del sistema MMR(48).

Se recomienda un mínimo de 5 marcadores para co-amplificar. Por consenso en 1997 el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos recomendó un panel con 2 mononucleótidos (BAT25, BAT26) y 3 dinucleótidos (D2S123, D5S346, D17S250) conocido como el panel de Bethesda(42), sin embargo, existen muchas otras alternativas de marcadores que se pueden utilizar, entre ellas paneles comerciales como el *MSI Analysis System* que utiliza los 5 marcadores mononucleótidos y logra un rendimiento similar(57).

De este análisis es posible obtener tres diferentes resultados(26):

- a. **Alta inestabilidad:** cuando 2 o más marcadores se encuentran alterados.
- b. **Baja inestabilidad:** cuando solo 1 marcador se encuentra alterado.
- c. **Estable:** cuando ningún marcador está alterado. (Figura 2)

Debido a que más del 90% de los tumores asociados al SL presentan IMS alta, si no se encuentra dicha alteración opera como un predictor negativo de SL(27). En los análisis de eficacia del uso de IMS como estrategia de detección del SL se ha demostrado que si se elige esta como la prueba inicial diagnóstica y de forma secuencial se complementa con inmunohistoquímica la tasa de detección del síndrome es de 88.1%(58). La estimación de sensibilidad y especificidad para este prueba molecular es de 85% y 90% respectivamente(3).

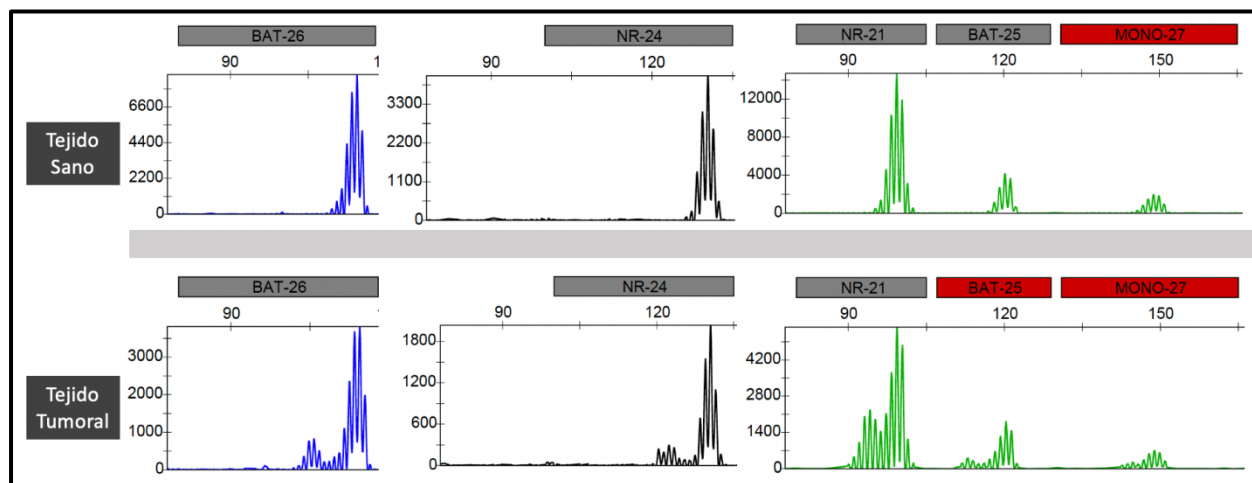


Figura 2. Análisis molecular de inestabilidad de microsatélites.

Figura cortesía Laboratorio de Oncología Molecular Hospital Calderón Guardia. Co-amplificación de cinco mononucleótidos que no muestra nuevos alelos en el tejido tumoral comparado con el tejido sano del mismo paciente según la metodología descrita en (59).

Inmunohistoquímica de las proteínas de reparación de la incompatibilidad de ADN

El uso de pruebas de inmunohistoquímica (IHQ) en la pieza patológica del cáncer con anticuerpos contra las proteínas MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ha demostrado ser una herramienta de tamizaje muy útil para pacientes con SL y CCR porque más del 90% de esos tumores tendrán carencia de expresión de la proteína correspondiente(60).

La ventaja es que es una prueba menos laboriosa que otras herramientas moleculares, identifica cuál de los genes es el que probablemente está afectado, con una sensibilidad y especificidad mayor del 90%. Varios estudios han demostrado una buena concordancia con la prueba molecular de IMS(60) y podría potencialmente identificar de una forma más sencilla y menos costosa a pacientes con sospecha de tener una causa hereditaria(61).

En esta prueba se utiliza la pieza del tejido en parafina en donde se reporta para cada una de las proteínas si la tinción se expresa o no, tal como lo recomienda el Colegio de Patólogos Americanos(62) con los siguientes posibles resultados(32,63,64):

- a. La expresión normal de las 4 proteínas reparadoras implica una muy baja probabilidad de inestabilidad de microsatélites, por lo tanto lo excluye como un caso sospechoso del SL.

- b. La pérdida de expresión del MLH1 sola o asociada al PMS2 requiere complementar con el estudio de la mutación V600E en el gen *BRAF*; en caso de tener esta mutación se asume que la pérdida del MLH1 se debe a un evento somático por metilación de su promotor por lo que confirma una IMS adquirida (como alternativa se puede realizar una prueba molecular de metilación del gen *MLH1*), por el contrario la ausencia de V600E sí le confiere probabilidad de que la pérdida sea por una mutación germinal y corresponda a un SL. Dado que MLH1 y PMS2 actúan como heterodímeros, la ausencia de MLH1 induce una pérdida de la expresión de PMS2. (Figura 3)
- c. La pérdida de expresión solitaria de MSH2, MSH6 o PMS2 implica una alta probabilidad de la presencia de IMS secundario a una mutación germinal en el gen correspondiente.
- d. La pérdida de expresión del MSH2 y MSH6 también confiere sospecha de un SL, esto debido a que ambas proteínas se acoplan como heterodímeros por lo que la ausencia de una de ellas puede afectar la expresión de la otra.

La sensibilidad para este método de detección de SL es del 83% y la especificidad de 89%, muy similar a la que se obtiene con el análisis molecular de inestabilidad(3).

Una potencial desventaja de esta técnica es que el análisis e interpretación del resultado es dependiente del observador por lo que requiere de especialistas en Patología con experiencia en el campo, así como un tejido con una buena conservación(61).

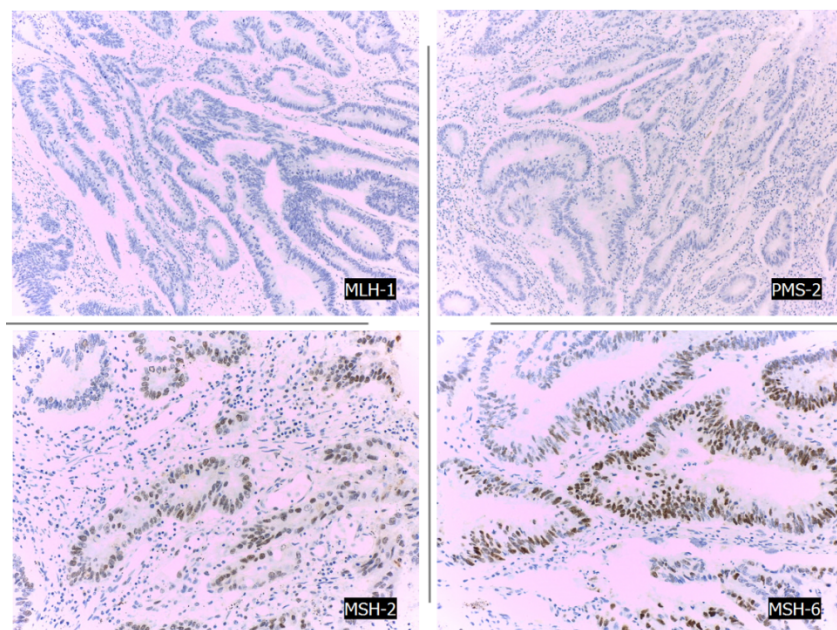


Figura 3. Análisis de inmunohistoquímica de las proteínas de reparación.

Figura cortesía Servicio de Patología Hospital Calderón Guardia. La tinción de inmunohistoquímica muestra un ejemplo en el que las células tumorales tienen pérdida de la tinción de MLH-1 y PMS-2 que sugiere deficiencia en el mecanismo de la reparación de la incompatibilidad de ADN en una pieza de cáncer de colon.

Detección selectiva versus detección universal

Existe en la actualidad un debate sobre la mejor manera de efectuar la detección de SL, ya sea de manera selectiva o de forma universal.

Un modelo de detección selectiva es la clásica utilización de los criterios de la guía de Bethesda, que se basa en la historia personal/familiar y la morfología del tumor para elegir a quien realizar una prueba de IMS, no obstante, puede fallar en detectar aproximadamente el 28% de los portadores de mutaciones(26). En contraposición, la detección universal implica realizar alguna prueba molecular o patológica de detección de IMS a todos y cada uno de los cáncer de colon que se detectan(3,8,34). En los análisis de eficacia del uso de IHQ se ha demostrado que si se selecciona esta como la prueba inicial diagnóstica en todos los casos diagnosticados de CCR y de forma secuencial se complementa con otras tales como IMS y secuenciación de genes se logra una tasa de detección del SL en un 97.6%(58). La detección universal es una estrategia retadora pues requiere no solo de las pruebas diagnósticas, sino

de una organización previa de la institución que la implementa, lo cual incluye diferentes disciplinas, así como una logística para acceso a la asesoría genética y el plan de manejo(65,66).

En el año 2010 se llevó a cabo en Jerusalem un consenso donde se concluyó como recomendación que cualquier persona con CCR a una edad ≤ 70 años debería tamizarse mediante IMS o IHQ, independiente de los criterios clínicos, pues es el grupo de edad donde más frecuentemente se diagnostica un CCR secundario a una mutación germinal(67,68). Un estudio de costo-efectividad demostró que utilizar este tipo de pruebas en el tejido tumoral de pacientes hasta una edad de 70 años es una opción beneficiosa y de costo razonable, máxime en sitios donde el acceso a las pruebas pueda ser limitada por su costo(69). Diferentes consensos de expertos, tales como *American Society of Clinical Oncology*(70), *European Society for Medical Oncology*(71) y otros grupos americanos y europeos, apoyan la búsqueda de la pérdida de expresión de las proteínas del mecanismo MMR como medida de detección del SL y consideran como una de las estrategias válidas realizarlo en pacientes ≤ 70 años mediante IHQ(72,73,74).

La realización de IHQ únicamente a los pacientes ≤ 70 años implica, comparado a realizarlo en todas las edades, una reducción del 34.8% de pruebas en los tejidos, una reducción de 28.6% de casos que se referirían innecesariamente a una consulta de consejo genético y la detección real de una mutación germinal es de 2.1%, comparado a 2.2% si se hiciera el tamizaje en todos los casos independiente de la edad(75). Un modelo de costo-utilidad realizado en Inglaterra y Wales demostró que todas las estrategias para identificar SL son costo-efectivas comparadas a no realizar ninguna detección y entre los diferentes modelos de detección, el máximo beneficio neto en salud se obtuvo cuando se tamizan todos los casos nuevos de CCR en edades menores de 70 años; para este análisis se utilizaron costos según los parámetros de la HCHS (acrónimo de Hospital and Community Health Services) y se proyectó con los recursos limitados del NHS (acrónimo de National Health Service)(76).

No existe una única alternativa de cribado del SL, ni se puede aún concluir cuál es la mejor opción para cada institución, máxime en regiones como Latinoamérica donde es heterogéneo y aun deficientes las guías y recursos para este fin(77). Según sea la herramienta y estrategia seleccionada, la detección de un paciente con un CCR que se

sospecha de una mutación germinal asociado al SL requiere ser evaluado en el ámbito de una consulta de asesoría genética con el fin de realizar el diagnóstico genético germinal, confirmar dicha sospecha e iniciar las medidas de prevención apropiadas(72).

4. Diagnóstico molecular confirmatorio de un Síndrome de Lynch

La confirmación de un SL ocurre cuando se identifica una anomalía monoalélica germinal en algunos de los genes de reparación asociados a este síndrome(24).

El análisis genético debe incluir la secuenciación del ADN y análisis de grandes rearrreglos de los genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM*.(32,75) Se requiere de un análisis completo de los genes ya que las mutaciones germinales en estos genes pueden estar distribuidas a lo largo de todo el gen y no se han identificado zonas calientes(31). La incorporación de la secuenciación masiva paralela ha traído la capacidad de analizar múltiples genes a la vez en los pacientes estudiados(60). El hallazgo de una variante patogénica no solo confirma el diagnóstico del caso probando, sino que además permite conocer el estado de portadores de otros miembros de la familia, incluso en aquellos que no han tenido cáncer, lo que permite instaurar medidas de detección temprana y de reducción de riesgo de varias neoplasias(78).

El diagnóstico molecular debe realizarse en el entorno de una asesoría genética, el cual es un proceso informativo para el paciente y familia sobre los riesgos genéticos de diferentes enfermedades neoplásicas y elementos específicos sobre la genética, así como de las alternativas de manejo clínico y las probabilidades de transmisión a la descendencia(6,28).

5. Impacto del manejo integral de los pacientes con Síndrome de Lynch

El proceso de asesoría genética y diagnóstico molecular ha demostrado un incremento en la adherencia a las pruebas de vigilancia del probando y la familia(79,80). Las medidas de vigilancia se enfocan en aquellos órganos con mayor riesgo de desarrollar cáncer(27), lo que incluye generalmente: colonoscopia con remoción de pólipos precancerosos cada 1-2 años desde los 20 a 25 años de edad, además de vigilancia de otros

órganos como el endometrio, estómago, vías urinarias(28,74). Se ha demostrado una reducción de la mortalidad por CCR en aquellas personas que siguen estas medidas de vigilancia(72,75,78).

Debido a que fuera del colon, el cáncer de endometrio es la segunda neoplasia en incidencia en este síndrome, se ha demostrado que la histerectomía con salpingo-ooforectomía puede reducir el riesgo de ese cáncer en las mujeres portadoras(74,81).

Por estas razones es que la detección de potenciales individuos con SL tiene un beneficio en la individualización de su diagnóstico, tamizaje, manejo y eventualmente en la terapéutica, extendiéndose este beneficio a su familia(82).

II. Justificación

El CCR es una de las neoplasias con incidencia y mortalidad en aumento en Costa Rica, de esta forma la investigación en el área de la prevención y detección temprana se vuelve más relevante. El poder definir y detectar grupos de personas dentro de la población con un mayor riesgo de padecer esta neoplasia, tal como ocurre en el Síndrome de Lynch, permite personalizar el manejo clínico y direccionar los recursos de una forma más eficaz a quienes más lo necesitan.

Es muy relevante contar con alguna estrategia de detección de casos sospechosos del SL, sin embargo, en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia no se utiliza de forma rutinaria ninguna de las herramientas disponibles. Se cuenta con el recurso de la inmunohistoquímica por lo que es valioso analizar su rendimiento como un tamizaje del síndrome y compararlo con otros criterios clínico-patológicos con el fin de recomendar la mejor estrategia diagnóstica. La detección y manejo de estos individuos puede tener un beneficio en reducir el riesgo de padecer cáncer y de fallecer por esta causa.

III. Propósito del estudio

a. Pregunta a estudiar

¿Se puede lograr una mayor detección de casos sospechosos de un SL utilizando inmunohistoquímica en todos los pacientes ≤ 70 años con adenocarcinoma de colon comparado con el uso de inmunohistoquímica basado en criterios clínicos?

b. Objetivo general

Determinar si la prueba de inmunohistoquímica de las proteínas de reparación de la incompatibilidad del ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) en el adenocarcinoma colorrectal de todos los pacientes ≤ 70 años detecta más casos sospechosos de un Síndrome de Lynch que utilizar los criterios clínicos, en pacientes del Hospital Dr. Calderón Guardia diagnosticados del 01 de enero 2015 al 31 de diciembre 2017.

c. Objetivos Específicos

1. Determinar la prevalencia de las alteraciones en la expresión de las proteínas reparadoras MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 en los adenocarcinomas de colon de los pacientes ≤ 70 años.
2. Describir las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con adenocarcinoma colorrectal con alteraciones en la inmunohistoquímica de las proteínas de reparación de la incompatibilidad del ADN.
3. Comparar la concordancia en la detección de casos de sospecha de un Síndrome de Lynch mediante inmunohistoquímica en todos los pacientes ≤ 70 años, o mediante inmunohistoquímica solo en caso de cumplir los criterios clínicos de Amsterdam, Bethesda o PREMM₅.
4. Estimar el valor económico que representa la realización de inmunohistoquímica contra las proteínas de los genes reparadores MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 en todos los casos de pacientes ≤ 70 años con diagnóstico de adenocarcinoma colorrectal o solo en aquellos que cumplen los criterios clínicos.
5. Elaborar y recomendar un flujograma diagnóstico basado en los resultados del estudio que sirva de apoyo para la interpretación de la inmunohistoquímica contra las proteínas de los genes de reparación MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 para la identificación de casos sospechosos de un Síndrome de Lynch.

IV. Metodología

a. Diseño del estudio

Estudio descriptivo, transversal, con revisión de expedientes.

b. Variables del estudio

En este estudio se analizaron variables epidemiológicas, anatomopatológicas y clínicas. En la Tabla 1 se describen todas las variables que se recolectaron y analizaron.

Tabla 1. Variables analizadas en el estudio.

VARIABLE	DEFINICION	CLASIFICACION	UNIDAD MEDICION
Edad	Edad al momento del diagnóstico del cáncer	cuantitativa continua	Años
Género	Femenino o masculino	cualitativa nominal	0= masculino 1= femenino
Cantón de residencia	Lugar de residencia según registrado en expediente	cualitativa nominal	Sitio geográfico (cantón)
Origen anatómico	Sitio anatómico donde se origina la neoplasia	cualitativa nominal	0=colon ascendente 1=colon transverso 2=colon descendente 3=colon sigmoides 4=unión rectosigmoidea 5=recto
Infiltración linfocitaria	Presencia de linfocitos intratumorales en la histología	cualitativa nominal	0=no 1=si 2=no se describe
Componente mucinoso	Presencia de patrón mucinoso en la histología	cualitativa nominal	0=no 1=si 2=no se describe

VARIABLE	DEFINICION	CLASIFICACION	UNIDAD MEDICION
Células anillo de sello	Presencia de células con morfología en anillo de sello en la histología	cualitativa nominal	0=no 1=si 2=no se describe
Patrón medular	Presencia de patrón morfológico medular en la histología	cualitativa nominal	0=no 1=si 2=no se describe
MLH1	Estado de expresión de la proteína MLH1	cualitativa nominal	0=expresión normal 1=ausencia de expresión 2=no interpretable
MSH2	Estado de expresión de la proteína MSH2	cualitativa nominal	0=expresión normal 1=ausencia de expresión 2=no interpretable
MSH6	Estado de expresión de la proteína MSH6	cualitativa nominal	0=expresión normal 1=ausencia de expresión 2=no interpretable
PMS2	Estado de expresión de la proteína PMS2	cualitativa nominal	0=expresión normal 1=ausencia de expresión 2=no interpretable
Neoplasias personales asociadas al síndrome de Lynch	Cantidad de neoplasias en el paciente asociadas al síndrome de Lynch a parte del cáncer colorrectal analizado	cuantitativa discreta	número de casos de cáncer colorrectal, estómago, intestino delgado, páncreas, vía biliar, endometrio, ovario, uréter, pelvis renal, cerebro, adenoma sebáceo, otros.
Neoplasias familiares	Cantidad de neoplasias en un mismo linaje de la	cuantitativa discreta	número de casos de cáncer colorrectal,

VARIABLE	DEFINICION	CLASIFICACION	UNIDAD MEDICION
asociadas a síndrome de Lynch	familia asociadas al síndrome de Lynch		estómago, intestino delgado, páncreas, vía biliar, endometrio, ovario, uréter, pelvis renal, cerebro, adenoma sebáceo, otros.

c. Participantes

En este trabajo se estudiaron los pacientes con el diagnóstico de adenocarcinoma colorrectal diagnosticados a la edad de ≤ 70 años en el Servicio de Patología del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia en el periodo indicado.

Para el cálculo de la muestra se consideró la fórmula de cálculo de estimación de una proporción con los siguientes parámetros: valor estimado de 0.15 como proporción de la población con inestabilidad de microsatélites, una precisión de 0.05 y un nivel de confianza de 95%.

Los criterios de inclusión fueron:

1. Rango de edad de 18 años a 70 años.
2. Confirmación patológica de adenocarcinoma de colon (colon y/o recto) cuyo diagnóstico se haya realizado entre el 01 de enero 2015 al 31 de diciembre 2017.
3. Disponible el reporte de la inmunohistoquímica con anticuerpos contra las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, o el tejido archivado para el análisis de la misma.

Los criterios de exclusión fueron:

1. Casos sin el reporte de la inmunohistoquímica o que la cantidad de tejido no es suficiente para considerar que la prueba de inmunohistoquímica es confiable para su interpretación.
2. No acceso o disponibilidad a la información del expediente clínico.

d. Procedimientos

Los participantes fueron seleccionados a partir de los archivos diagnósticos de tumores gastrointestinales del Servicio de Patología del Hospital Calderón Guardia del año 2015 al 2017. A cada participante se le asignó un código numérico para anonimizarlo y se llenó una hoja de recolección de datos individual (Ver Anexo 1). Debido a que es un estudio observacional se solicitó al Comité Ético Científico la excepción de la firma de un consentimiento informado.

1. Análisis e interpretación de la inmunohistoquímica

Las tinciones de inmunohistoquímica en el Hospital Dr. Calderón Guardia se realizaron, interpretaron y reportaron en el servicio de Patología siguiendo el protocolo utilizado por dicho servicio. Los principales pasos para estos marcadores son los siguientes: a. fijación de la biopsia en formalina al 10% y tamponada con fosfato, lavada y aclarada con alcohol al 90% y xilol e incluida en parafina, b. marcaje con anticuerpos de cortes de parafina de 4 micras de grosor utilizando la plataforma Dako autostainer link 48 y las clonas ES05 (MLH1), M3639 (MSH2), EP51 (MSH6) y EP49 (PMS2), c. lectura e interpretación de las cuatro láminas por el patólogo utilizando las recomendaciones del Colegio de Patólogos Americanos. Cada anticuerpo analizado se reporta como: expresión nuclear intacta (positivo) o pérdida de la expresión nuclear (negativo). Ver Anexo 2(62).

En caso de que la expresión de las cuatro proteínas reparadoras fuera normal, el caso se consideró como *NO SOSPECHOSO* de un SL por análisis de inmunohistoquímica.

En caso de pérdida de la expresión de alguna(s) proteína(s) se procedió a clasificar cada caso según lo descrito en algoritmos recomendados para el diagnóstico del SL(32,63,83), utilizando las siguientes definiciones:

Pérdida de la expresión aislada de MLH1 o de MLH1 junto con PMS2: Se analizó de forma complementaria el gen BRAF en la pieza patológica y en caso de identificar la mutación V600E se consideró como evento somático adquirido y el caso se catalogó como *NO SOSPECHOSO*, por el contrario en ausencia de dicha mutación se catalogó el caso como *SOSPECHOSO*.

Pérdida de la expresión aislada de MSH2, MSH6 o PMS2: Se catalogó el caso como *SOSPECHOSO*.

Pérdida de la expresión de MSH2 junto con MSH6: Se catalogó el caso como *SOSPECHOSO*.

Pérdida de la expresión combinada de MLH1 junto con MSH2, o pérdida de la expresión de tres proteínas a la vez: Se reanalizó la prueba si estuviera disponible y en caso de tener el mismo resultado anormal se consideró no interpretable.

2. *Criterios Clínicos*

Para cada uno de los casos incluidos en el estudio se determinó si cumplía los criterios clínicos Amsterdam I y II, Bethesda y PREMM₅, con base en la información del expediente clínico.

Para los criterios de Amsterdam I y II se utilizó la información de las historias clínicas y se consideró que lo cumplían si se identificaron todos los componentes.

Para los criterios de la Guía de Bethesda Revisada se utilizó la información de las historias clínicas y reportes de patología, se consideró que lo cumplían con al menos uno de los cinco componentes.

Para el modelo de predicción PREMM₅ se utilizó la herramienta disponible en <http://premm.dfci.harvard.edu> y se completó con la información de las historias clínicas y reportes de patología, se consideró que el paciente cumplía este criterio si el cálculo de la probabilidad era $\geq 2.5\%$.

3. *Análisis económico*

Se utilizó como referencia el historial del costo de los marcadores de las cuatro proteínas y una cotización actualizada por parte del oferente actual para el Hospital. Con los datos del estudio se realizó una estimación del costo de utilizar esta prueba diagnóstica en diferentes escenarios.

4. Elaboración de flujogramas

Con los resultados del estudio y el análisis comparativo de la literatura internacional se elaboró dos flujogramas diagnósticos como propuestas para la detección de casos sospechosos de SL según los recursos hospitalarios.

5. Aspectos regulatorios y Cronograma del estudio

Este estudio cumplió con los requerimientos regulatorios del Comité Ético Científico Central de la Caja Costarricense de Seguro Social como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Cronograma del estudio.

ACTIVIDAD	FECHAS
Elaboración del Protocolo.	01 agosto del 2016 al 20 octubre del 2017
Revisión y aprobación por Tutora Académica y por Comité de Posgrado en Ciencias Médicas.	23 noviembre del 2017 (Sesión N°69 del 15 noviembre del 2017)
Sometimiento y aprobación ante Comité Ético Científico Central de la Caja Costarricense de Seguro Social	Primera resolución 08 agosto del 2018: DIFERIDO (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-7106-2018) Segunda resolución 05 diciembre del 2018: APROBADO (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-11059-2018)
Autorización de la Dirección Médica del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia para el inicio del estudio	12 diciembre del 2019 (Oficio DG-4529-12-2018)
Inicio del estudio y recolección de datos.	12 meses: 01 enero al 20 diciembre del 2019
Informes Trimestrales de avance al Comité Ético Científico	Primer Informe: 01 abril del 2019, dado por conocido por CEC el 07 mayo del 2019 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-3410-2019) Segundo Informe: 23 julio del 2019, dado por conocido por CEC el 13 agosto del 2019 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-6496-2019) Tercer Informe: 11 octubre del 2019, se solicitó enmienda del protocolo por parte del CEC el 06 noviembre del 2019 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-9194-2019)

ACTIVIDAD	FECHAS
	<p>Cuarto Informe: 10 enero del 2020, dado por conocido por CEC el 12 febrero del 2020 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-1067-2020)</p> <p>Quinto Informe: 30 abril 2020, dado por conocido por CEC el 15 mayo 2020 (Oficio CEC-CENTRAL-1737-2020)</p>
Auditoría del Comité Ético Científico Central de la Caja Costarricense de Seguro Social	16 octubre del 2019 con informe de la visita de auditoría el 15 noviembre del 2019 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-9777-2019)
Enmiendas al Protocolo	<p>Modificación de hoja de recolección de datos digital: aprobada el 22 noviembre del 2018 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-9724-2019)</p> <p>Variación en el número de participantes: aprobada el 06 diciembre del 2018 (Oficio CEC-CENTRAL-CCSS-10152-2019)</p>
Cierre del estudio y análisis de datos.	2 meses: 01 enero al 29 febrero del 2020

e. Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para el análisis de los datos empleando distribuciones de frecuencia absolutas y relativas para las variables cualitativas, y medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas.

Para comparar la proporción de casos sospechosos obtenidos utilizando la detección en todos los pacientes ≤ 70 años con la proporción de casos sospechosos obtenidos utilizando los diferentes criterios (Amsterdam, Bethesda, PREMM₅) se utilizó la prueba exacta de Fisher. El nivel de significancia utilizado fue de 0.05.

Se estimó el índice de concordancia global entre la utilización de las herramientas clínicas para realizar una inmunohistoquímica con respecto a la utilización de la inmunohistoquímica en todos los pacientes ≤ 70 años para detectar casos sospechosos de Síndrome Lynch, calculando para esto el índice Kappa de Cohen para la concordancia de cada uno de los parámetros con los resultados de la inmunohistoquímica. Para los análisis y estadísticas se utilizó el programa OpenEpi.

f. Consideraciones éticas

Este estudio siguió las normativas nacionales sobre investigación biomédica y se ejecutó siguiendo las Buenas Prácticas de Investigación. En la evaluación de riesgo/beneficio se consideró que al ser un estudio observacional el mayor riesgo que podría existir es la pérdida de la confidencialidad para lo cual se anonimizó a cada participante mediante un código y en caso de publicación de los datos del estudio, no aparecerá ningún nombre ni identificación de los participantes. Este estudio tiene un potencial beneficio al ofrecer datos sobre una estrategia de detección de personas con mayor riesgo de padecer cáncer colorrectal que podría implementarse a nivel local.

Por la naturaleza observacional del estudio no se afectó el principio de autonomía, se incluyeron participantes sin discriminación de grupos manteniendo el principio de justicia, el principio de beneficencia se respetó ya que podría haber un potencial beneficio en la población, se cumplió con el principio de no maleficencia al desarrollar la investigación cumpliendo con la normativa vigente y reduciendo al mínimo el riesgo de los participantes manteniendo la confidencialidad.

V. Resultados

Los resultados se presentan en las siguientes secciones: a. características epidemiológicas y clínicas, b. criterios clínicos de sospecha de Síndrome de Lynch, c. prevalencia y patrón de expresión de las proteínas de reparación, d. comparación de las características de pacientes con alteración de la inmunohistoquímica, e. concordancia de las herramientas clínicas con la inmunohistoquímica, f. detección de casos sospechosos y propuesta de diagrama de flujo diagnóstico.

a. Características epidemiológicas y clínicas

En el periodo de análisis de 3 años se diagnosticaron 393 personas con un adenocarcinoma colorrectal en el Servicio de Patología del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, de los cuales 257 tenían el diagnóstico a una edad de 70 años o menos. Para el análisis de esta investigación se logró incluir 249 participantes. En la Figura 4 se muestra el flujo de la selección de los pacientes.

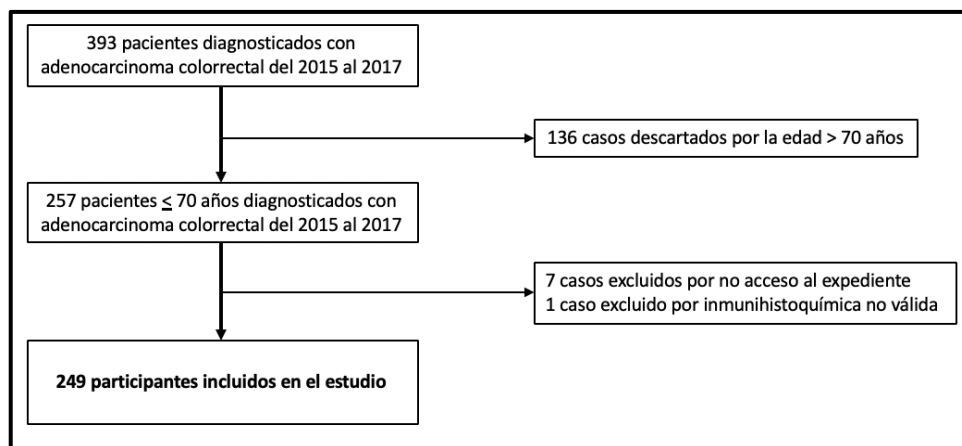


Figura 4. Diagrama de flujo de pacientes incluidos en el estudio.

Entre los participantes se incluyeron 126 mujeres (50.6%) y 123 hombres (49.4%), con un edad media de 57.8 ± 9.4 años para la población en la muestra total, y una edad promedio de 57.2 años en las mujeres y 58.4 años en los hombres. La edad más temprana al diagnóstico fue 26 años y la mayor según el protocolo a los 70 años. En la Tabla 3 se muestran las distribuciones de los pacientes según el decenio para hombres y mujeres. Se destaca que

en el 18.8% de los pacientes se realizó el diagnóstico en una edad temprana menor de los 50 años.

Tabla 3. Distribución por género y edad de los pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Decenio	Hombres N=123 (%)	Mujeres N=126 (%)	TOTAL N=249 (%)
21-30	3 (2.4)	2 (1.5)	5 (2.0)
31-40	4 (3.2)	9 (7.1)	13 (5.2)
41-50	13 (10.5)	16 (12.7)	29 (11.6)
51-60	49 (39.8)	42 (33.3)	91 (36.5)

La mayoría de los participantes pertenecen a la Red Este de Atención del Cáncer de la CCSS que le corresponde ser visto en este hospital, donde el 87.6% de los sujetos viven en cantones del gran área metropolitana como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución según el cantón de residencia de pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Cantón de procedencia	N=249	%
San José¹	54	21.6
Goicoechea¹	50	20.0
Montes de Oca¹	29	11.6
Coronado¹	28	11.2
Moravia¹	23	9.2
Curridabat¹	21	8.4
Pococí	10	4.0
Limón	9	3.6

Cantón de procedencia	N=249	%
La Unión¹	5	2.0
Guácimo	4	1.6
Cartago¹	3	1.2
Matina	2	0.8
Mora¹	2	0.8
Santo Domingo¹	2	0.8
Sarapiquí	2	0.8
Siquirres	2	0.8
Turrialba	2	0.8
Desamparados¹	1	0.8

¹cantones que pertenecen al Gran Área Metropolitana

El sitio anatómico más frecuente del origen del cáncer de colon en esta muestra fue el colon izquierdo en el 76.3% de los casos como se muestra en la Tabla 5, y dentro de este último sitio anatómico los segmentos de colon se distribuyeron de la siguiente manera: colon descendente 23 casos (9.2%), colon sigmoides 54 casos (21.7%) , unión rectosigmoides 43 casos (17.3%) y recto 70 casos (28.1%)

Tabla 5. Distribución según el origen anatómico del adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Origen anatómico	N=249	%
Colon Derecho	47	18.9
Colon Transverso	12	4.8
Colon Izquierdo	190	76.3

De las características morfológicas de los tumores que se recolectaron relacionados con el fenotipo del cáncer de colon en el trasfondo de una inestabilidad de microsatélites, se

encontró que los patrones patológicos que incluyen la infiltración linfocitaria con reacción linfocítica similar al Crohn solo se reportaron en un caso, en todos los demás casos no se hace mención a esta variable en la descripción microscópica de la biopsia, principalmente porque el formato de reporte utilizado en el Hospital sigue las pautas del Colegio Americano de Patólogos y por ahora esos componentes no están protocolizados por lo que no es obligatorio incluirlos de forma rutinaria. La presencia de diferenciación mucinosa, presencia de células en anillo de sello y las demás variables se muestran en la Tabla 6, donde se encuentra que solamente 17.7% de los casos demuestra una característica morfológica que frecuentemente se ve en los tumores con dMMR.

Tabla 6. Distribución según las características morfológicas del adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Característica	N=249	%
Ningun fenotipo	187	75.1
Mucina	39	15.7
Células anillo de sello	2	0.8
Mucina y células anillo de sello	2	0.8
Infiltración linfocitaria	1	0.4
Patrón medular	0	0
No se reportó	18	7.2

En el historial personal se identificó que 29 pacientes (11.6%) tenían el antecedente de padecer de manera sincrónica o metacrónica otra(s) neoplasia(s), 24 de ellos fueron diagnosticados con un segundo tumor, 3 con un tercer tumor y 2 personas con cuatro tumores, para un total de 36 neoplasias diagnosticadas en los 29 sujetos. En la Tabla 7 se muestra el tipo de neoplasias reportadas más allá del tumor primario de colon. El segundo primario más frecuente fue el cáncer colorrectal y en conjunto el 44.4% de estas neoplasias diagnosticadas pertenecen al espectro de tumores asociados al Síndrome de Lynch.

Tabla 7. Distribución de las neoplasias sincrónicas y metacrónicas diagnosticadas en los pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Neoplasia sincrónica o metacrónica	N =36	%
Colorrectal¹	8	22.2
Próstata	5	13.8
Estómago¹	3	8.3
Mama	3	8.3
Riñón¹	2	5.5
Adenoma paratiroides	1	2.8
Adenoma suprarrenal	1	2.8
Cuello uterino	1	2.8
Dermatofibroma	1	2.8
Endometrio¹	1	2.8
GIST²	1	2.8
Intestino delgado¹	1	2.8
Linfoma No Hodgkin	1	2.8
Meningioma	1	2.8
Neuroendocrino intestino	1	2.8
Neurofibroma	1	2.8
Ovario¹	1	2.8
Schwannoma	1	2.8
Tiroides medular	1	2.8
Vejiga	1	2.8

¹Tumores asociados al Síndrome de Lynch,²GIST=Tumor Estromal del Tracto Gastrointestinal

En la recolección de los antecedentes familiares se identificó que 61 personas (24.5%) no tuvieron antecedentes de cáncer en sus familiares, 174 (69.8%) si tuvieron uno o más familiares con cáncer de diversos tipos y en 14 casos (5.6%) este antecedente se

desconoce porque no se constata en ninguna de las historias clínicas del expediente clínico. Dentro de los 174 pacientes que sí tuvieron un antecedente familiar se encontró la siguiente distribución: 78 casos con solo un familiar con cáncer, 47 casos con dos familiares, 23 casos con tres familiares, 18 casos con cuatro familiares, 5 casos con cinco familiares, 2 casos con seis familiares y 1 caso con siete familiares. En ninguno de los casos se encontró una genealogía elaborada, solamente la anotación de la neoplasia y familiar afectado; en 31 casos (12.4%) no se detalló el linaje familiar al cual pertenece la persona afectada con cáncer. En total se registraron 357 neoplasias en los familiares de los participantes, pero en 297 casos (83.2%) no se recolectó la edad del diagnóstico de la neoplasia.

Con ese historial familiar recolectado se clasificaron los participantes en tres grupos clínicos según el patrón de aparición del cáncer: *esporádico* (sin neoplasias del SL en familiares), *familiar* (agregación de neoplasias asociadas al SL pero sin un patrón específico) y *hereditario* (neoplasias asociadas al SL con un patrón de herencia acorde a los criterios de Amsterdam). En 126 participante se presentó el cáncer colorrectal de forma esporádica, en 100 de ellos se encontró una agregación de neoplasias pero que no se pudieron clasificar en un patrón específico de herencia, en 9 de ellos se encontró un patrón compatible con herencia autosómica dominante y debido a la falta de datos 14 de estas personas no pudieron ser clasificadas. En la Figura 5 se presenta la distribución relativa.

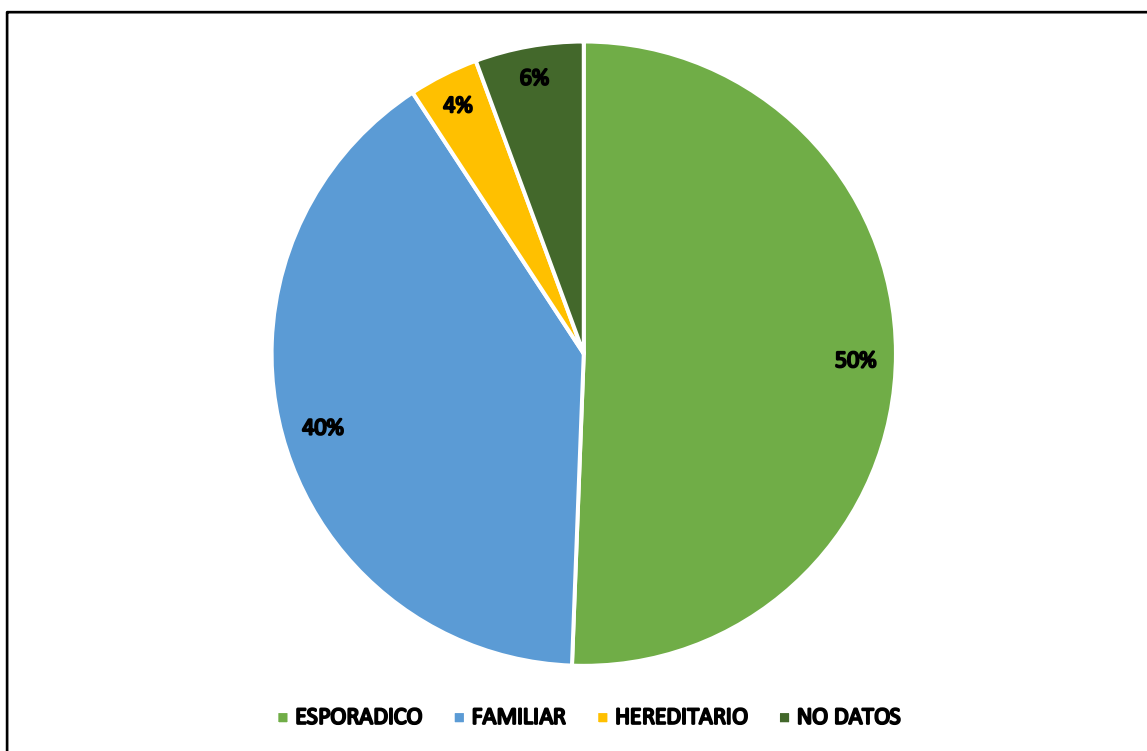


Figura 5. Distribución según el patrón familiar.

Distribución relativa según el patrón familiar de cáncer de los pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

b. Criterios clínicos de sospecha de Síndrome de Lynch

En el análisis de los criterios de Amsterdam no se pudieron incluir 15 casos (6%) en los que no se encontró en el expediente los detalles personales y/o familiares requeridos, por lo que se excluyen para efectos de los análisis relacionados con este criterio. Entre los casos en que sí se encontró la información, 4 casos cumplen los criterios de Amsterdam I (1.7%) que se encuentran incluidos dentro de los 9 casos que cumplen los criterios de Amsterdam II (3.8%).

En el análisis de los criterios de la Guía de Bethesda no se pudieron incluir 12 casos (4.8%) en los que no se encontró en el expediente los detalles personales y/o familiares requeridos y son excluidos en los análisis relacionados con este criterio. Entre los casos en que sí se encontró la información, 141 pacientes (59.5%) cumplen algún criterio de Bethesda

y 96 (40.5%) no lo cumplen. En la Tabla 8 se presentan los criterios según su frecuencia entre los participantes. El criterio que más frecuentemente se encuentra es el 5 en el 43.8% de los casos, considerando que es el único de los cinco criterios que no toma en cuenta la edad del diagnóstico del cáncer en los familiares. Entre aquellos que tienen algún criterio Bethesda lo más frecuente es que solo cumplan uno de los cinco criterios.

Tabla 8. Distribución según los criterios de la Guía de Bethesda en los pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Criterio(s) de Bethesda	N=237	(%)¹
Cumplen algún criterio	141	59.5
No cumple ningun criterio	96	40.5
¹ Criterio 1	43	18.1
¹ Criterio 2	10	4.2
¹ Criterio 3	25	10.5
¹ Criterio 4	11	4.6
¹ Criterio 5	104	43.8
Un criterio	102	43.0
Dos criterios	30	12.6
Tres criterios	5	2.1
Cuatro criterios	4	1.7
Cinco criterios	0	0

¹Los criterios no son mutuamente excluyentes. Criterio 1: un CCR a edad menor que 50 años; criterio 2: un CCR o otro tumor asociado al SL sincrónico o metacrónico; criterio 3: histología del CCR sugestiva de IMS en paciente menor que 60 años; criterio 4: un CCR en uno o más familiares de primer grado más otro tumor relacionado con SL antes de los 50 años; criterio 5: un CCR en dos o más familiares de primer o segundo grado más otros tumores relacionados al SL a cualquier edad.

Se realizó en todos los casos el cálculo de predicción de portación de una mutación germinal en alguno de los 5 genes con el modelo PREMM₅, en aquellos en que la edad no

estaba recolectada se estimó una edad promedio de 60 años para poder completar el modelo. En la muestra la mediana del puntaje fue 2.6% (IQR 1.9-4), donde el 54.6% de los participantes cumplían este criterio clínico al tener un puntaje de 2.5 o mayor. En la Tabla 9 se muestran el número de casos según los rangos de los valores encontrados.

Tabla 9. Distribución según el cálculo PREMM5 de los pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Puntaje calculado	N=249	%
< 2.5%	113	45.4
2.5% - 4.9%	95	38.1
≥ 5%	41	16.5

c. Prevalencia y patrón de expresión de las proteínas de reparación

Todos los pacientes incluidos en el estudio tuvieron un reporte estándar de la inmunohistoquímica en las piezas del cáncer colorrectal. En 221 participantes la expresión de las cuatro proteínas fue reportada normal. Se identificó una alteración en la expresión de las proteínas MMR en 28 personas, lo que corresponde a una prevalencia de 11.2%. La alteración más frecuente fue la pérdida de expresión conjunta de MLH1 y PMS2 como se muestra en la Tabla 10, en el que se utiliza el signo menos (-) para definir la pérdida de la expresión de la proteína en el tejido.

Tabla 10. Distribución según la alteración de la expresión de proteínas de reparación¹ en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

MLH1	MSH2	MSH6	PMS2	N=28	%
-	+	+	-	13	46.4
+	+	+	-	8	28.6
+	-	-	+	5	17.9
+	+	-	+	2	7.1
-	+	+	+	0	0
+	-	+	+	0	0

¹(+): expresión nuclear intacta; (-): pérdida de la expresión nuclear.

En los 13 pacientes con una alteración que incluye la vía MLH1 se analizó la mutación V600E en el gen *BRAF* y en 6 de ellos se demostró dicha alteración biológica. Por lo tanto, entre los pacientes con alteración en la expresión de las proteínas de reparación y utilizando las definiciones para este estudio, 22 de ellos presentaron una alteración que es sospechosa de un SL, lo que corresponde a una prevalencia de 8.8% de la muestra total que mediante inmunohistoquímica se clasifican como sospechosos de SL.

d. Comparación de las características de pacientes con alteración de la inmunohistoquímica

Los pacientes con CCR y la IHQ alterada fueron diagnosticados a una edad promedio de 57.3 años, muy similar a los que tienen la IHQ normal cuya edad promedio fue 57.9 años.

No se encontró una diferencia significativa de la prevalencia de alteraciones de las proteínas MMR según género como se ilustra en la Tabla 11.

Tabla 11. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según género en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N= 221 (%)	IHQ alterada N=28 (%)	Total 249	p
Hombres	111 (90.2)	12 (9.8)	123	0.594
Mujeres	110 (87.3)	16 (12.7)	126	

Se hizo un análisis en el grupo de personas con un diagnóstico a una edad temprana, pero utilizando el corte de <50 años y de <45 años no se demostró una diferencia significativa en la prevalencia de la alteración inmunohistoquímica comparado con la población de mayor edad.

En el análisis según el sitio anatómico del origen del colon se demostró que hay una diferencia significativa con una mayor prevalencia de la alteración de la IHQ de las proteínas MMR cuando el cáncer de colon es de localización derecha (segmentos proximales al ángulo esplénico) comparado con las localizaciones izquierdas demostrado en la Tabla 12, para lo cual se obtuvo un OR 5.46 (2.24-13.70).

Tabla 12. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según localización derecha versus izquierda del tumor en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=221 (%)	IHQ alterada N=28 (%)	Total 249	p
Colon Derecho	43 (72.9)	16 (27.1)	59	0.0001
Colon Izquierdo	178 (93.7)	12 (6.3)	190	

La presencia de algunas características en la morfología de la neoplasia, tales como la invasión linfocitaria, el componente mucinoso y la presencia de células en anillo de sello se presentan en la Tabla 13, para los cuales no se demostró una diferencia significativa.

Tabla 13. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según morfología del tumor en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=204 ¹ (%)	IHQ alterada N=27 ¹ (%)	Total 231	p
Morfología compatible con IMS²	35 (79.5)	9 (20.5)	44	0.091
Morfología sin patrón específico	169 (90.4)	18 (9.6)	187	

¹se excluyen 18 casos donde no se reportó la morfología en la pieza de patología

²incluye infiltrado linfocitario y/o componente mucinoso y/o células en anillo de sello

En los pacientes que tenían un antecedente personal de segundas neoplasias, no se encontró una diferencia significativa en la prevalencia de la alteración de la IHQ como se muestra en la Tabla 14. Este mismo resultado se mantuvo cuando se realizó un análisis estratificando los casos por aquellas neoplasias relacionadas con el SL o por la cantidad de segundas neoplasias asociadas con el síndrome.

Tabla 14. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según historia personal de segundas neoplasias en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=221 (%)	IHQ alterada N=28 (%)	Total 249	p
Antecedentes de otras neoplasias	24 (82.8)	5 (17.2)	29	0.423

	IHQ normal N=221 (%)	IHQ alterada N=28 (%)	Total 249	p
No otras neoplasias	197 (89.5)	23 (10.5)	220	

En esta muestra 4 pacientes cumplían los criterios de Amsterdam I y estaban incluidos dentro de los 9 pacientes que cumplían los criterios de Amsterdam II. No se demostró de manera significativa una mayor prevalencia de la alteración de la IHQ en quienes cumplían criterios de Amsterdam comparado con aquellos que no los cumplían. La Tabla 15 muestra estos datos con la exclusión de 15 casos en que se desconocía los detalles familiares para el análisis del criterio.

Tabla 15. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según el cumplimiento de criterios de Amsterdam en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=210 (%)	IHQ alterada N=24 (%)	Total 234	p
Cumple criterios de Amsterdam II	7 (77.8)	2 (22.2)	9	0.465
No criterios de Amsterdam II	203 (90.2)	22 (9.8)	225	

En los participantes donde existía al menos un criterio de Bethesda tampoco se encontró de manera significativa una mayor prevalencia de la alteración de IHQ. La Tabla 16 muestra estos datos con la exclusión de 12 casos en que se desconocía los detalles familiares para el análisis del criterio. Sin embargo, cuando se analizan de forma individual cada uno de los 5 criterios se demostró que únicamente los criterios 3 y 4 presentan una prevalencia mayor de la alteración de la IHQ estadísticamente significativa, correspondiente a un OR 4.15 (1.29-12.28) y OR 8.43 (1.86-36.61) respectivamente.

Tabla 16. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según el cumplimiento de criterios de Bethesda en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=212 (%)	IHQ alterada N=25 (%)	Total 237	p
Criterios Bethesda				
Cualquiera	122 (86.5)	19 (13.5)	141	0.128
Ninguno	90 (93.7)	6 (6.3)	96	
Criterio Bethesda 1				
Si	37 (86.0)	6 (14.0)	43	0.057
No	175 (90.2)	19 (9.8)	194	
Criterio Bethesda 2				
Si	7 (70.0)	3 (30.0)	10	0.151
No	205 (90.2)	22 (9.8)	227	
Criterio Bethesda 3				
Si	18 (72.0)	7 (28.0)	25	0.016
No	194 (91.5)	18 (8.5)	212	
Criterio Bethesda 4				
Si	6 (54.5)	5 (45.5)	11	0.005
No	206 (91.2)	20 (8.8)	226	
Criterio Bethesda 5				
Si	90 (86.5)	14 (13.5)	104	0.281
No	122 (91.7)	11 (8.3)	133	

En la Tabla 17 se analiza el puntaje PREMM₅ para un corte de $\geq 2.5\%$ y un corte de $\geq 5\%$. Para el primero que es el valor utilizado por los creadores de esta herramienta no se demostró diferencia significativa, sin embargo, si se logró demostrar una prevalencia mayor y significativa de la alteración de IHQ cuando se utiliza el corte $\geq 5\%$, que es el corte que se utilizaba en el modelo precedente PREMM_{1,2,6}, para el cual se obtuvo un OR 2.78 (1.01-7.16).

Tabla 17. Comparación de la prevalencia de la alteración en la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras según el punto de corte PREMM5 en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

	IHQ normal N=221 (%)	IHQ alterada N=28 (%)	Total 249	p
PREMM ₅				
≥2.5%	120 (88.2)	16 (11.7)	136	0.937
< 2.5%	101 (89.4)	12 (10.6)	113	
PREMM ₅				
≥ 5%	32 (78.0)	9 (22.0)	41	0.046
< 5%	189 (90.9)	19 (9.1)	108	

En resumen, se demostró una mayor prevalencia de la alteración de proteínas mediante IHQ de manera significativa en aquellos pacientes con las siguientes variables: adenocarcinoma de localización derecha (segmentos proximales al ángulo esplénico del colon), criterio de Bethesda 3, criterio de Bethesda 4 y un corte del puntaje PREMM₅ ≥5%.

e. Concordancia de las herramientas clínicas con la inmunohistoquímica

En la Tabla 18 se comparan las diferentes estrategias clínicas que se utilizan para detectar y derivar pacientes para un análisis de IMS independiente de la real alteración de la IHQ en esos casos, se documenta que las más frecuentes incluyen tener al menos un criterio de Bethesda y aquellos que tienen un puntaje PREMM₅ ≥2.5%, donde más de la mitad de la muestra cumplió esos dos criterios. Debido a la tendencia observada en los análisis previos respecto a la morfología del tumor, se decidió incluir como análisis *post hoc* esta variable entre las pruebas de concordancia.

Tabla 18. Frecuencia de cumplimiento de criterios sin estratificar por alteración de inmunohistoquímica en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Criterio de sospecha	n/N	%
Amsterdam I	4/234	1.7
Amsterdam II	9/234	3.8
Bethesda	141/237	59.4
Morfología del tumor	44/231	19.0
PREMM₅ \geq 2.5%	136/249	54.6
PREMM₅ \geq 5%	41/249	16.4

Para los análisis de concordancia se consideraron solamente las alteraciones de la IHQ que sí eran compatibles con un SL y se demostró una pobre concordancia entre todos los criterios clínico-patológicos y la inmunohistoquímica, como se puede observar el resumen de los análisis individuales de cada criterio en la Tabla 19, donde el resultado del índice Kappa de Cohen es menor que 0.20 para todos los criterios.

Tabla 19. Concordancia comparativa de los criterios clínicos con la Inmunohistoquímica en pacientes con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Criterio Clínico	Índice Kappa
Amsterdam	0.095
Bethesda	0.060
PREMM₅ \geq 2.5%	0.010
PREMM₅ \geq 5%	0.146
Morfología	0.085

f. Detección de casos sospechosos y propuesta de diagrama de flujo diagnóstico

El análisis de IHQ de las proteínas reparadoras se considera un punto común en la detección de casos sospechosos de un SL con el fin de seleccionar los pacientes que requieren de una evaluación de riesgo y análisis genético, en esta muestra se demuestra que realizando este análisis de forma universal a la población ≤ 70 años, 22 de ellos (8.8%) son clasificados como sospechosos. Entre estos pacientes donde se conoce que tienen una IHQ sospechosa, no se encontraron en todos los casos los diferentes criterios clínicos, por lo que se confirma que la estrategia mediante tamizaje universal podría detectar más casos que si se utiliza previamente algún criterio clínico antes de decidir sobre la realización de la IHQ. En la Tabla 20 se compara el porcentaje de pacientes que potencialmente se perderían como casos sospechosos según el criterio clínico que se elija. El criterio clínico que tendría menos pérdida de casos son las guías de Bethesda.

Tabla 20. Pacientes sin criterios clínicos con alteración de la inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras sospechosos de Síndrome de Lynch en los adenocarcinomas colorrectales diagnosticados en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia del 01 de enero del 2015 al 31 de diciembre del 2017.

Criterio Clínico	No cumple criterio n/N¹	Pérdida de casos que si tienen alteración de IHQ %
Amsterdam	17/19	89.5
Bethesda	3/20	15.0
PREMM₅ corte 2.5%	8/22	36.3
PREMM₅ corte 5%	13/22	59.0
Morfología	14/21	66.7

¹El denominador es menor que 22 cuando no se reportaron los criterios en los pacientes

Según los datos obtenidos de este estudio se realizó un análisis del precio que implicaría la implementación rutinaria del tamizaje por SL en el Servicio de Patología. Si bien según el análisis principal de este estudio se justifica el inicio con una prueba de IHQ independiente de los criterios clínicos, se consideró un segundo escenario considerando que los recursos económicos suelen ser limitados en los hospitales de la seguridad social.

En el primer escenario presentado en la Figura 6, en el cual se inicia con un tamizaje en todos los casos con 70 años o menos, se trabaja bajo el supuesto de que el Hospital cuenta con las herramientas diagnósticas necesarias más allá de la inmunohistoquímica, por lo que se contempla un punto de decisión en el caso de que la IHQ sea normal que se refiere a la revisión de los antecedentes personales o familiares que sugieran un SL a pesar de tener IHQ normal, esto por cuanto la concordancia conocida entre IHQ y la prueba molecular de inestabilidad de microsatélites no es del 100% y por lo tanto evitaría perder algunos casos donde si exista IMS pero que la expresión de proteínas se mantenga normal.

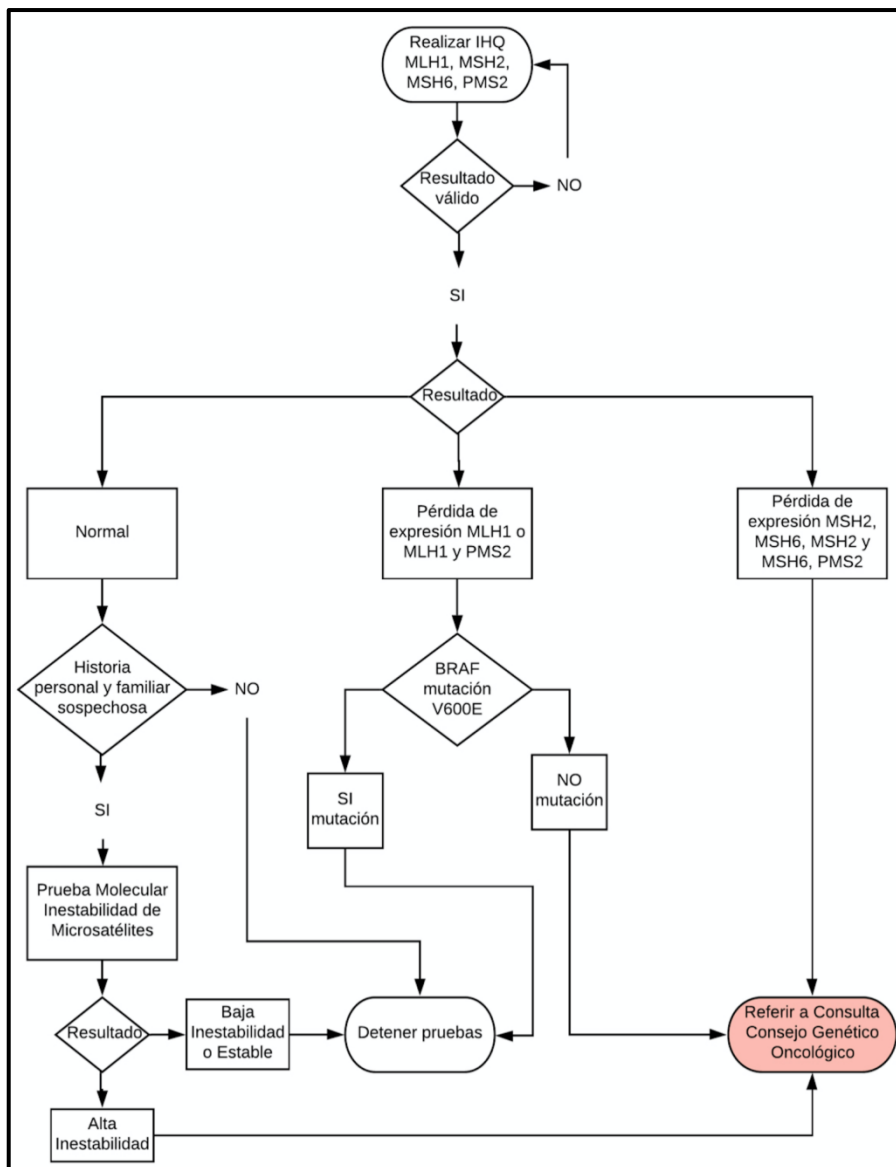


Figura 6. Diagrama de flujo diagnóstico 1.

El diagrama de flujo diagnóstico para la detección universal de casos sospechosos de Síndrome de Lynch mediante la inmunohistoquímica contra las proteínas MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 en los adenocarcinomas colorrectales de pacientes diagnosticados a una edad menor o igual que 70 años. IHQ: Inmunohistoquímica

Con una cotización de los anticuerpos utilizados para la inmunohistoquímica del actual oferente del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia (Ver Anexo 3), se obtuvo un precio de \$46.82 por cada prueba efectiva a la que se le realice la tinción de las 4 proteínas. En la Tabla 21 se detalla el potencial aumento de precio en caso de no utilizar la totalidad de los reactivos comprados durante el año. En caso de un uso efectivo de este recurso el precio estimado para realizar IHQ universal en ≤ 70 años en el Hospital como se sugiere en la Figura 6 sería \$3,886.06 anual.

Tabla 21. Análisis económico de los escenarios según el criterio para seleccionar tamizaje para el Síndrome de Lynch mediante inmunohistoquímica.

	Escenario 1 Todos los casos	Escenario 2 CCR Derecho	Escenario 3 Bethesda 3	Escenario 4 Bethesda 4	Escenario 5 PREMM5 $\geq 2.5\%$
Pruebas esperadas	83	20	8	4	45
Pruebas evitadas	0	63	75	79	38
Kits necesarios¹	3	1	1	1	2
Pruebas no utilizadas	37	20	32	36	35
% no utilización	30.83%	50.00%	80.00%	90.00%	43.75%
Precio por kit	\$1,872.73	\$1,872.73	\$1,872.73	\$1,872.73	\$1,872.73
Precio total kits requeridos	\$5,618.19	\$1,872.73	\$1,872.73	\$1,872.73	\$3,745.46
Precio por prueba efectiva	\$46.82	\$46.82	\$46.82	\$46.82	\$46.82
Precio por prueba realizada²	\$67.69	\$93.64	\$234.09	\$468.18	\$83.23
Precio Total si se utilizan todos los kits comprados	\$3,886.06	\$936.37	\$374.55	\$187.27	\$2,106.82

¹ Cada kit tiene una cantidad de reactivos que permite realizar 40 casos.

² Precio de la prueba asumiendo que se pierden los reactivos no utilizados por año de compra.

En el segundo escenario presentado en la Figura 7, se hace inicialmente una preselección de pacientes con base en los criterios clínicos elegidos, lo cual implica una participación tanto del paciente como del clínico ya que se requiere desde el inicio conocer o recolectar los antecedentes familiares para poder establecer si se cumple criterios de Bethesda (3 y 4 particularmente) y para el cálculo del PREMM₅. Este flujo contempla el limitado acceso que hay en la mayoría de los centros para realizar la prueba molecular de inestabilidad de microsátélites. Para el cálculo del precio de este escenario en la Tabla 21 se muestran los detalles de los diferentes criterios; si se toma el criterio PREMM₅ para realizar una comparación, que de estos implica más pruebas al año, sería mayor el potencial incremento de la prueba en caso de no utilizar la totalidad de los reactivos. En caso de uso efectivo de este recurso el precio estimado para realizar IHQ utilizando ese flujo diagnóstico en el Hospital sería \$2,106.82 anual, sin dejar de lado el dato que esa diferencia de -\$1,779.24 en el precio anual implica una potencial pérdida de 36% de los casos sospechosos según la Tabla 20.

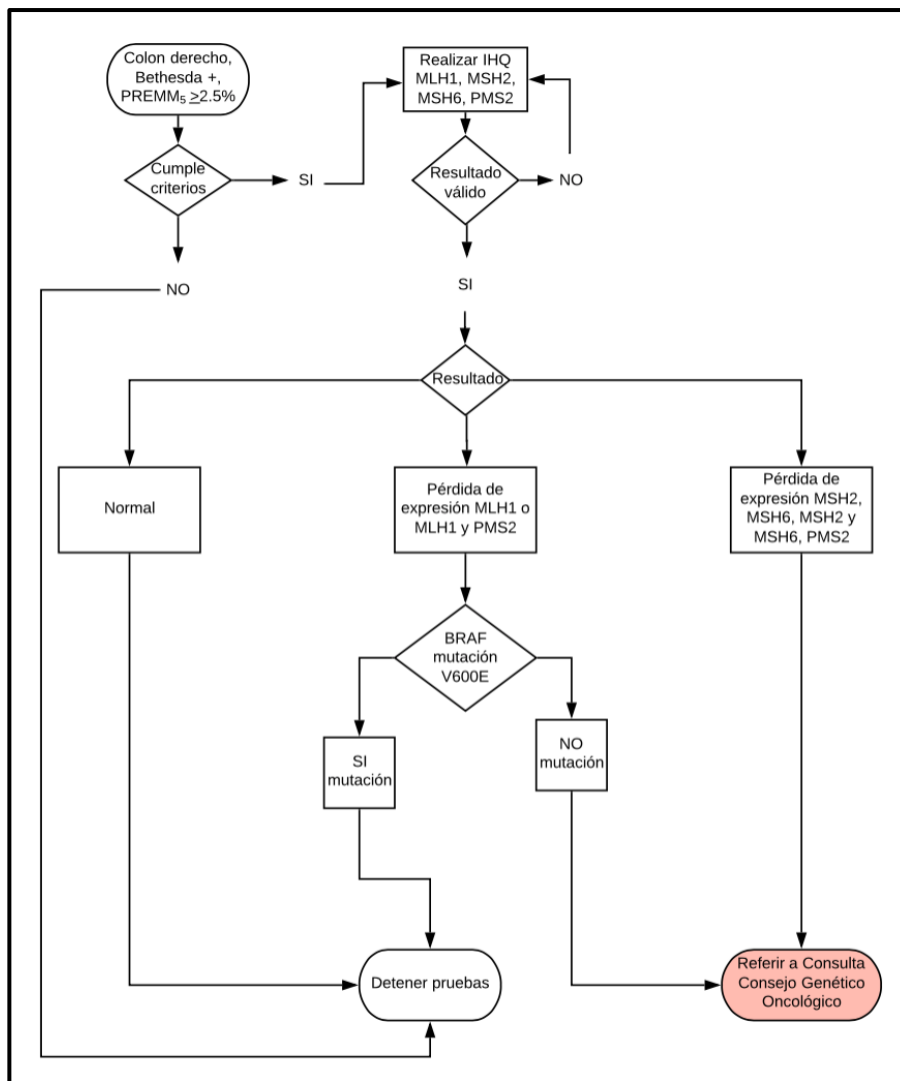


Figura 7. Diagrama de flujo diagnóstico 2.

El diagrama de flujo diagnóstico para la detección de casos sospechosos de Síndrome de Lynch mediante la inmunohistoquímica contra las proteínas MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 en los adenocarcinomas colorrectales de pacientes diagnosticados a una edad menor o igual de 70 años que cumplen criterios clínicos. IHQ: Inmunohistoquímica

VI. Discusión

Los resultados de este estudio mostraron que se podrían detectar más pacientes sospechosos de padecer un Síndrome de Lynch a partir del uso universal de inmunohistoquímica en las biopsias de cáncer colorrectal y que debido a la poca concordancia, usar criterios clínicos para seleccionar a quiénes realizar esta prueba podría tener una importante pérdida de casos.

El estudio tiene la fortaleza que a pesar de ser de carácter retrospectivo solamente hubo una pérdida del 3% de la muestra planificada. Es una muestra bien balanceada y sin diferencias significativas en género y la edad correspondiente, además pareciera una buena representación epidemiológica de la población pues predominaron personas de cantones ya previamente identificados con una mayor tasa de incidencia que la nacional(84). Al demostrar una prevalencia de IMS que se encuentra dentro del rango reportado a nivel internacional le confiere validez a los resultados. Debido a que no se realizó el estudio en línea germinal para confirmar quien es portador del SL, los resultados obtenidos no pueden verificar el rendimiento diagnóstico de cada una de las estrategias que se analizaron, ni tampoco establecer sensibilidad, especificidad o valores predictivos. Algunos análisis que no fueron significativamente estadísticos podría deberse a los pocos casos que presentaron las variables estudiadas, tal como ocurrió con los criterios de Amsterdam y los patrones histológicos del adenocarcinoma, este último además se constató un subregistro debido a que no forma parte del reporte estandarizado de la biopsia. En los expedientes clínicos hubo un importante subregistro de la edad al diagnóstico de las neoplasias en los familiares de los pacientes, lo cual podría alterar los hallazgos de los patrones familiares que se reportaron así como la clasificación de los casos según los criterios de Amsterdam, Bethesda y el modelo de cálculo PREMM₅.

La prevalencia de IMS de este estudio está dentro del rango del 8 -20 % en reportes internacionales(20,85–87); en el presente estudio se encontró que la vía molecular más frecuentemente afectada es MLH1/PMS2, esto no solo coincide con otros reportes sino que también es esperable pues la vía MLH1 incluye tanto la metilación del promotor del gen *MLH1* como evento somático así como la alteración por una etiología germinal, además la pérdida de expresión de MLH1 puede inducir la pérdida de su heterodímero PMS2. En un

análisis de la implementación de la IHQ universal en la Clínica Cleveland, el 71.2% tenía ese patrón de pérdida de expresión siendo el más frecuente(65). Como un hallazgo en el presente estudio se encontró un número inesperadamente alto de casos (28%) con pérdida aislada de PMS2 que no coincide con otras series internacionales donde se reporta en un rango de 0 al 5%(65,88-91). Se encuentran reportes como el del Departamento de Patología del Memorial Sloan-Kettering Center quien en el 2009 reportó una ausencia aislada de PMS2 en un 13%(64) y en contraposición hay otros reportes en la literatura de centros como la Clínica Las Condes en Santiago de Chile donde ni siquiera se incluye el anticuerpo PMS2 dentro del estudio patológico(92). Para el actual reporte se descartó el vencimiento o la no fijación adecuada de los anticuerpos como causa de esta observación ya que cada marcador utilizado en el componente tumoral tuvo simultáneamente un control positivo en el tejido sano, además todos esos casos fueron valorados por especialistas en patología con experiencia en la interpretación de esta prueba diagnóstica. Hay datos en cáncer de endometrio y SL que sugieren que la metilación del promotor del gen *MLH1* podría ser también una causa de la pérdida aislada de la proteína PMS2 lo que podría ser una posible explicación de ese hallazgo(93). No puede dejarse de lado el hecho de que la muestra con alteraciones en la IHQ fue pequeña y que esta sea la posible causa de una distribución diferente.

La distribución anatómica de los casos se mantuvo cercano a lo reportado en países latinoamericanos. Una revisión de 322 casos en Chile reportó una localización en colon ascendente 24%, transversa 4%, descendente 41% y recto 31%(94). La localización anatómica del cáncer de colon ha generado en los últimos años un interés pronóstico y predictivo, los tumores derechos presentan una mayor tasa de hipermetilación que los izquierdos lo cual les confiere un mejor pronóstico(95). La reciente clasificación molecular del cáncer de colon (CMS del inglés *consensus molecular subtype*) reconoce que el subtipo CMS1 se caracteriza por presentar una mayor frecuencia de alta inestabilidad de microsatélites y se presenta hasta un 77% en el cáncer originado en el lado derecho(53,96). Por otro lado, la localización del tumor también toma relevancia al considerar la etiología del cáncer pues en el fenotipo del Síndrome de Lynch aparece un CCR con mayor frecuencia en el colon derecho, con una relación aproximada de 60% derecho versus 40% izquierdo como

lo demuestra un reciente estudio en población española(97). A su vez un análisis en población latina en un grupo de personas con SL la localización más frecuente fue en colon derecho en el 67%(18). En el actual estudio se confirmó esa relación ya que la alteración de la IHQ se presentó en el 57% en colon derecho y 43% en el izquierdo, esta diferencia fue estadísticamente significativa y representó una probabilidad 5 veces mayor de encontrar dicha alteración solo por el origen anatómico derecho. Todo lo anterior sugiere que la localización derecha del cáncer y su mayor prevalencia de IMS tiene una relevancia a la hora de considerar la etiología hereditaria en los pacientes.

La distribución del CCR en las familias de los afectados de este estudio demostró que la mayor parte de las personas se presentan como casos esporádicos tal como ocurre en la población general. La presentación inusualmente alta de cáncer familiar en esta muestra (sin un claro patrón de herencia) podría explicarse por la omisión del dato de la edad al diagnóstico en la mayoría de los casos familiares (83.2%) y por los casos donde no se recolectó del todo dicha información, ya que esto es relevante para una clasificación más certera de ese grupo. La utilización de una herramienta estándar como la genealogía podría permitir una mejor interpretación de la historia clínica de los pacientes como un primer punto de partida cuando se analiza la influencia de la genética en un padecimiento, lo cual tomaría gran relevancia en casos como en el 22.2% de las personas de esta muestra que tuvieron un CCR como segunda neoplasia y que sin las edades es difícil para el clínico poder hacer una sospecha de una predisposición hereditaria. El porcentaje pequeño de familias con un patrón hereditario coincide con el 5-7% esperado en la población de acuerdo a la literatura(51).

Aunque esta muestra no demostró una diferencia significativa estadísticamente de la IMS en los pacientes con criterios de Amsterdam, este hallazgo debe tomarse con cautela ya que el número de casos fue pequeño y en un 6% no se pudo obtener este dato. Esto mismo podría aplicar en el análisis individual de los criterios de la Guía de Bethesda, ya que era esperable que dichos criterios pudieran discernir pacientes con tumores con dMMR(43,48). El hecho que el criterio 3 y 4 si demostraran una diferencia significativa refuerza la necesidad de un reporte de biopsia que incluya todos los patrones morfológicos conocidos para los

tumores con IMS para el primero, así como un esfuerzo del clínico en la recolección completa de los antecedentes heredofamiliares para el último.

Los resultados del modelo PREMM₅ tuvieron las mismas limitaciones que los otros criterios clínicos en la recolección de los datos familiares que alimentan dicho cálculo. Estos modelos fueron diseñados para seleccionar a cuál persona se justificaría realizar un análisis genético en búsqueda de mutaciones germinales y no realmente para predecir la IMS(55,98). En el presente estudio se demostró una mayor prevalencia de la IHQ alterada con el uso de PREMM₅ en un corte de $\geq 5\%$, debe tomarse con prudencia ya que en muchos casos la edad de los diagnósticos tuvo que estimarse al no contar con el dato específico. Debido a que esta herramienta pretende ser una prueba de tamizaje de SL al igual que la IHQ, debería razonarse antes de considerar su implementación debido al hallazgo en este estudio en el que no todos los que realmente tenían dMMR cumplían ese criterio.

En el análisis *post hoc* de las características histológicas del tumor se demostró una tendencia de asociación con IMS, sin embargo, no se puede llegar a una conclusión debido a los pocos casos y al subregistro de esas variables, por lo que podría ser de interés incluir de forma estandarizada ese potencial fenotipo de los tumores con IMS cuando se reporta un adenocarcinoma de colon principalmente de lado derecho.

La poca concordancia entre los criterios analizados (Amsterdam, Bethesda, PREMM₅ y morfología) con el diagnóstico por inmunohistoquímica refuerza las recomendaciones de consensos internacionales sobre el uso universal de esta herramienta patológica como estrategia de tamizaje(3,8,34). En esta muestra además se demostró que si se elige utilizar alguna de las herramientas clínicas para seleccionar a cual individuo debe realizarse la IHQ, la potencial pérdida de casos sospechosos puede ser tan alta como casi el 90% en el caso de los criterios de Amsterdam, probablemente relacionado con la insuficiente recolección de datos en la práctica habitual, o en el mejor de los escenarios de un 15% si se elige usar las Guías de Bethesda.

En la elaboración de los diagramas de flujo de diagnóstico se tomaron en cuenta solo aquellas variables que demostraron una mayor probabilidad de presentar la alteración en la IHQ y/o que potencialmente tendrían menos pérdidas de casos por lo que se seleccionaron: localización del cáncer de colon en el lado derecho, cumplimiento de los criterios de

Bethesda (3 y 4) y un puntaje PREMM₅ $\geq 2.5\%$. En un escenario ideal debería contarse con la inmunohistoquímica y la prueba molecular de IMS, pues aunque tienen una alta concordancia la última tiene la ventaja de analizar la disfunción del sistema MMR y no se limita a la expresión de proteínas(13). Según los datos económicos el primer flujo propuesto podría hacer un uso más efectivo de los recursos. Ambos diagramas son adaptaciones de los reportados en la literatura(13,98) y los resultados de esta investigación.

La implementación de una detección universal de SL sería un cambio en la práctica clínica hospitalaria, que conlleva la necesidad de organizar el respectivo seguimiento y manejo de los casos. Como todo cambio requiere la identificación de diversas condiciones psicológicas y estructurales dentro del colectivo involucrado, tal como Weiner lo propuso en su teoría de la preparación organizacional para el cambio(99). La exploración de esta teoría en estrategias de tamizaje genético del SL en siete programas genéticos estadounidenses reveló que entre las partes interesadas uno de los puntos clave es contar con guías clínicas de manejo que den soporte al programa de detección, sin obviar las potenciales barreras en lo que se refiere a la capacidad de los servicios en organizarse particularmente en cuanto a los recursos. En dicho estudio se identificó que la existencia de líderes encargados del proyecto son clave para la disposición al cambio, los cuales funcionan como facilitadores y responsables de la logística y la evaluación de la calidad del programa(100). Estos datos sugieren que antes de considerar la implementación de la IHQ como detección universal en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, sería necesario una valoración grupal que incluya profesionales de la salud que representen las especialidades de gastroenterología, cirugía, oncología, patología, biología molecular, los involucrados en la consulta de asesoría genética, así como a los encargados de presupuesto, compras y jefaturas pertinentes, con el fin de analizar la mejor ruta para poner en práctica esta estrategia.

VII. Conclusiones y recomendaciones

El análisis con inmunohistoquímica de las proteínas de reparación MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 puede detectar más casos sospechosos de Síndrome de Lynch que los criterios clínicos, por lo que se recomienda que en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, así como en otros centros de salud del país, se implemente una detección universal de pacientes sospechosos de un Síndrome de Lynch mediante inmunohistoquímica en todos los casos \leq 70 años, complementada con el historial personal/familiar y el análisis de inestabilidad de microsatélites en casos particulares. Esta estrategia permitiría la captación de individuos y familias con un mayor riesgo genético de padecer cáncer para derivarlos a una consulta de asesoría genética con el fin de continuar con el proceso de diagnóstico molecular y manejo clínico, lo cual podrá tener a mediano y largo plazo un impacto en la incidencia y mortalidad de cáncer colorrectal en el país.

Una de cada 9 personas diagnosticadas con un adenocarcinoma colorrectal podría tener un trasfondo de dMMR, lo cual hoy en día justifica su análisis rutinario ya que tiene implicaciones en la detección de una causa hereditaria, así como utilidad en la selección de terapias oncológicas como la quimioterapia y la inmunoterapia. Este tipo de pruebas diagnósticas facilitarían un enfoque de medicina de precisión en el ámbito hospitalario y a nivel nacional.

Las características clínico-patológicas que en la presente investigación demostraron significativamente una mayor prevalencia de dMMR fueron: la localización derecha (segmentos proximales al ángulo esplénico del colon), criterio de Bethesda 3, criterio de Bethesda 4 y un corte del puntaje PREMM₅ \geq 5%. Esta información favorece a los clínicos y patólogos en la priorización del diagnóstico mediante inmunohistoquímica y por ello se recomiendan como parte de un punto de decisión en caso de no poder implementar de manera universal la prueba. Se recomienda que en el reporte sinóptico del adenocarcinoma colorrectal se incluya de forma estandarizada la descripción de la presencia o no de las siguientes características histológicas: grado de diferenciación, componente mucinoso, células en anillo de sello, patrón medular, infiltración linfocitaria, con el fin de complementar las características fenotípicas de los cánceres con inestabilidad de microsatélites.

La poca concordancia demostrada entre la alteración inmunohistoquímica y los criterios clínicos, así como el subregistro de estos últimos sugiere que no deberían ser los únicos utilizados para decidir realizar estudios de IMS como ocurre en la práctica actual. Se recomienda una concienciación a los médicos involucrados en el manejo de la patología oncológica sobre la importancia de la recolección completa y detallada de los antecedentes heredofamiliares como una herramienta esencial en el proceso diagnóstico de un síndrome hereditario.

La realización universal de la prueba de inmunohistoquímica sugiere ser la manera más eficiente de utilización de los reactivos que se adquieren anualmente si se toma en cuenta los costos y el número efectivos de pruebas realizadas, por lo que se recomienda adoptar en la medida de lo posible la propuesta *Diagrama de flujo diagnóstico 1*. Como parte del abordaje integral de la patología oncológica intestinal, podría traducirse en una intervención con una relación costo/beneficio favorable para el individuo, su familia y la Institución. En caso de establecer esta estrategia se recomienda una comunicación constante dentro del equipo multidisciplinario de cáncer colorrectal con el fin de divulgar y facilitar su aplicación en la práctica habitual.

Se recomienda que los hallazgos de esta investigación se utilicen como evidencia para la implementación en los hospitales de la Seguridad Social, e inclusive en el ámbito privado, de un programa de detección universal y sistemática del Síndrome de Lynch, lo cual complementaría el esfuerzo actual de diagnóstico genético de variantes patogénicas germinales en el marco del Consejo Genético Oncológico que se ofrece en la Caja Costarricense de Seguro Social.

VIII. Referencias

1. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterol Rev.* 2019;14(2):89–103.
2. Proyecto de Fortalecimiento de la Atención Integral del Cáncer. Proyecto de Fortalecimiento de la Atención Integral del Cáncer, con base en datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. 2017.
3. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, et al. Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 2014 Aug;147(2):502–26.
4. International Agency for Research on Cancer. *Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.* 2012.
5. Kheirelseid EAH, Miller N, Kerin MJ. Molecular biology of colorectal cancer: Review of the literature. *Am J Mol Biol.* 2013;03(02):72–80.
6. Lynch H, Lynch P, Lanspa S, Snyder C, Lynch J, Boland C. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet.* 2009 Jul;76(1):1–18.
7. Rubenstein JH, Enns R, Heidelbaugh J, Barkun A, Adams MA, Dorn SD, et al. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Diagnosis and Management of Lynch Syndrome. *Gastroenterology.* 2015 Sep;149(3):777–82.
8. National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic/familial high-risk assessment: colorectal [Internet]. 2019. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp
9. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular Basis of Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2009 Dec 17;361(25):2449–60.
10. Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer: *Adv Anat Pathol.* 2020 Jan;27(1):20–6.
11. Müller MF, Ibrahim AEK, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2016 Aug;469(2):125–34.
12. Djureinovic T, Sjöblom T. Identification of driver genes in microsatellite-unstable colorectal cancers. *Colorectal Cancer.* 2013 Dec;2(6):515–23.

13. Evrard, Tachon, Randrian, Karayan-Tapon, Tougeron. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers*. 2019 Oct 15;11(10):1567.
14. Amonkar M, Lorenzi M, Zhang J, Mehta S, Liaw K-L. Structured literature review (SLR) and meta-analyses of the prevalence of microsatellite instability high (MSI-H) and deficient mismatch repair (dMMR) in gastric, colorectal, and esophageal cancers. *J Clin Oncol*. 2019 May 20;37(15_suppl):e15074–e15074.
15. Sinicrope FA, Sargent DJ. Molecular Pathways: Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Prognostic, Predictive, and Therapeutic Implications. *Clin Cancer Res*. 2012 Mar 15;18(6):1506–12.
16. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, Salipante SJ. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nat Med*. 2016 Nov;22(11):1342–50.
17. Nayak, Sonali et al. Prevalence estimation of microsatellite instability in colorectal cancers using tissue microarray based methods – A tertiary care center experience. *Indian J Pathol Microbiol*. 2018;61:520–5.
18. Ricker CN, Hanna DL, Peng C, Nguyen NT, Stern MC, Schmit SL, et al. DNA mismatch repair deficiency and hereditary syndromes in Latino patients with colorectal cancer: dMMR and Lynch Syndrome in Latinos. *Cancer*. 2017 Oct 1;123(19):3732–43.
19. Gelsomino F, Barbolini M, Spallanzani A, Pugliese G, Cascinu S. The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review. *Cancer Treat Rev*. 2016 Dec;51:19–26.
20. Boland CR, Goel A. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2010 May;138(6):2073-2087.e3.
21. Martín-López JV, Fishel R. The mechanism of mismatch repair and the functional analysis of mismatch repair defects in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2013 Jun;12(2):159–68.
22. Carethers JM. Microsatellite Instability Pathway and EMAST in Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2017 Feb;13(1):73–80.
23. Elaine et al E et al. Mutational profiling of colorectal cancers with microsatellite instability. *Oncotarget* [Internet]. 2015 Dec 6 [cited 2017 Jun 4]; Available from: <http://www.oncotarget.com/abstract/5997>
24. Tamura K, Kaneda M, Futagawa M, Takeshita M, Kim S, Nakama M, et al. Genetic and genomic basis of the mismatch repair system involved in Lynch syndrome. *Int J Clin Oncol*. 2019 Sep;24(9):999–1011.

25. Li SKH, Martin A. Mismatch Repair and Colon Cancer: Mechanisms and Therapies Explored. *Trends Mol Med*. 2016 Apr;22(4):274–89.
26. Shia J. Evolving approach and clinical significance of detecting DNA mismatch repair deficiency in colorectal carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 2015 Sep;32(5):352–61.
27. Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM*. 2016 Mar;109(3):151–8.
28. Gruber SB KW. Lynch Syndrome. *GeneReviews Internet*. 2004 Apr 12;
29. Rossi BM, Palmero EI, López-Kostner F, Sarroca C, Vaccaro CA, Spirandelli F, et al. A survey of the clinicopathological and molecular characteristics of patients with suspected Lynch syndrome in Latin America. *BMC Cancer [Internet]*. 2017 Dec [cited 2018 Apr 29];17(1). Available from: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-017-3599-4>
30. Peña-Díaz J, Rasmussen LJ. Approaches to diagnose DNA mismatch repair gene defects in cancer. *DNA Repair*. 2016 Feb;38:147–54.
31. Liccardo R, De Rosa M, Izzo P, Duraturo F. Novel Implications in Molecular Diagnosis of Lynch Syndrome. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017:1–12.
32. Weissman SM, Burt R, Church J, Erdman S, Hampel H, Holter S, et al. Identification of Individuals at Risk for Lynch Syndrome Using Targeted Evaluations and Genetic Testing: National Society of Genetic Counselors and the Collaborative Group of the Americas on Inherited Colorectal Cancer Joint Practice Guideline. *J Genet Couns*. 2012 Aug;21(4):484–93.
33. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, et al. Identification of Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *JAMA*. 2012 Oct 17;308(15):1555.
34. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *Am J Gastroenterol*. 2015 Feb;110(2):223–62.
35. Lynch P, Lynch HT. Historical Development of Lynch Syndrome. In: *DNA Alterations in Lynch Syndrome*. 2013. p. 1–24.
36. Vasen HFA, Mecklin J-P, Meera Khan P, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC): Dis Colon Rectum. 1991 May;34(5):424–5.

37. Vansen, H., Watson, P., Mecklin, J., Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1453–6.
38. Samadder NJ, Smith KR, Wong J, Thomas A, Hanson H, Boucher K, et al. Cancer Risk in Families Fulfilling the Amsterdam Criteria for Lynch Syndrome. *JAMA Oncol* [Internet]. 2017 Aug 3 [cited 2017 Aug 11]; Available from: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2017.0769>
39. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Screening for the Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer). *N Engl J Med*. 2005 May 5;352(18):1851–60.
40. Sanchez JA, Vogel JD, Kalady MF, Bronner MP, Skacel M, Church JM. Identifying Lynch Syndrome: We Are All Responsible: *Dis Colon Rectum*. 2008 Dec;51(12):1750–6.
41. Tresallet C, Brouquet A, Julié C, Beauchet A, Vallot C, Ménégau F, et al. Evaluation of predictive models in daily practice for the identification of patients with Lynch syndrome. *Int J Cancer*. 2012 Mar 15;130(6):1367–77.
42. Srivastava S BR. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for Cancer Detection and Familial Predisposition: Development of International Criteria for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Res*. 1998;58:5248–57.
43. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, Chapelle A d. I., Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2004 Feb 18;96(4):261–8.
44. Julié C, Trésallet C, Brouquet A, Vallot C, Zimmermann U, Mitry E, et al. Identification in Daily Practice of Patients With Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer): Revised Bethesda Guidelines-Based Approach *Versus* Molecular Screening. *Am J Gastroenterol*. 2008 Nov;103(11):2825–35.
45. Pérez-Carbonell L, Ruiz-Ponte C, Guarinos C, Alenda C, Payá A, Brea A, et al. Comparison between universal molecular screening for Lynch syndrome and revised Bethesda guidelines in a large population-based cohort of patients with colorectal cancer. *Gut*. 2012 Jun;61(6):865–72.
46. Heo Y, Kim MH, Kim D-W, Lee SA, Bang S, Kim MJ, et al. Extent of Pedigree Required to Screen for and Diagnose Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer: Comparison of Simplified and Extended Pedigrees. *Dis Colon Rectum*. 2019 Dec;1.

47. Alexander J, Watanabe T, Wu T-T, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. *Am J Pathol*. 2001 Feb;158(2):527–35.
48. Aranda, I P A. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Rev Esp Patol*. 2006;39(4):201–8.
49. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(3):21.
50. Kastrinos F, Balmaña J, Syngal S. Prediction models in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2013 Jun;12(2):217–28.
51. Kastrinos F, Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes: *Cancer J*. 2011;17(6):405–15.
52. Mercado RC, Hampel H, Kastrinos F, Steyerberg E, Balmana J, Stoffel E, et al. Performance of PREMM_{1,2,6}, MMRpredict, and MMRpro in detecting Lynch syndrome among endometrial cancer cases. *Genet Med*. 2012 Jul;14(7):670–80.
53. Kastrinos F, Ojha RP, Leenen C, Alvero C, Mercado RC, Balmaña J, et al. Comparison of Prediction Models for Lynch Syndrome Among Individuals With Colorectal Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]*. 2016 Feb [cited 2017 Jul 9];108(2). Available from: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv308>
54. Kastrinos F, Steyerberg EW, Balmaña J, Mercado R, Gallinger S, Haile R, et al. Comparison of the clinical prediction model PREMM_{1,2,6} and molecular testing for the systematic identification of Lynch syndrome in colorectal cancer. *Gut*. 2013 Feb;62(2):272–9.
55. Kastrinos F, Uno H, Ukaegbu C, Alvero C, McFarland A, Yurgelun MB, et al. Development and Validation of the PREMM₅ Model for Comprehensive Risk Assessment of Lynch Syndrome. *J Clin Oncol*. 2017 Jul;35(19):2165–72.
56. Söreide K, Janssen EAM, Söiland H, Körner H, Baak JPA. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Br J Surg*. 2006 Apr;93(4):395–406.
57. Murphy KM, Zhang S, Geiger T, Hafez MJ, Bacher J, Berg KD, et al. Comparison of the Microsatellite Instability Analysis System and the Bethesda Panel for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancers. *J Mol Diagn*. 2006 Jul;8(3):305–11.
58. Gould-Suarez M, El-Serag HB, Musher B, Franco LM, Chen GJ. Cost-Effectiveness and Diagnostic Effectiveness Analyses of Multiple Algorithms for the Diagnosis of Lynch Syndrome. *Dig Dis Sci*. 2014 Dec;59(12):2913–26.
59. Promega. MSI Analysis System. Technical Manual. Version 1.2. 2017.

60. Boland PM, Yurgelun MB, Boland CR. Recent progress in Lynch syndrome and other familial colorectal cancer syndromes: Familial Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin*. 2018 May;68(3):217–31.
61. Agencia d'Avuació de Tecnologia i Recerca Mediques. OncoGuía del consejo y asesoramiento genéticos en el cáncer hereditario. 2006.
62. College of American Pathologists. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Colon and Rectum. 2014.
63. Goodenberger M, Lindor NM. Lynch Syndrome and MYH-Associated Polyposis: Review and Testing Strategy. *J Clin Gastroenterol*. 2011 Jul;45(6):488–500.
64. Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, et al. Immunohistochemistry as First-line Screening for Detecting Colorectal Cancer Patients at Risk for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: A 2-antibody Panel May be as Predictive as a 4-antibody Panel. *Am J Surg Pathol*. 2009 Nov;33(11):1639–45.
65. Heald B, Plesec T, Liu X, Pai R, Patil D, Moline J, et al. Implementation of Universal Microsatellite Instability and Immunohistochemistry Screening for Diagnosing Lynch Syndrome in a Large Academic Medical Center. *J Clin Oncol*. 2013 Apr 1;31(10):1336–40.
66. Vindigni SM, Kaz AM. Universal Screening of Colorectal Cancers for Lynch Syndrome: Challenges and Opportunities. *Dig Dis Sci*. 2016 Apr;61(4):969–76.
67. Boland CR, Lynch HT. The History of Lynch Syndrome. *Fam Cancer*. 2013 Jun;12(2):145–57.
68. Boland CR, Shike M. Report From the Jerusalem Workshop on Lynch Syndrome-Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(7):2197.e1-2197.e7.
69. Ladabaum U, Wang G, Terdiman J, Blanco A, Kuppermann M, Boland CR, et al. Strategies to Identify the Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer: A Cost-Effectiveness Analysis. *Ann Intern Med*. 2011 Jul 19;155(2):69.
70. Stoffel EM, Mangu PB, Limburg PJ. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement of the Familial Risk-Colorectal Cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J Oncol Pract*. 2015 May;11(3):e437–41.
71. Balmana J, Castells A, Cervantes A, On behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Familial colorectal cancer risk: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2010 May 1;21(Supplement 5):v78–81.
72. Guillén-Ponce C, Serrano R, Sánchez-Heras AB, Teulé A, Chirivella I, Martín T, et al. Clinical guideline seom: hereditary colorectal cancer. *Clin Transl Oncol*. 2015 Dec;17(12):962–71.

73. Herzig DO, Buie WD, Weiser MR, You YN, Rafferty JF, Feingold D, et al. Clinical Practice Guidelines for the Surgical Treatment of Patients With Lynch Syndrome: Dis Colon Rectum. 2017 Feb;60(2):137–43.
74. Vasen HFA, Blanco I, Aktan-Collan K, Gopie JP, Alonso A, Aretz S, et al. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. Gut. 2013 Jun;62(6):812–23.
75. Stoffel EM, Mangu PB, Gruber SB, Hamilton SR, Kalady MF, Lau MWY, et al. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement of the Familial Risk–Colorectal Cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. J Clin Oncol. 2015 Jan 10;33(2):209–17.
76. Snowsill T, Huxley N, Hoyle M, Jones-Hughes T, Coelho H, Cooper C, et al. A model-based assessment of the cost–utility of strategies to identify Lynch syndrome in early-onset colorectal cancer patients. BMC Cancer [Internet]. 2015 Dec [cited 2017 Aug 10];15(1). Available from: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-015-1254-5>
77. Vaccaro CA, López-Kostner F, Valle AD, Palmero EI, Rossi BM, Antelo M, et al. From colorectal cancer pattern to the characterization of individuals at risk: picture for genetic research in Latin America. Int J Cancer [Internet]. 2018 Oct 10 [cited 2018 Nov 12]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.31920>
78. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, et al. Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. Am J Gastroenterol. 2014 Aug;109(8):1159–79.
79. Järvinen HJ, Renkonen-Sinisalo L, Aktán-Collán K, Peltomäki P, Aaltonen LA, Mecklin J-P. Ten Years After Mutation Testing for Lynch Syndrome: Cancer Incidence and Outcome in Mutation-Positive and Mutation-Negative Family Members. J Clin Oncol. 2009 Oct 1;27(28):4793–7.
80. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. Genet Med. 2009 Jan;11(1):35–41.
81. Schmeler KM, Lynch HT, Chen L, Munsell MF, Soliman PT, Clark MB, et al. Prophylactic Surgery to Reduce the Risk of Gynecologic Cancers in the Lynch Syndrome. N Engl J Med. 2006 Jan 19;354(3):261–9.

82. Lynch HT, Boland CR, Rodriguez-Bigas MA, Amos C, Lynch JF, Lynch PM. Who Should Be Sent for Genetic Testing in Hereditary Colorectal Cancer Syndromes? *J Clin Oncol*. 2007 Aug 10;25(23):3534–42.
83. Goldberg A, Coetze. New Insights into Lynch Syndrome Diagnosis. In: *DNA Alterations in Lynch Syndrome*. Springer; 2013. p. 47–62.
84. Caja Costarricense de Seguro Social. Situación epidemiológica del cáncer gastrointestinal. Proyecto Fortalecimiento de la Atención Integral del Cáncer en la Red. 2008.
85. Vilkin A, Leibovici-Weissman Y, Halpern M, Morgenstern S, Brazovski E, Gingold-Belfer R, et al. Immunohistochemistry staining for mismatch repair proteins: the endoscopic biopsy material provides useful and coherent results. *Hum Pathol*. 2015 Nov;46(11):1705–11.
86. Pouligiannis G, Frayling IM, Arends MJ. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Histopathology*. 2010 Jan;56(2):167–79.
87. Cabel L, Proudhon C, Mariani P, Tzanis D, Beinse G, Bieche I, et al. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA: What surgical oncologists need to know? *Eur J Surg Oncol EJSO*. 2017 May;43(5):949–62.
88. Chen L, Chen G, Zheng X, Chen Y. Expression status of four mismatch repair proteins in patients with colorectal cancer: clinical significance in 1238 cases. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(10):3685–99.
89. Hashmi AA, Ali R, Hussain ZF, Faridi N, Khan EY, Bakar SMA, et al. Mismatch repair deficiency screening in colorectal carcinoma by a four-antibody immunohistochemical panel in Pakistani population and its correlation with histopathological parameters. *World J Surg Oncol*. 2017 Dec;15(1):116.
90. Zakout YM-A, Lanza G. Detection of DNA Mismatch Repair Protein Abnormalities in Sudanese Colorectal Cancer Patients Using Immunohistochemical Methods. *J Gastrointest Cancer*. 2019 Sep;50(3):530–6.
91. Soliman NA, Morsi DF, Helmy NAH. Immunohistochemical Expression of MMR Proteins with Clinicopathological Correlation in Colorectal Cancer in Egypt. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 May 27;7(10):1608–17.
92. López, F W A. Síndrome de Lynch: selección de pacientes para el estudio genético mediante análisis de inestabilidad nicrosatelital e inmunohistoquímica. *Rev Med Chile*. 2012;140:1132–9.
93. Kato A, Sato N, Sugawara T, Takahashi K, Kito M, Makino K, et al. Isolated Loss of PMS2 Immunohistochemical Expression is Frequently Caused by Heterogenous MLH1 Promoter

- Hypermethylation in Lynch Syndrome Screening for Endometrial Cancer Patients: *Am J Surg Pathol*. 2016 Jun;40(6):770–6.
94. Tapia E O, Roa S JC, Manterola D C, Bellolio J E. Cáncer de Colon y Recto: Descripción Morfológica y Clínica de 322 Casos. *Int J Morphol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2020 Jan 22];28(2). Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022010000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 95. Hirabayashi S, Hayashi M, Nakayama G, Mii S, Hattori N, Tanabe H, et al. The Significance of Molecular Biomarkers on Clinical Survival Outcome Differs Depending on Colon Cancer Sidedness. *Anticancer Res*. 2020 Jan;40(1):201–11.
 96. Cannon E, Buechler S. Colon Cancer Tumor Location Defined by Gene Expression May Disagree With Anatomic Tumor Location. *Clin Colorectal Cancer*. 2019 Jun;18(2):149–58.
 97. Picó MD, Castillejo A, Murcia Ó, Giner-Calabuig M, Alustiza M, Sánchez A, et al. Clinical and Pathological Characterization of Lynch-Like Syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 Feb;18(2):368-374.e1.
 98. Kastrinos F, Steyerberg EW, Mercado R, Balmaña J, Holter S, Gallinger S, et al. The PREMM1,2,6 Model Predicts Risk of MLH1, MSH2, and MSH6 Germline Mutations Based on Cancer History. *Gastroenterology*. 2011 Jan;140(1):73-81.e5.
 99. Weiner BJ. A theory of organizational readiness for change. *Implement Sci*. 2009 Dec;4(1):67.
 100. Knerr S, West KM, Angelo FA. Organizational readiness to implement population-based screening and genetic service delivery for hereditary cancer prevention and control. *J Genet Couns*. 2020 Jan 22;

IX. Anexos

Anexo 1. Hoja de Recolección de Datos utilizada en la investigación

CODIGO ASIGNADO AL PARTICIPANTE: _____																												
Género: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Fecha Nacimiento ___ / ___ / ___ Cantón de residencia: _____																												
ANTECEDENTES PERSONALES DEL PACIENTE																												
Edad del diagnóstico del adenocarcinoma colorrectal: _____																												
Tiene antecedente de otra neoplasia diagnosticada: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>																												
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">TIPO DE CANCER</th> <th style="width: 50%;">EDAD AL DIAGNOSTICO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Colorectal</td><td></td></tr> <tr><td>Estómago</td><td></td></tr> <tr><td>Intestino delgado</td><td></td></tr> <tr><td>Páncreas</td><td></td></tr> <tr><td>Vía Biliar</td><td></td></tr> <tr><td>Endometrio</td><td></td></tr> <tr><td>Ovario</td><td></td></tr> <tr><td>Uréter</td><td></td></tr> <tr><td>Pelvis renal</td><td></td></tr> <tr><td>Cerebro</td><td></td></tr> <tr><td>Adenoma sebáceo</td><td></td></tr> <tr><td>Querato-acantoma</td><td></td></tr> <tr><td>Otro (anotar)</td><td></td></tr> </tbody> </table>	TIPO DE CANCER	EDAD AL DIAGNOSTICO	Colorectal		Estómago		Intestino delgado		Páncreas		Vía Biliar		Endometrio		Ovario		Uréter		Pelvis renal		Cerebro		Adenoma sebáceo		Querato-acantoma		Otro (anotar)	
TIPO DE CANCER	EDAD AL DIAGNOSTICO																											
Colorectal																												
Estómago																												
Intestino delgado																												
Páncreas																												
Vía Biliar																												
Endometrio																												
Ovario																												
Uréter																												
Pelvis renal																												
Cerebro																												
Adenoma sebáceo																												
Querato-acantoma																												
Otro (anotar)																												
CARACTERISTICAS ANATOMOPATOLOGICAS DEL CANCER COLORRECTAL																												
Fecha de diagnóstico de la biopsia: _____																												
Sitio anatómico de origen: ascendente <input type="checkbox"/> transverso <input type="checkbox"/> descendente <input type="checkbox"/> sigmoides <input type="checkbox"/> rectosigmoides <input type="checkbox"/> recto <input type="checkbox"/>																												
Características histológicas:																												
Infiltración linfocitaria en el tumor NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> No reportado <input type="checkbox"/>																												
Componente mucinoso NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> No reportado <input type="checkbox"/>																												
Células en anillo sello NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> No reportado <input type="checkbox"/>																												
Patrón medular NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> No reportado <input type="checkbox"/>																												
Resultado de inmunohistoquímica:																												
MLH 1: Intacto <input type="checkbox"/> Pérdida <input type="checkbox"/> No válido <input type="checkbox"/> Si aplica: BRAF/V600E: Presente <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/>																												
MSH 2: Intacto <input type="checkbox"/> Pérdida <input type="checkbox"/> No válido <input type="checkbox"/>																												
MSH 6: Intacto <input type="checkbox"/> Pérdida <input type="checkbox"/> No válido <input type="checkbox"/>																												
PMS2: Intacto <input type="checkbox"/> Pérdida <input type="checkbox"/> No válido <input type="checkbox"/>																												

ANTECEDENTES FAMILIARES

Algún familiar ha sido diagnosticado con alguna neoplasia: NO SI SE DESCONOCE

Número de casos de neoplasias asociadas a Síndrome Lynch: linaje materno ___ linaje paterno ___

TIPO DE CANCER	PARENTEZCO	EDAD AL DIAGNOSTICO
Colorrectal		
Estómago		
Intestino delgado		
Páncreas		
Vía Biliar		
Endometrio		
Ovario		
Uréter		
Pelvis renal		
Cerebro		
Adenoma sebáceo		
Querato-acantoma		
Otro (anotar)		

CRITERIOS CLINICOS Y MODELOS DE PREDICCIÓN
--

Criterios clínicos que el paciente cumple:

AMSTERDAM I NO SI No se puede determinar con expediente

AMSTERDAM II NO SI No se puede determinar con expediente

BETHESDA NO SI Cuál(es) de los criterios cumple?: 1 2 3 4 5

No se puede determinar con expediente

CALCULO PREMM₅ $\geq 2.5\%$ $\geq 5\%$ Valor obtenido ___%

INTERPRETACION DEL PARTICIPANTE BASADO EN LA INMUNOHISTOQUIMICA

NO SOSPECHOSO DE SINDROME DE LYNCH

SOSPECHOSO DE SINDROME DE LYNCH

NO SE PUEDE CATALOGAR

Anexo 2. Formato de reporte de la inmunohistoquímica con anticuerpos para las proteína MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 según el Colegio Americano de Patólogos.

CAP Approved	Colon and Rectum • Biomarkers 1.2.0.1
Biomarker Reporting Template	
Template web posting date: December 2014	
<p>Completion of the template is the responsibility of the laboratory performing the biomarker testing and/or providing the interpretation. When both testing and interpretation are performed elsewhere (eg, a reference laboratory), synoptic reporting of the results by the laboratory submitting the tissue for testing is also encouraged to ensure that all information is included in the patient's medical record and thus readily available to the treating clinical team.</p>	
COLON AND RECTUM	
Select a single response unless otherwise indicated.	
<i>Note: Use of this template is optional.</i>	
+ RESULTS	
+ Immunohistochemistry (IHC) Testing for Mismatch Repair (MMR) Proteins (select all that apply) (Note A)	
+ <input type="checkbox"/> MLH1	
+ <input type="checkbox"/> Intact nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Cannot be determined (explain): _____	
+ <input type="checkbox"/> MSH2	
+ <input type="checkbox"/> Intact nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Cannot be determined (explain): _____	
+ <input type="checkbox"/> MSH6	
+ <input type="checkbox"/> Intact nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Cannot be determined (explain): _____	
+ <input type="checkbox"/> PMS2	
+ <input type="checkbox"/> Intact nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression	
+ <input type="checkbox"/> Cannot be determined (explain): _____	
+ <input type="checkbox"/> Background nonneoplastic tissue/internal control with intact nuclear expression	
+ IHC Interpretation	
+ <input type="checkbox"/> No loss of nuclear expression of MMR proteins: low probability of microsatellite instability-high (MSI-H)#	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression of MLH1 and PMS2: testing for methylation of the <i>MLH1</i> promoter and/or mutation of <i>BRAF</i> is indicated (the presence of a <i>BRAF</i> V600E mutation and/or <i>MLH1</i> methylation suggests that the tumor is sporadic and germline evaluation is probably not indicated; absence of both <i>MLH1</i> methylation and of <i>BRAF</i> V600E mutation suggests the possibility of Lynch syndrome, and sequencing and/or large deletion/duplication testing of germline <i>MLH1</i> may be indicated)#	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression of MSH2 and MSH6: high probability of Lynch syndrome (sequencing and/or large deletion/duplication testing of germline <i>MSH2</i> may be indicated, and, if negative, sequencing and/or large deletion/duplication testing of germline <i>MSH6</i> may be indicated)#	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression of MSH6 only: high probability of Lynch syndrome (sequencing and/or large deletion/duplication testing of germline <i>MSH6</i> may be indicated)#	
+ <input type="checkbox"/> Loss of nuclear expression of PMS2 only: high probability of Lynch syndrome (sequencing and/or large deletion/duplication testing of germline <i>PMS2</i> may be indicated)#	

Anexo 3. Cotización de anticuerpos MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2.



Cotización

N°: 189-2019

Fecha: 17 de junio, 2019

Referencia: a su llamada.

Cliente: Dr. Geiner Jiménez Jiménez
Atención:

Ítem	Cantidad	Descripción	Código	Precio unitario (US\$)	Total (US\$)
1	1	FLEX Mab a H MLH1, clone ES05 (Link) Listo para usar. Marca: Agilent/Dako. N° test: 40 pruebas. Estatus regulatorio¹: IVD registrado.	IR079	\$414.32	\$414.32
2	1	FLEX Mab a Hu MSH2, clone FE11 (Link) Listo para usar. Marca: Agilent/Dako. N° test: 40 pruebas. Estatus regulatorio¹: IVD registrado.	IR085	\$414.32	\$414.32
3	1	FLEX Rb a Hu MSH6, cl EP49 (Link) Listo para usar. Marca: Agilent/Dako. N° test: 40 pruebas. Estatus regulatorio¹: IVD registrado.	IR086	\$414.32	\$414.32
4	1	FLEX Mono Rb a Hu PMS2, clone EP51, (Link) Listo para usar. Marca: Agilent/Dako. N° test: 40 pruebas. Estatus regulatorio¹: IVD registrado.	IR087	\$414.32	\$414.32
				Subtotal:	\$1,657.29
				²IVA 13%:	\$1,872.73
				Total (US\$):	\$1,872.73

¹ En cuanto al registro de los productos con estatus regulatorio para diagnóstico *in vitro* (IVD por sus siglas en inglés *in vitro diagnostics*), así como aquello con estatus solo para investigación (RUIO por sus siglas en inglés *research use only*), aplica el decreto ejecutivo No 34482-S "Reglamento para registro, clasificación, importación, y control de equipo y material biomédico".

² El impuesto al valor agregado (IVA), se cobrará si el producto ingresa al país después del 1 de julio del presente año.

Precio total en letras: Mil ochocientos setenta y dos dólares con 73/100.

Vigencia de la oferta: 30 días hábiles.

Plazo de entrega: 30 días hábiles máximo después de recibida la orden de compra y confirmación del pago.

Lugar de entrega: Hospital Calderón Guardia.

Garantía: Los productos están garantizados hasta la fecha de su caducidad.

Condiciones de pago: Una vez se confirma que el pedido está listo para despacharse al país, el pago se puede realizar por medio de transferencia electrónica con la siguiente información:

info@makolcr.com • Tel: +(506) 2293 9694 • Fax: +(506) 2293 0562 • www.makolcr.com

1



MAKOL OCR S.A.
Cédula jurídica: 3-101-123168

BANCO	MONEDA	IBAN	CUENTA CORRIENTE	CUENTA CLIENTE
BANCO DAVIVIENDA	COLONES	CR19010409142310071010	91423100710	104 091 423 100 710 10
BANCO DAVIVIENDA	DOLARES	CR96010409142310072825	91423100728	104 091 423 100 728 25
BANCO CITIBANK	COLONES	CR250117 113 002 146 224 64	117 113 002 146 224 64	117 113 002 146 224 64
BANCO CITIBANK	DOLARES	CR470117 105 002 146 226 90	117 105 002 146 226 90	117 105 002 146 226 90

Esta cotización ha sido confeccionada por el Área de Asesoría de Laboratorio, para cualquier consulta contáctenos a los números indicados abajo o a la dirección de correo electrónico: mmontero@makolcr.com, nvalverde@makolcr.com

Atentamente,

María del Milagro MR

MSc. María del Milagro Montero Rojas
Asesora de laboratorio