


# Reparación fallida de la incompatibilidad de ADN en adenocarcinoma colorrectal: una herramienta para sospechar síndrome de Lynch

## (DNA Mismatch Repair deficiency in colorectal adenocarcinoma: an evaluation test for suspecting Lynch Syndrome)


Geiner Jiménez-Jiménez<sup>1</sup>, Johanna Sauma-Rodríguez<sup>2</sup>, Jad Abbas-Chaktoura<sup>3</sup>, Carlos Santamaría Quesada<sup>4</sup>

### Afiliación Institucional:


<sup>1</sup>Caja Costarricense del Seguro Social, Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, Departamento de Hemato-Oncología, Servicio de Oncología Médica. San José, Costa Rica.

 0000-0002-7030-6756.


<sup>2</sup>Caja Costarricense del Seguro Social, Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, Servicio de Patología. San José, Costa Rica.

 0000-0003-3802-2953

<sup>3</sup>Caja Costarricense del Seguro Social, Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, Servicio de Patología, San José, Costa Rica.

 0000-0003-0559-7574

<sup>4</sup>Caja Costarricense del Seguro Social, Hospital Nacional de Niños, Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Laboratorio Clínico, San José, Costa Rica.

 0000-0002-7009-7659

### Abreviaturas:

ADN; ácido desoxirribonucleico  
CCR; cáncer colorrectal  
dMMR, deficiencia en la reparación MMR  
IHQ; inmunohistoquímica  
IMS; inestabilidad de microsátelites  
MMR; DNA; mismatch repair, por sus siglas en inglés  
SL; síndrome de Lynch

**Fuentes de apoyo:** Ninguna.

**Conflictos de interés:** Ninguno. que declarar por parte de los autores.

**Financiamiento:** Ninguno.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a Viviana Arce Estrada y Adriana Carvajal Jiménez del Laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia por su apoyo en el análisis del gen *BRAF*.

✉ [geiner.jimenezjimenez@ucr.ac.cr](mailto:geiner.jimenezjimenez@ucr.ac.cr)



Esta obra está bajo una licencia internacional: Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0.

## Resumen

**Objetivo:** Perfilar las características clínicas y patológicas, así como determinar la prevalencia de la reparación fallida de la incompatibilidad de ácido desoxirribonucleico mediante inmunohistoquímica, de las personas diagnosticadas con adenocarcinoma de colon en una edad de  $\leq 70$  años y valorar la detección de casos sospechosos de síndrome de Lynch utilizando la inmunohistoquímica al comparar todos los casos con aquellos que solamente cumplen criterios clínicos y patológicos de sospecha.

**Métodos:** Se realizó un estudio observacional y transversal que incluyó a 249 pacientes, de quienes se analizó cuáles eran las características demográficas, los antecedentes personales y familiares de cáncer, el cumplimiento de los criterios de Amsterdam, Bethesda y PREMM<sub>3</sub>, así como las características patológicas del adenocarcinoma colorrectal. Se determinó la prevalencia de la alteración de la inmunohistoquímica de las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 que fuera compatible con un caso sospechoso de síndrome de Lynch y se estimó la probabilidad y concordancia de encontrar esta alteración según las variables clínico-patológicas.

**Resultados:** El uso de inmunohistoquímica demostró una prevalencia de 22 casos (8.8%) con una alteración de sospecha del síndrome de Lynch. De esos casos, ninguno cumplía con la totalidad de los criterios clínico-patológicos de sospecha del síndrome. Alternativamente, la mayor parte de los participantes que cumplían los criterios de sospecha no tenían una alteración en las pruebas. Se demostró que existe una prevalencia mayor de la alteración en la inmunohistoquímica cuando el cáncer tiene localización derecha (proximal al ángulo esplénico) y cuando se cumplen los criterios Bethesda 3 o 4. Se documentó que existe una nula a baja concordancia entre los criterios clínicos y la inmunohistoquímica.

**Conclusión:** Estos hallazgos sugieren que la prueba de inmunohistoquímica en pacientes con adenocarcinoma colorrectal podría identificar más personas candidatas para estudios complementarios que permitan confirmar un síndrome de Lynch, independiente de los criterios clínicos y patológicos que habitualmente se utilizan para seleccionar a quién se le realiza esa prueba de inmunohistoquímica.

**Descriptores:** neoplasia colorrectal, síndromes neoplásicos hereditarios, reparación de la incompatibilidad de ADN, inestabilidad de microsátélites, síndrome de Lynch

---

### Abstract

---

**Aim:** To profile the clinical and pathological characteristics and determine the prevalence of defective deoxyribonucleic acid mismatch repair using immunohistochemistry in individuals diagnosed with colon adenocarcinoma at the age of  $\leq 70$  years. Additionally, to compare the detection of suspected Lynch syndrome cases using immunohistochemistry in all patients versus only those meeting clinical and pathological suspicion criteria.

**Methods:** An observational, cross-sectional study involving 249 patients was conducted. The study analyzed demographic characteristics, personal and family history of cancer, compliance with Amsterdam, Bethesda, and PREMM<sub>5</sub> criteria, as well as pathological characteristics of colorectal adenocarcinoma. The prevalence of immunohistochemical alterations in MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2 proteins indicative of suspected Lynch syndrome was determined, and the probability and concordance of finding these alterations based on clinical and pathological variables were estimated.

**Results:** In this sample, immunohistochemistry identified 22 cases (8.8%) with alterations suggestive of Lynch syndrome. None of these cases fully met the clinical and pathological suspicion criteria for the syndrome. Most participants meeting the suspicion criteria did not show immunohistochemical alterations. A higher prevalence of immunohistochemical alterations was observed in right-sided cancer (proximal to the splenic flexure) and in cases meeting Bethesda criteria 3 or 4. The agreement between clinical criteria and immunohistochemistry was found to be minimal to low.

**Conclusion:** These findings suggest that immunohistochemistry screening in patients with colorectal adenocarcinoma could identify more candidates for further studies to confirm Lynch syndrome, independent of the clinical and pathological criteria typically used to select patients for immunohistochemistry testing.

**Keywords:** Colorectal neoplasm, Neoplastic Syndromes, Hereditary, DNA mismatch repair deficiency, microsatellite instability, Lynch Syndrome

**Fecha de recibido:** 05, mayo, 2023

**Fecha de aceptado:** 19, junio, 2024

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más frecuentes en el mundo y en Costa Rica representó la tercera causa en incidencia y la cuarta en mortalidad en el año 2020.<sup>1</sup> Aproximadamente el 5% de los casos están relacionados con una etiología hereditaria, en la cual el síndrome de Lynch (SL) fue la principal causa en ese grupo.<sup>2</sup>

El origen de esta condición está relacionado con variantes patogénicas germinales en la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) de los genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM*, con un patrón de herencia autosómico dominante, que tiene como consecuencia la inactivación del mecanismo de reparación de la incompatibilidad de ADN (MMR) y el acúmulo de

mutaciones en las regiones de microsátélites del ADN, lo cual a su vez aumenta la probabilidad de una transformación maligna.<sup>3,4</sup> Los individuos con SL tienen un mayor riesgo de desarrollar CCR así como neoplasias extracolónicas tales como endometrio, estómago, ovario, intestino delgado, tracto hepatobiliar, pelvis renal, uréter, piel, cerebro entre otros; el riesgo de aparición es variable según la vía genética afectada.<sup>5</sup> Por eso, la identificación de personas sospechosas y eventualmente confirmadas con SL tiene un impacto clínico, ya que se pueden instaurar medidas de detección temprana y de reducción de riesgo que disminuyen la incidencia, la morbilidad y mortalidad por cáncer.<sup>6,7</sup>

Estudios previos han demostrado que detectar un tumor con deficiencia en la reparación MMR (dMMR) o

alta inestabilidad de microsatélites (IMS) es una estrategia válida para tamizar casos por SL,<sup>8-10</sup> máxime que los criterios clínicos clásicos como Amsterdam y Bethesda han demostrado una baja sensibilidad para detectar y confirmar el síndrome.<sup>11,12</sup> También se han validado herramientas predictivas computarizadas (PREMM<sub>1,2,6</sub>,<sup>6</sup> PREMM<sub>3</sub>, MMRpro, MMRpredict) como alternativas que se basan en el historial personal y familiar de neoplasias.<sup>13-15</sup> Algunas características patológicas del tumor podrían también ayudar a identificar neoplasias con deficiencia en MMR.<sup>16</sup>

En los hospitales de la seguridad social de Costa Rica no existe una detección rutinaria de casos sospechosos de SL, tampoco se ha documentado la realización de investigaciones previas relacionadas con esta condición, por lo que se desconoce cuál de las alternativas disponibles podría tener la mayor capacidad para detectar casos sospechosos, un paso inicial necesario para referir a estas personas a una consulta de consejo genético donde se pueda confirmar una etiología hereditaria.

El objetivo de este estudio es perfilar las características clínicas y patológicas de las personas diagnosticadas con CCR en una edad de  $\leq 70$  años, determinar la prevalencia de dMMR analizada mediante inmunohistoquímica (IHQ) y analizar si se detectarían más casos catalogados como candidatos a un estudio genético germinal confirmatorio de si se recomienda realizar esta prueba en todos los casos, no solamente cuando existen criterios clínico-patológicos de sospecha del síndrome.

---

## Métodos

---

Este estudio se diseñó para una recolección retrospectiva de información a partir de los registros médicos disponibles de las personas que fueron diagnosticadas con CCR a una edad de  $\leq 70$  años, al recopilar los antecedentes y características de los cánceres diagnosticados en la persona y la descripción de las neoplasias de los familiares registrados en el expediente del participante.

Este estudio fue aprobado por el comité ético científico central de la Caja Costarricense de Seguro Social y su desarrollo se apegó a los requerimientos del comité y la ley 9234, Ley Reguladora de Investigación Biomédica y su reglamento.

### Pacientes

Los participantes se seleccionaron a partir de los registros físicos del Servicio de Patología del Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, Caja Costarricense de Seguro Social, en el periodo entre el 01 de enero de 2015

y el 31 de diciembre 2017. Se incluyeron los casos con el diagnóstico de adenocarcinoma de colon o recto, de edades que oscilan entre los 18 y los 70 años al momento del diagnóstico y que tuvieran el reporte de la IHQ MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, o que tuvieran tejido embebido en parafina y fijado en formalina disponible para dicho análisis. Se excluyeron los casos en que no se obtuvo acceso al expediente clínico o que no contaran con una IHQ disponible e interpretable.

Un caso fue considerado como sospechoso de SL si el tumor presentaba: a) ausencia aislada de tinción de MLH1 con *BRAF* salvaje (sin mutación), b) ausencia de tinción de MLH1 y PMS2 con *BRAF* salvaje, c) ausencia aislada de tinción de MSH2, d) ausencia aislada de tinción de MSH6, e) ausencia de tinción de MSH2 y MSH6, f) ausencia aislada de tinción de PMS2. Para este estudio no fue posible analizar de forma complementaria la metilación de *MLH1* ni tampoco estudios moleculares de IMS.

### Información clínica

Se obtuvo del expediente clínico la información demográfica, así como el historial personal y familiar de neoplasias. Las características del tumor de cada participante se obtuvieron del reporte de patología. Se recolectó la información relacionada con el género, edad de diagnóstico, localización del tumor, características histológicas, la historia de CCR o neoplasias extracolónicas, así como todas las neoplasias documentadas en miembros de la familia con la respectiva edad al diagnóstico. El patrón familiar de presentación de neoplasias se clasificó en: hereditario (cuando cumplía los criterios de Amsterdam), familiar (cuando había reporte de neoplasias en la familia, pero no cumplía los criterios de herencia), esporádico (cuando no había agregación de neoplasias en los familiares del participante) y no clasificable (si la información disponible no permitía agruparlo en alguna de las previas).

Se definió que el caso cumplía los criterios Amsterdam I si existían al menos 3 familiares con un CCR y todos los siguientes criterios: a) una persona debe ser familiar de primer grado de las otras dos, b) al menos 2 generaciones sucesivas deben estar afectadas, c) al menos un CCR debe ser diagnosticado antes de los 50 años, d) se descartó la poliposis adenomatosa familiar, e) los tumores fueron confirmados por patología.

Se definió que el caso cumplía los criterios Amsterdam II si existían al menos 3 familiares con algún cáncer asociado al SL tales como CCR, endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal, estómago, ovario, hepatobiliar, cerebro, piel y cumple los demás criterios: a) uno debe ser familiar de primer grado de los otros dos, b) al menos 2 generaciones sucesivas deben estar afectadas, c) al menos un caso debe ser diagnosticado antes de los 50 años, d) se descartó la

poliposis adenomatosa familiar, e) los tumores fueron confirmados por patología. Para los análisis se utilizaron los casos que cumplían Amsterdam II, ya que abarcaban además todos los casos que aprobaban Amsterdam I.

Se definió que el caso avalaba los criterios de Bethesda si presentaba al menos uno de los siguientes: 1) un CCR diagnosticado a una edad menor de 50 años, 2) presencia de CCR sincrónico o metacrónico u otro tumor asociado con el SL, 3) un CCR con histología sugestiva de IMS tal como la 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.

Se calculó el puntaje de PREMM<sub>5</sub> en cada participante al utilizar el calculador en línea disponible del Dana Farber Cancer Institute (<http://premm.dfci.harvard.edu>), modelo de predicción clínica que estima la probabilidad acumulativa de que un individuo sea portador de una variante germinal de los genes del SL basado en los casos de cáncer del paciente y su familia; cuando la edad del diagnóstico del cáncer de los familiares no estaba registrada se realizó estimaciones basada en las diferentes notas del expediente para completar el formulario.

### Inmunohistoquímica y diagnóstico molecular

En láminas teñidas con hematoxilina-eosina de biopsias endoscópicas o de pieza quirúrgica se identificaron las áreas representativas del tumor. La tinción de IHQ se llevó a cabo en tejido embebido en parafina y fijado en formalina. Se realizaron cortes de tejido con un grosor de 4 micrómetros, los cuales se secaron en un horno a 63°C por un lapso de 45 a 60 minutos. Se hizo una recuperación del tejido utilizando EnVision FLEX Retrieval Solution High pH TARGET con el equipo de recuperación de epitopes de Dako. Posteriormente se aplicó la técnica de IHQ utilizando la plataforma Dako Autostainer Link48 y los anticuerpos contra MLH1 (clona ES05); MSH2 (clona M363), MSH6 (clona EP51) y PMS2 (clona EP49).

La ausencia completa de tinción nuclear en las células tumorales en presencia de un control positivo (tinción nuclear de células no neoplásicas) se consideró como pérdida de la expresión de la proteína correspondiente en el tumor.

En los tumores con pérdida de la expresión de MLH1 o la pérdida combinada de MLH1 con PMS2 se analizó de forma complementaria la mutación *BRAF* V600E. En cada caso, el profesional en patología seleccionó y marcó el bloque embebido en parafina que contuviera la mayor cantidad de células tumorales viables (identificadas en la lámina correspondiente teñida con hematoxilina-eosina) para obtener cortes de 4 micrómetros. Se extrajo el ADN utilizando el kit para tejido embebido en parafina QIAamp DNA; la cuantificación y pureza del producto de extracción se midió con espectrofotometría ultravioleta (Nanodrop 2000c). El ADN obtenido se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa y fue analizada la mutación en el codón 600 del gen *BRAF* mediante la técnica de pirosecuenciación (PyroMark Quiagen con theascreen BRAF pyro kit) acorde a las especificaciones del fabricante. Finalmente, los resultados se analizaron utilizando el software PyroMark Q24.

### Análisis estadístico

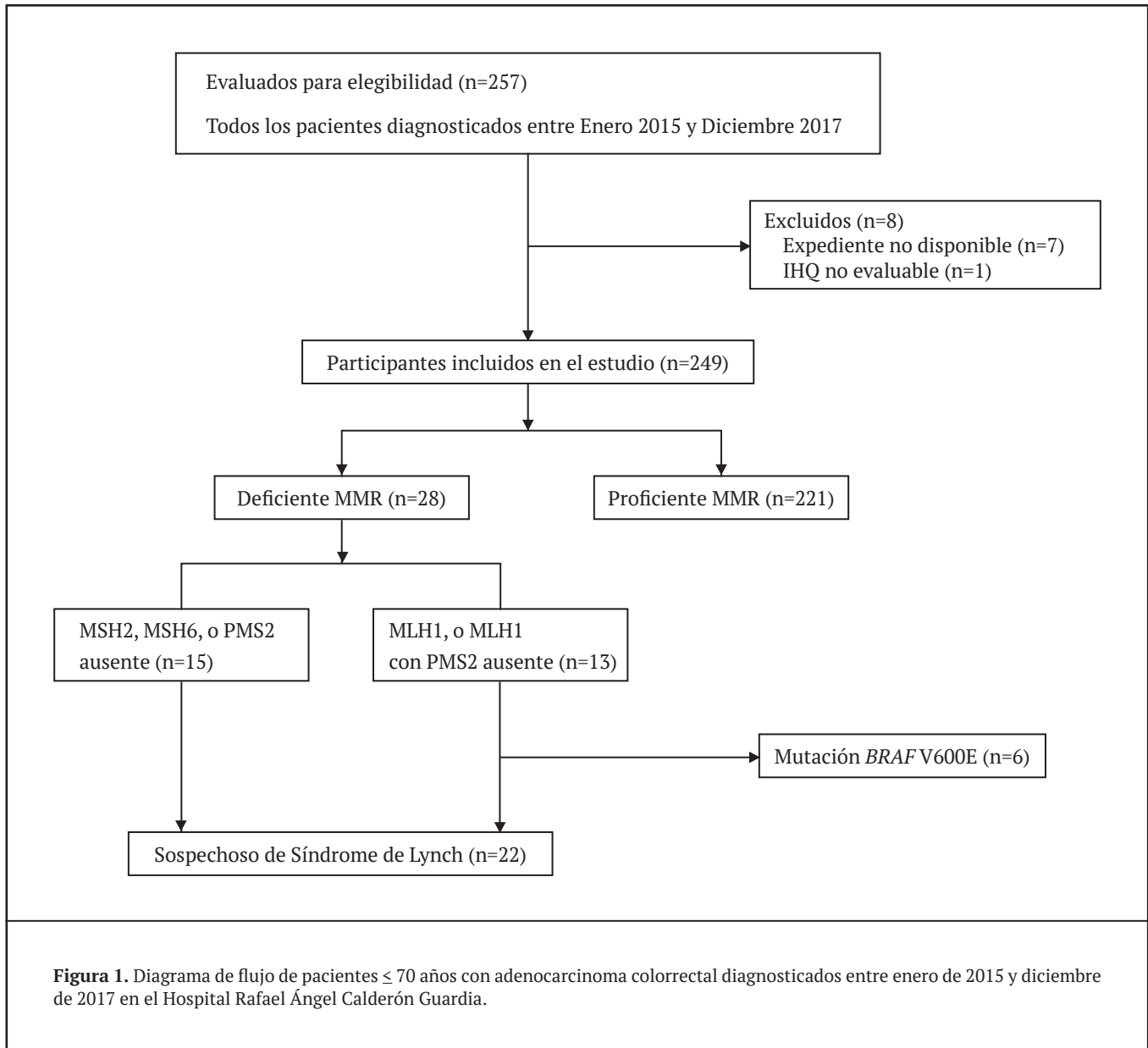
Las variables cualitativas y ordinales se analizaron como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se expresaron como mediana  $\pm$  la desviación estándar. La prevalencia se calculó dividiendo el número de personas con dMMR analizada con IHQ que cumplía los criterios de caso sospechoso de SL entre el total de participantes. Las variables categóricas se compararon utilizando la prueba exacta de Fisher. Se empleó el coeficiente Kappa de Cohen para el análisis de concordancia entre los criterios clínico-patológicos y el estado del tumor dMMR. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como significancia estadística cuando se comparó la probabilidad de dMMR en los tumores según las siguientes variables clínicas y patológicas: género, edad al diagnóstico del CCR, localización anatómica del tumor, histología, antecedentes de otras neoplasias y los criterios de Amsterdam, Bethesda y PREMM<sub>5</sub>. Para la estadística se acudió al programa OpenEpi.

---

## Resultados

---

La muestra incluyó un total de 249 pacientes, con una mediana de edad de  $57.8 \pm 9.4$  años; 126 (50.6%) fueron mujeres con una mediana de edad de 57.2 años y 123 hombres con una mediana de edad de 58.4 años. Cuarenta y tres (17.2%) de los participantes fueron diagnosticados a una edad temprana, es decir menor de 50 años. La mayoría de los participantes tenían su residencia en la Gran Área Metropolitana, donde el 82% correspondían a cantones conocidos por alta incidencia de CCR (San José 21.6%, Goicoechea 20.0%, Montes de Oca 11.6%, Coronado 11.2%, Moravia 9.2% y Curridabat 8.4%). En la Figura 1 se muestra a los pacientes incluidos en el periodo del estudio.



Veintidós (8.8%) de los participantes tenían un hallazgo en la IHQ que los catalogó como caso sospechoso de SL y que ameritarían asesoría genética y, eventualmente un diagnóstico germinal para confirmar ese síndrome. En total, se demostró una alteración en la IHQ compatible con dMMR en 28 individuos (11.2%), distribuidos de la siguiente manera: 13 (46.4%) con pérdida conjunta de MLH1 y PMS2, 8 (28.6%) con pérdida aislada de PMS2, 5 (17.9%) con pérdida conjunta de MSH2 y MSH6, 2 (7.1%) con pérdida aislada de MSH6. La mutación *BRAF V600E* se identificó en 6 de los 13 casos de tumores con ausencia de MLH1.

Las variables analizadas se resumen en el Cuadro 1. Gran parte de las neoplasias fueron de

localización izquierda, solamente el 17,7% presentaba un patrón histológico característico de tumores con dMMR. Entre los 29 participantes que tenían otra neoplasia diagnosticada, se registró un total de 36 cánceres sincrónicos o metacrónicos, donde el 44.4% corresponde a neoplasias clásicamente asociadas al SL (8 CCR, 3 gástricos, 2 renales, 1 endometrio, 1 intestino delgado, 1 ovario).

En los casos donde existía un antecedente familiar de cáncer, se documentó un total de 357 neoplasias, en 297 (83.2%) de esos antecedentes no se registró en el expediente la edad al momento del diagnóstico. En ningún caso se encontró una genealogía elaborada.

<b>Cuadro 1. Características clínicas y patológicas de 249 casos con adenocarcinoma colorrectal diagnosticados a una edad &lt; 70 años entre enero 2015 y diciembre 2017 en el Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia</b>	
<b>Variable</b>	<b>n (%)</b>
<b>Localización del cáncer</b>	
Colon derecho	47 (18.9)
Colon transverso	12 (4.8)
Colon izquierdo y recto	190 (76.3)
<b>Características histológicas</b>	
Ninguno	187 (75.1)
Mucinoso	39 (15.7)
Anillo de sello	2 (0.8)
Mucinoso y anillo de sello	2 (0.8)
Infiltración linfocitaria	1 (0.4)
Patrón medular	0 (0)
No reportado	18 (7.2)
<b>Antecedente personal de otro cáncer colorrectal u otra neoplasia</b>	
No	220 (88.4)
Sí	29 (11.6)
<b>Antecedente familiar de cáncer</b>	
No	61 (24.5)
Sí	174 (69.8)
Desconocido	14 (5.6)
<b>Patrón familiar según el antecedente de neoplasias</b>	
Esporádico	126 (50.6)
Familiar	100 (40.2)
Hereditario	9 (3.6)
No clasificable	14 (5.6)
<b>Amsterdam I (cumplimiento de todos los criterios)</b>	
No	230 (92.4)
Sí	4 (1.6)
No clasificable	15 (6.0)
<b>Amsterdam II (cumplimiento de todos los criterios)</b>	
No	225 (90.4)
Sí	9 (3.6)
No clasificable	15 (6.0)
<b>Bethesda Revisada (cualquier número de criterios)</b>	
No	96 (38.5)
Sí	141 (56.7)
No clasificable	12 (4.8)
<b>Puntaje PREMM<sub>5</sub></b>	
< 2.5%	113 (45.4)
≥ 2.5%	136 (54.6)

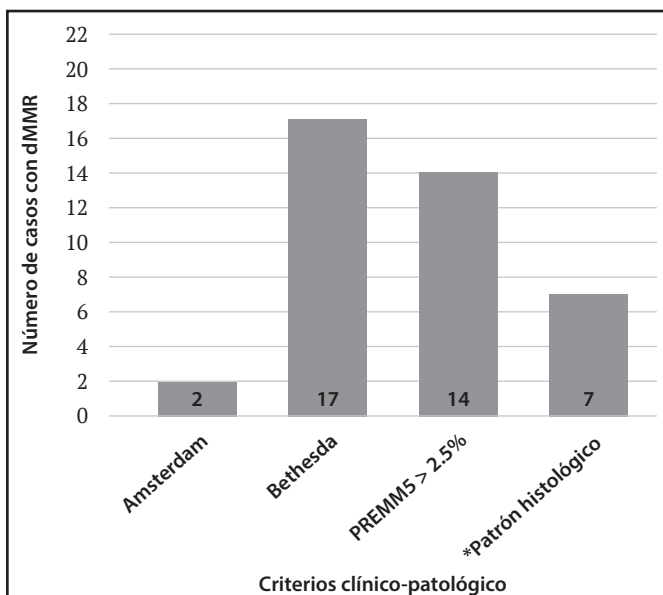
Se encontró que los tumores de localización derecha (proximal al ángulo esplénico del colon), así como los criterios de Bethesda 3 y 4 fueron los únicos con significancia estadística en la probabilidad de estar asociados con un tumor con dMMR, con odds ratio de 5.46 (95% IC 2.24-13.70), 4.15 (95% IC 1.29-12.28) y 8.43 (95% IC 1.86-36.61), respectivamente. No se encontró una diferencia significativa en el análisis por género, edad al diagnóstico, histología del tumor, antecedentes personales de otras neoplasias incluso cuando pertenecían al es-

pectro del SL, criterios de Amsterdam, criterios Bethesda 1, 2 y 5, tampoco según el puntaje de PREMM<sub>5</sub>. En el Cuadro 2 se presentan los análisis para las variables del estudio que demostraron una probabilidad significativa.

La concordancia entre los criterios clínico-patológicos y el estado del tumor dMMR resultó insignificante (coeficiente Kappa de Cohen <0.2): Amsterdam (0.095), Bethesda (0.060), PREMM<sub>5</sub> (0.010), Histología (0.085).

<b>Cuadro 2. Variables clínico-patológicas con una probabilidad estadísticamente significativa de presentar reparación fallida de la incompatibilidad de ADN en las personas diagnosticadas con adenocarcinoma colorrectal a una edad <math>\leq 70</math> años entre enero 2015 y diciembre 2017 en el Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia</b>			
	<b>MMR normal n (%)</b>	<b>MMR deficiente n (%)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Localización del cáncer colorrectal (n=249)</b>			
Derecho	43 (72.9)	16 (27.1)	<b>0.0001</b>
Izquierdo	178 (93.7)	12 (6.3)	
<b>Bethesda Criterio 3 (n=237)</b>			
Sí	18 (72.0)	7 (28.0)	<b>0.016</b>
No	194 (91.5)	18 (8.5)	
<b>Bethesda Criterio 4 (n=237)</b>			
Sí	6 (54.5)	5 (45.5)	<b>0.005</b>
No	206 (91.2)	20 (8.8)	

En los 22 casos catalogados como sospechosos de SL por dMMR, ninguno de los criterios clínicos y patológicos se cumplían al 100% de los casos, como se muestra en la Figura 2. En las personas que sí verificaban algún criterio se demostró que la mayoría no presentaba la alteración de sospecha en la IHQ: 7 de 9 que cumplían el criterio de Amsterdam no adquirían dMMR, así como 122 de 141 para cualquier criterio de Bethesda, 120 de 136 para PREMM<sub>5</sub>, 35 de 44 para el patrón de histología.



**Figura 2.** Número de casos con adenocarcinoma colorrectal sospechosos de síndrome de Lynch por reparación fallida de la incompatibilidad de ADN (dMMR) que cumplen además con criterios clínico-patológicos de sospecha del síndrome.

\*Patrón histológico: mucinoso, anillo de sello, infiltración linfocitaria.

## Discusión

Los resultados de este estudio sugieren que analizar las proteínas MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 en el tumor de las personas diagnosticadas con adenocarcinoma colorrectal a una edad de  $\leq 70$  años podría catalogar más casos sospechosos de SL que ameriten ser referidos para un diagnóstico genético con el fin de confirmar el síndrome, independiente de la existencia o no de criterios clínicos tales como los de Amsterdam, Bethesda, los patrones en la histología o calculadores como PREMM<sub>5</sub>. Si se utilizaran esos criterios como requisito para solicitar la prueba de IHQ en el CCR, se tendría una potencial pérdida de casos de sospecha por IHQ en esta frecuencia: 90% para Amsterdam, 23% para Bethesda, 36% para PREMM<sub>5</sub>, 68% para el patrón histológico.

La prevalencia encontrada de tumores con dMMR en este estudio se encuentra dentro del rango de 8 al 20% según los reportes previos en diferentes regiones del mundo.<sup>17-23</sup> La vía relacionada con MLH1 (ausencia de MLH1 que induce pérdida de PMS2) está frecuentemente relacionada con el mecanismo de hipermetilación del promotor del gen *MLH1* en la génesis del CCR que se debe en gran parte a un evento somático, el cual se puede inferir en el 46% de los casos analizados a los que se les demostró de forma concomitante una mutación V600E en el gen *BRAF*. Esa combinación de pérdida de proteínas en la IHQ ha sido reportada por otros centros como el hallazgo más frecuente cuando se ha implementado el uso de IHQ como estrategia para seleccionar casos de sospecha.<sup>24</sup> Un hallazgo poco frecuente fue el alto porcentaje de casos con la vía en PMS2 como alteración principal. En un estudio aplicado en China se encontró este fenómeno en el cual fue la principal vía alterada y representa

el 32.8% de los casos de tumores con dMMR.<sup>25</sup> La pérdida aislada de PMS2 en presencia de todas las demás proteínas es un fenotipo infrecuente de tumores con dMMR que podría también deberse a otros factores: el tamaño pequeño de la muestra, por ejemplo cuatro de los casos fueron biopsias endoscópicas, de las cuales se realizó el análisis a una muestra de 2-3 mm que podría alterar la validez, así como el manejo en la fase preanalítica de la biopsia donde una fijación subóptima podría afectar la expresión. Además, hay datos en casos de cáncer de endometrio y SL que sugieren que la metilación de *MLH1* también podría ser una causa de la pérdida aislada de PMS2.<sup>26</sup> Para este estudio no se contó con el diagnóstico de metilación para corroborar esta posible explicación.

Las tres variables que se asociaron con una mayor probabilidad de dMMR podrían ser útiles para diseñar un flujo de diagnóstico para detectar casos de sospecha de SL, en caso de que no se cuente con el recurso para implementar la inmunohistoquímica en todos los casos diagnosticados con cáncer colorrectal. La localización anatómica en colon derecho es compatible con la clasificación de consenso molecular del cáncer de colon, en el cual el subtipo 1 se caracteriza por presentar una mayor frecuencia de IMS y mayor localización derecha;<sup>27</sup> además de las implicaciones en la posibilidad de detectar casos de SL, esta condición puede tener valor pronóstico para quien padece la enfermedad.<sup>28,29</sup> Si bien los criterios de la Guía Bethesda Revisada fueron validados para mejorar la identificación de personas con riesgo de SL e indicación para la búsqueda de IMS en el tumor,<sup>30,31</sup> solo se demostró en esta examinación que el criterio 3 (CCR con un fenotipo de IMS diagnosticado antes de los 60 años) y 4 (diagnóstico de CCR en la persona con un familiar de primer grado con un tumor asociado al SL a una edad < 50 años) tuvieron una relación significativa. En diferentes consideraciones de este hallazgo no se logró encontrar una posible explicación de la no relación de los otros criterios más allá de considerar que la muestra de casos con dMMR es pequeña. Hay que tomar en cuenta que incluso en investigaciones previas donde se toman en cuenta todos los criterios Bethesda, no se ha logrado demostrar una detección de la totalidad de casos de SL cuando se compara con herramientas como la IMS, por lo que habría que tener cautela si se continuara utilizando solamente los criterios Bethesda para la detección del SL.<sup>32</sup> En el presente estudio se identificó que un 3.6% de los participantes cumplían los criterios de Amsterdam, es decir que se mantenían en el rango esperable del patrón hereditario de cáncer colorrectal en la población.<sup>33</sup> Aunque en el análisis este no se asoció a la detección de tumores dMMR, debe tomarse en cuenta que sigue siendo uno de los criterios que determinan el riesgo no solo de SL, sino también de riesgo de CCR en los integrantes de una familia.<sup>34</sup> Para cumplir estos criterios se requiere una detallada recolección de los antecedentes de las neoplasias, lo cual no refleja la realidad del

registro en las historias clínicas, y pone en evidencia el alto porcentaje (83%) en los que no se definió la edad del diagnóstico. Este faltante de datos podría ser también la explicación del alto porcentaje de un patrón familiar que se muestra en el Cuadro 1, ya que esos detalles permiten una mejor clasificación de la presentación de neoplasias en una familia. La genealogía sigue siendo una de las herramientas de mayor valor a la hora de buscar un patrón hereditario de una enfermedad, sin embargo, no se utiliza de rutina en las historias médicas, lo cual podría deberse a que requiere mayor tiempo en la anamnesis, incluso a la falta de entrenamiento en la simbología y proceso de elaboración.

Se considera que este estudio incluye una muestra representativa ya que se logró incluir el 97% de la totalidad de personas diagnosticadas con CCR en el periodo de estudio y en su mayoría provenían de cantones previamente identificados como sitios frecuentes de residencia de mujeres y hombres con CCR en Costa Rica (Boletín estadístico de incidencia de tumores malignos más frecuentes en Costa Rica del año 2013: Ministerio de Salud; 2015. [revisado el 10-11-2022]. Disponible en : <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos-left/documentos-ministerio-de-salud/material-informativo/material-publicado/estadisticas-y-bases-de-datos/estadisticas-y-bases-de-datos-vigilancia-de-la-salud/estadisticas-vigilancia-de-la-salud/estadistica-de-cancer-registro-nacional-tumores/boletines-de-incidencia-cancer/1725-boletin-de-incidencia-de-cancer-2013/file>). Además, las características patológicas de los casos incluidos son similares a reportes previos en otros países, tanto para la ubicación del CCR que es más frecuente en el lado izquierdo, entre el 70-80% de los casos,<sup>20,24,35</sup> como por algunas características histológicas tales como el componente mucinoso alrededor del 15%.<sup>36</sup>

Este proyecto presenta varias limitaciones, entre ellas la potencial extrapolación en cuanto a ser un análisis enfocado en un solo centro, lo cual podría no representar la realidad y calidad de los protocolos del diagnóstico del tumor de otros hospitales. Además, existía un registro subóptimo de los antecedentes familiares en el expediente de los participantes que podría modificar los hallazgos y criterios encontrados en esta muestra, lo cual es relevante corregir ya que en otras poblaciones hispanicas se ha demostrado un aumento de la captación de casos de SL asociado a la mejoría en la calidad de la recolección de la historia familiar.<sup>37</sup> Para la fecha de desarrollo de esta investigación no se contaba aún en la Institución con el recurso de una consulta de consejo genético (disponible a partir del año 2019), por lo que no fue posible confirmar el SL mediante el análisis de variantes patogénicas germinales en los casos donde se podía sospechar de un SL, por tanto, la inmunohistoquímica es una prueba que por sí sola no permite confirmar ese

síndrome. Otra limitación a señalar sería que no se contó con un estudio molecular complementario para el análisis de IMS ni de metilación del promotor del gen *MLH1*.

Los resultados de esta investigación podrían ser de utilidad para la toma de decisiones en la organización de la detección y referencia para un diagnóstico confirmatorio de los síndromes hereditarios de CCR, cuya atención es inconsistente en los sistemas de salud de Latinoamérica.<sup>58</sup> Para nuestro conocimiento este es el primer análisis a nivel nacional que investiga el potencial rol de la IHQ con fines de detectar casos de sospecha de SL.

---

## Referencias

---

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71:209–249. DOI: [10.3322/caac.21660](https://doi.org/10.3322/caac.21660)
- 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; 109:1159–1179. DOI: [10.1038/ajg.2014.186](https://doi.org/10.1038/ajg.2014.186)
- 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; 24:999–1011. DOI: [10.1007/s10147-019-01494-y](https://doi.org/10.1007/s10147-019-01494-y)
- Weissman SM, Burt R, Church J, Erdman S, Hampel H, Holter S, *et al.* Identification of individuals at risk for Lynch syndrome using targeted evaluations and genetic testing: National Society of Genetic Counselors and the Collaborative Group of the Americas on inherited colorectal cancer joint practice guideline. *J Genet Couns.* 2012; 21:484–493. DOI: [10.1007/s10897-011-9465-7](https://doi.org/10.1007/s10897-011-9465-7)
- Dominguez-Valentin M, Sampson JR, Seppälä TT, ten Broeke SW, Plazzer JP, Nakken S, *et al.* Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Genet Med.* 2020; 22:15–25. DOI: [10.1038/s41436-019-0596-9](https://doi.org/10.1038/s41436-019-0596-9)
- 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; 33:209–217. DOI: [10.1200/JCO.2014.58.1322](https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.1322)
- 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; 110:223–262. DOI: [10.1038/ajg.2014.435](https://doi.org/10.1038/ajg.2014.435)
- Baudhuin LM, Burgart LJ, Leontovich O, Thibodeau SN. Use of microsatellite instability and immunohistochemistry testing for the identification of individuals at risk for Lynch syndrome. *Fam Cancer.* 2005; 4:255–265. DOI: [10.1007/s10689-004-1447-6](https://doi.org/10.1007/s10689-004-1447-6)
- Hampel H, de la Chapelle A. How do we approach the goal of identifying everybody with Lynch syndrome? *Fam Cancer.* 2013; 12:313–317. DOI: [10.1007/s10689-013-9611-5](https://doi.org/10.1007/s10689-013-9611-5)
- Schofield L, Grieu F, Goldblatt J, Amanuel B, Iacopetta B. A state-wide population-based program for detection of Lynch syndrome based upon immunohistochemical and molecular testing of colorectal tumours. *Fam Cancer.* 2012; 11:1–6. DOI: [10.1007/s10689-011-9494-2](https://doi.org/10.1007/s10689-011-9494-2)
- Cohen SA, Pritchard CC, Jarvik GP. Lynch syndrome: from screening to diagnosis to treatment in the era of modern molecular oncology. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2019; 20:293–307. DOI: [10.1146/annurev-genom-083118-015406](https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083118-015406)
- Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, *et al.* Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA.* 2012; 308:1555–1565. DOI: [10.1001/jama.2012.13088](https://doi.org/10.1001/jama.2012.13088)
- Kastrinos F, Steyerberg EW, Balmaña J, Mercado R, Gallinger S, Haile R, *et al.* Comparison of the clinical prediction model PREMM<sub>1,2,6</sub> and molecular testing for the systematic identification of Lynch syndrome in colorectal cancer. *Gut.* 2013; 62:272–279. DOI: [10.1136/gutjnl-2011-301265](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301265)
- Kastrinos F, Uno H, Ukaegbu C, Alvero C, McFarland A, Yurgelun MB, *et al.* Development and validation of the PREMM<sub>3</sub> model for comprehensive risk assessment of Lynch syndrome. *J Clin Oncol.* 2017; 35:2165–2172. DOI: [10.1200/JCO.2016.69.6120](https://doi.org/10.1200/JCO.2016.69.6120)
- Mercado RC, Hampel H, Kastrinos F, Steyerberg E, Balmana J, Stoffel E, *et al.* Performance of PREMM<sub>1,2,6</sub>, MMRpredict, and MMRpro in detecting Lynch syndrome among endometrial cancer cases. *Genet Med.* 2012; 14:670–680. DOI: [10.1038/gim.2012.18](https://doi.org/10.1038/gim.2012.18)
- Aranda I, Payá A, Alenda C, Jover R. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Rev Esp Patol.* 2006; 39:201–208. DOI: [10.1016/S1699-8855\(06\)70042-3](https://doi.org/10.1016/S1699-8855(06)70042-3)
- Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010; 138:2073–2087.e3. DOI: [10.1053/j.gastro.2009.12.064](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.064)
- dos Santos W, Sobanski T, de Carvalho AC, Evangelista AF, Matsushita M, Berardinelli GN, *et al.* Mutation profiling of cancer drivers in Brazilian colorectal cancer. *Sci Rep.* 2019; 9:13687. DOI: [10.1038/s41598-019-49611-1](https://doi.org/10.1038/s41598-019-49611-1)
- Fleitas-Kanonnikoff T, Martínez-Ciarpaglini C, Ayala J, Gauna C, Denis R, Yoffe I, *et al.* Molecular profile in Paraguayan colorectal cancer patients, towards to a precision medicine strategy. *Cancer Med.* 2019; 8:3120–3130. DOI: [10.1002/cam4.2191](https://doi.org/10.1002/cam4.2191)
- Goshayeshi L, Ghaffarzadegan K, Khooei A, Esmaeilzadeh A, Rahmani Khorram M, Mosannen Mozaffari H, *et al.* Prevalence and clinicopathological characteristics of mismatch repair-deficient colorectal carcinoma in early onset cases as compared with late-onset cases: a retrospective cross-sectional study in Northeastern Iran. *BMJ Open.* 2018; 8:e023102. DOI: [10.1136/bmjopen-2018-023102](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023102)
- Poulogiannis G, Frayling IM, Arends MJ. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Histopathology.* 2010; 56:167–179. DOI: [10.1111/j.1365-2559.2009.03392.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2009.03392.x)
- Reverón D, López C, Gutiérrez S, Sayegh ZE, Antonia T, Dutil J, *et al.* Frequency of mismatch repair protein deficiency in a Puerto Rican population with colonic adenoma and adenocarcinoma. *Cancer Genomics - Proteomics.* 2018; 15:265–271. DOI: [10.21873/cgp.20084](https://doi.org/10.21873/cgp.20084)

23. 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; 46:1705–1711. DOI: [10.1016/j.humpath.2015.07.009](https://doi.org/10.1016/j.humpath.2015.07.009)
24. 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; 31:1336–1340. DOI: [10.1200/JCO.2012.45.1674](https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.1674)
25. Bai H, Wang R, Cheng W, Shen Y, Li H, Xia W, *et al.* Evaluation of concordance between deficient mismatch repair and microsatellite instability testing and their association with clinicopathological features in colorectal cancer. *Cancer Manag Res.* 2020; 12:2863–2873. DOI: [10.2147/CMAR.S248069](https://doi.org/10.2147/CMAR.S248069)
26. 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; 40:770–776. DOI: [10.1097/PAS.0000000000000606](https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000606)
27. Loree JM, Pereira AAL, Lam M, Willauer AN, Raghav K, Dasari A, *et al.* Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and consensus molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2018; 24:1062–1072. DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-17-2484](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2484)
28. ten Hoorn S, de Back TR, Sommeijer DW, Vermeulen L. Clinical value of consensus molecular subtypes in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2022; 114:503–516. DOI: [10.1093/jnci/djab106](https://doi.org/10.1093/jnci/djab106)
29. Wang W, Kandimalla R, Huang H, Zhu L, Li Y, Gao F, *et al.* Molecular subtyping of colorectal cancer: recent progress, new challenges and emerging opportunities. *Semin Cancer Biol.* 2019; 55:37–52. DOI: [10.1016/j.semcancer.2018.05.002](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.05.002)
30. 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; 58:5248–5857.
31. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, Chapelle A d. l., Ruschoff J, *et al.* Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2004; 96:261–268. DOI: [10.1093/jnci/djh034](https://doi.org/10.1093/jnci/djh034)
32. 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; 103:2825–2835. DOI: [10.1111/j.1572-0241.2008.02084.x](https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.02084.x)
33. Kastrinos F, Syngal S. Inherited colorectal cancer syndromes: *Cancer J.* 2011; 17:405–415. DOI: [10.1097/PPO.0b013e318237e408](https://doi.org/10.1097/PPO.0b013e318237e408)
34. 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.* 2017; 3:1697–1701. DOI: [10.1001/jamaoncol.2017.0769](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.0769)
35. Tapia EO, Roa SJC, Manterola DC, Bellolio JE. Cáncer de colon y recto: descripción morfológica y clínica de 322 casos. *Int J Morphol* 2010; 28:393–398. DOI: [10.4067/S0717-95022010000200010](https://doi.org/10.4067/S0717-95022010000200010)
36. Baiocchi GL, Portolani N, Vermi W, Baronchelli C, Gheza F, Zogno C, *et al.* Lynch syndrome from a surgeon perspective: retrospective study of clinical impact of mismatch repair protein expression analysis in colorectal cancer patients less than 50 years old. *BMC Surg.* 2014; 14:9. DOI: [10.1186/1471-2482-14-9](https://doi.org/10.1186/1471-2482-14-9)
37. Snedden TW, McCracken A, Vaidyanathan A, Taranova A, Villarreal R, Qamar S, *et al.* Implementation of universal tumor screening of colorectal cancer for detection of Lynch syndrome at a hispanic-rich county hospital. *JCO Oncol Pract.* 2020; 16:e948–957. DOI: [10.1200/JOP.19.00508](https://doi.org/10.1200/JOP.19.00508)
38. Della Valle A, Rossi BM, Palmero EI, Antelo M, Vaccaro CA, López-Kostner F, *et al.* A snapshot of current genetic testing practice in Lynch syndrome: the results of a representative survey of 33 Latin American existing centres/registries. *Eur J Cancer.* 2019; 119:112–121. DOI: [10.1016/j.ejca.2019.07.017](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.07.017)