

De heterodímeros de sistemas de reparación del ADN e inestabilidad microsatelital al diagnóstico del cáncer de colon

From heterodimers of the DNA reparation system and microsatelital instability to colon cancer diagnosis

Gissel García Menéndez^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-9851-2041>

Ernesto Arteaga Hernández¹ <https://orcid.org/0000-0002-8213-6379>

¹Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: gisselgarcia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Los tumores de colon poseen defectuosa la maquinaria de reparación de errores de apareamiento que corrige la replicación del ADN, por lo que tienen un aumento de las mutaciones de tipo microsatélites, las cuales generan inestabilidad en el genoma. Algoritmos diagnósticos que conjugan la inmunohistoquímica y técnicas de PCR permiten clasificar estos tumores como cáncer esporádico o síndrome de Lynch, lo cual tiene importantes implicaciones en las decisiones terapéuticas.

Objetivo: Abordar, desde un enfoque integrador, el algoritmo diagnóstico actual disponible en el sistema de salud.

Conclusiones: Es necesario implementar en nuestro país un algoritmo diagnóstico que conjugue la detección de MMR y la MSI, pues constituyen una sensible herramienta diagnóstica que permite evaluar el riesgo de cáncer, pronosticar y llegar al tratamiento de inmunoterapia en muchos casos que padecen CRC.

Palabras clave: inestabilidad de microsatélite (IMS); sistema de reparación de errores de apareamiento (MMR); inmunoterapia; heterodímeros; PCR; inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Introduction: Colon tumors have a defective mismatch repair system, the machinery that is involved in the correction of mistakes during DNA replication. For that reason, they have an increase in microsatellite mutations that confer an unstable genome. Diagnostic algorithms that combine immunohistochemistry and PCR techniques make it possible to classify these tumors as sporadic cancer or Lynch syndrome, which has important implications in therapeutic decisions.

Objective: The present work aims to approach these algorithms available in our health system.

Conclusions: It is necessary to implement in our country a diagnosis algorithm that comprises MMR detection and MSI, as they stand as a sensitive diagnosis tool that allows evaluating the risk of cancer, predicting and reaching immunotherapy treatment in many patients who suffer CRC.

Keywords: microsatellite instability (MSI); mismatch repair (MMR); immunotherapy; heterodimers; PCR; immunohistochemistry

Recibido: 01/02/2023

Aceptado: 25/04/2023

Introducción

El cáncer es un proceso evolutivo caracterizado por una compleja y diversa epidemiología, anatomía, histología, genética y respuesta inmunológica. En su desarrollo, diversas poblaciones de células cancerígenas están sometidas a presiones selectivas frente a la ecología tisular del organismo. Estas fuerzas o presiones, en su mayoría, se asocian a la diversidad genética, cuyos mecanismos, que explican el desarrollo tumoral, no han sido totalmente dilucidados.⁽¹⁾ Es por ello que, en su más reciente definición, el cáncer es considerado como un grupo de enfermedades con perfil genético heterogéneo que poseen diferencias en cuanto a presentación clínica, supervivencia y respuesta a terapias⁽²⁾

Entre los cánceres más comunes y agresivos está el cáncer colorrectal (CCR), cuyos datos de incidencia y mortalidad se incrementan cada año. Hasta el año 2018, era considerado la tercera causa de muerte por cáncer;⁽³⁾ sin embargo, reportes en el año 2020 muestran que ha ocupado el segundo lugar, con un total de 19,3 millones de nuevos casos en el mundo, y con un incremento en la incidencia en individuos menores de 50 años.⁽⁴⁾

El CCR, también nombrado adenocarcinoma colorrectal, emerge a partir de células epiteliales del intestino delgado que adquieren cierta ventaja selectiva, las cuales forman una lesión precursora o adenoma. Aunque los mecanismos que conllevan

a su desarrollo no han sido totalmente dilucidados, se conoce que los mismos incluyen eventos genéticos, como mutaciones y pérdida de genes supresores.

Tres tipos de mecanismos genéticos se describen en el desarrollo del CCR. Entre ellos, el más común es la inestabilidad cromosomal, presente en el 75 % de los casos, seguido de modificaciones epigenéticas, relacionadas con la metilación del ADN, descritas en el 20 %, y, en el 15% restante, se describe la Inestabilidad de Microsatélite (IMS), debido a deficiencias en la maquinaria de reparación de errores de apareamiento (MMR, del inglés *mismatch repair system*).⁽⁶⁾

En este trabajo, se abordará la IMS, un fenómeno que caracteriza la inestabilidad genómica de las células cancerígenas con importantes implicaciones clínicas en el desarrollo del tumor, su relación con el sistema MMR, responsable del mantenimiento de la estabilidad genómica y la homeostasis, así como la detección de ambos sistemas como potente herramienta diagnóstica que permite conocer el estadio del tumor, evaluar el riesgo y predecir su comportamiento y sensibilidad al tratamiento de inhibición inmune.

Desarrollo

El ADN está sometido a daño continuo, ya sea de manera espontánea durante el proceso replicativo o inducido por agentes externos; por ejemplo, las radiaciones ultravioletas. Las células han desarrollado sistemas especializados que reconocen la lesión y la eliminan. La tasa de error intrínseca de las ADN polimerasas es del orden de 1 por cada 10^4 - 10^5 nucleótidos incorporados. Sin embargo, gracias a estos sistemas, la tasa efectiva de mutación se reduce a 1 de cada 10^9 y 10^{10} bases en cada fase S del ciclo de división celular.^(7, 8) Luego, garantizan la estabilidad del genoma, y, con ello, la homeostasis.

Bases moleculares del sistema de reparación del ADN y la inestabilidad de microsátélites

El sistema de reparación del ADN por errores de apareamiento (MMR) fue descubierto en *Escherichia coli*,^(9, 10) y es uno de los sistemas de regulación más conservados, capaz de garantizar la integridad del genoma en la mayoría de los seres vivos.⁽¹⁰⁾

Dilucidar el mecanismo molecular del sistema MMR en procariontes permitió comprender la esencia de las bases moleculares del mismo, siendo estas extrapolables, con ciertas particularidades, al sistema MMR humano.⁽¹¹⁾ De esta manera, en procariontes, las proteínas del sistema MMR son homodímeros que utilizan la cadena complementaria del ADN como molde para reparar la de nueva síntesis. El producto del gen *MutS*, proteína de igual nombre, detecta el error de apareamiento en la doble cadena de ADN y recluta al homodímero *MutL* el cual media la unión de la endonucleasa *MutH*, necesaria para la escisión de la cadena dañada.

La señal para el corte de la enzima es la presencia de sitios GATC hemimetilados. Es necesario destacar que dicha señal no ha sido aún descrita en eucariontes.⁽¹⁰⁾ La brecha generada en la cadena de nueva síntesis constituye el sitio de unión para la helicasa *uvrD* quien desenrolla la doble hélice y la estabiliza para que la polimerasa y la ligasa terminen el proceso de síntesis.^(10, 11)

En eucariontes, incluyendo células de mamíferos y humanos, el proceso es más complejo, pues involucra ocho genes, ubicados en diversos cromosomas, que codifican para diferentes proteínas. Aquellas proteínas similares a *MutS* se denominaron MSH; las homólogas en función a *MutL* se nombraron MLH, y son

funcionales al formar heterodímeros entre ellas. De manera similar a lo descrito en procariontes, pero con sistemas moleculares de mayor complejidad, en las células humanas el proceso de reparación describe tres pasos fundamentales, que, a groso modo, son los siguientes:⁽¹²⁾

1- La iniciación. Esta tiene lugar a partir del reconocimiento del error de apareamiento por las proteínas MutS α (heterodímero MSH2-MSH6) o MutS β (heterodímero MSH2-MSH3). El heterodímero MSH2-MSH6 detecta los errores de apareamiento más comunes, aquellos de uno o dos nucleótidos. En cambio, MSH2-MSH3 reconoce errores de aproximadamente 13 pares de bases de longitud. Es por ello que, en las células humanas, usualmente, la razón de expresión de las proteínas MSH6 con respecto a MSH3 es de 10:1.

2- Escisión del error. El reconocimiento y unión del heterodímero MSH2-MSH6 activa los factores nucleares de proliferación y replicación como PCNA (del inglés Proliferating Cell Nuclear Antigen) y RFC (del inglés Replication Factor C), respectivamente, así como el heterodímero MLH1-PMS2 (homólogo de MutL α) y la proteína de replicación A (RPA del inglés Replication Protein A). El complejo activa el reclutamiento de la exonucleasa 1 (Exo1), la cual corta una hebra del ADN, generando la brecha.

3- Síntesis de la cadena. El complejo de estabilización y la hebra de ADN permiten la unión de la ADN polimerasa δ , la que sintetiza la nueva cadena empleando la cadena parental como molde. Finalmente, la DNA ligasa I cierra la brecha.

Por lo general, a lo largo del genoma, existen secuencias innatas cortas que se repiten, las cuales representan, aproximadamente, el 3 % del mismo, y se localizan, principalmente, en regiones no codificantes. El polimorfismo que estas secuencias determinan, representa una marca genética de cada individuo y son conocidas

como regiones microsatélites (MS). Su tamaño varía desde uno hasta seis pares de bases, siendo más frecuentes aquellas de mononucleótidos.⁽¹³⁾

Normalmente, los MS están expuestos a errores durante la replicación, ya que, al ser unidades repetidas, ofrecen más oportunidades para ello en el alineamiento hebra naciente, por lo que son comunes las inserciones y deleciones de nucleótidos, que traen consigo la formación de estructuras secundarias aberrantes.⁽¹³⁾ En condiciones normales, el sistema MMR es capaz de reconocerlas y reparar los errores. Sin embargo, los genes que codifican para las proteínas del sistema reparador pueden ser inactivados por mutaciones en la de la línea germinal, mutaciones somáticas o silenciamiento epigenético, lo cual trae como resultado un sistema MMR deficiente (MMRd). En consecuencia, a lo largo de múltiples ciclos de replicación, la población celular acumulará regiones MS que crearán inestabilidad en el genoma, fenómeno que se conoce como inestabilidad de microsatélites (IMS).^(10, 14) (fig. 1)

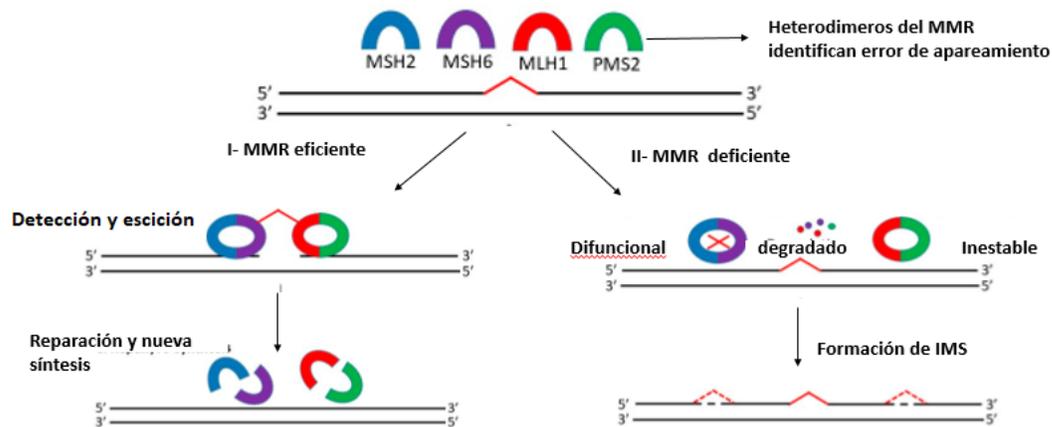


Fig. 1- Funcionamiento del sistema MMR. I- de manera eficiente, con el reconocimiento y reparación de las regiones MS , y II- sistema MMR deficiente, ya sea por degradación de los heterodímeros, como por la formación de complejos inestables o disfuncionales.

Figura (Modificada de Tieng, y colaboradores 2021⁽¹⁵⁾)

Inestabilidad de Microsatélites y su relación con el cáncer

Usualmente, en un individuo, las mutaciones espontáneas tienen un rango de incidencia a lo largo de la vida, las cuales son muy inferiores que las que se manifiestan en una célula tumoral. Se plantea que esta carga mutacional de la célula tumoral está aumentada, precisamente, por la deficiencia del sistema MMR que no puede reparar las mutaciones somáticas usuales, el aumento de mutaciones MS que generan la IMS, así como los genes que codifican para las proteínas que constituyen los heterodímeros del MMR.⁽¹⁶⁾ Luego, es indiscutible el papel central que juegan, en el desarrollo del cáncer, la maquinaria reparadora de errores de apareamiento y la IMS. Entre los tumores sólidos el cáncer de colon ha sido la localización mejor caracterizada según la presencia de IMS y deficiencias de MMR (MMRd).^{(4, 5, 10, 15, 17).}

La IMS se puede determinar mediante métodos moleculares, los que se abordarán más adelante. Estas técnicas permitieron detectar y cuantificar las mutaciones de IMS en tumores de colon y compararlas con el ADN constitutivo de los pacientes. En un inicio la IMS en cáncer de colon se correlacionó, en más de un 90 %, con mutaciones de línea germinal inherentes al MMR en familias con cáncer colorrectal hereditario, no polipósico o síndrome de Lynch (SL). Sin embargo, estudios posteriores mostraron que la IMS; además, podía ocurrir en ausencia de mutaciones germinales de MMR en el 15 % de todos los cánceres colorrectales (CCR) y este fenómeno podía explicarse por el hecho de que en la mayoría de los CCR la IMS estaba más asociada con la metilación del promotor de MLH1 que con mutaciones de línea germinal.⁽¹⁸⁾

Estos estudios moleculares, además, permitieron establecer la clasificación del tumor según la cantidad de mutaciones de IMS encontradas en tumores de alta inestabilidad microsatelital (IMS-H), tumores de baja inestabilidad microsatelital (IMS-L) y tumores que no muestran inestabilidad microsatelital o microsatélites estables (MSS).^(14, 15, 19) Encontraron que, aproximadamente, entre un 12 % - 20 % de CCR se explican por tener IMS-H, y este tipo posee una alta incidencia en los estadios tempranos del tumor (aproximadamente un 20 % en estadios I y II y 12 % en estadio III) y baja en estadios metastásicos (4,5 %). Las clasificaciones IMS-L y MSS aún no se han diferenciado claramente por lo que se han incluido como un mismo tipo.^(15, 20)

La presencia de IMS-H es un buen pronóstico en el tumor. Esta contradicción aparente puede explicarse por el hecho de que las células con IMS-H producen un alto número de proteínas anómalas de todo tipo las cuales activan los mecanismos del sistema que reconocen y actúan contra la célula tumoral, lo cual incide en una progresión lenta del tumor.^(21, 22) Luego, la determinación de la IMS tiene valor predictivo y pronóstico.^(23, 24) Las guías actuales para el diagnóstico y tratamiento

recomiendan la determinación del estatus de IMS en el tumor en cánceres de colon y endometrio.^(20, 23)

Inmuno histoquímica y PCR en tiempo real para el estudio de los heterodímeros y la inestabilidad microsatelital. Combinación de métodos que permiten discriminar entre el cáncer de colon hereditario (Síndrome de Lynch) y el cáncer de colon esporádico

Debido a la repercusión que tiene la identificación de IMS para el tratamiento del CCR, se hace imprescindible tener en cuenta dicha clasificación molecular, la cual permite distinguir el SL del cáncer de colon esporádico (CCE). Es por ello que se han elaborado consensos en cuanto a conceptos y recomendaciones de cómo realizar e interpretar estas pruebas moleculares. Las mismas se basan en la combinación del reconocimiento por inmunohistoquímica (IHQ) de las proteínas del sistema MMR y la determinación por técnicas de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR) de las secuencias de IMS.^(20, 25)

La determinación de MMRd por IHQ requiere la identificación de las cuatro proteínas del sistema MMR. Entre los métodos más empleado está el uso de un panel de cuatro anticuerpos monoclonales (AcM) que identifican las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 comercializados por la compañía Roche Diagnóstica (VENTANA MMR IHC Panel, Roche, www.ventana.com).⁽²⁶⁾ El sistema incluye un quinto AcM que reconoce a la proteína BRAF mutada en la posición V600F; sin embargo, la sensibilidad de este reconocimiento es muy baja, por lo que, como se detalla en este acápite, lo que se emplea en este caso es la detección de la mutación por el método de PCR-TR.⁽²⁰⁾

Cuando se afectan los genes que codifican para las proteínas primarias MLH1 y/o MSH2 no se detectan las proteínas correspondientes a dichos genes, ni tampoco las proteínas secundarias que forman el heterodímero PMS2 y MSH6 (MLH1-PMS2) (MSH2-MSH6). En este caso, se plantea que ha ocurrido una degradación del heterodímero (Fig. 1). Esta afectación confirma que se trata de un tumor con IMS-H, por lo que, en este punto se debe definir si se está en presencia de un SL o un CCE. Para ello, se determina, por PCR-TR, la mutación V600F del gen BRAF. Si este da mutado, debería estudiarse la metilación del promotor del gen MLH1; pero, como hasta el momento es un método engorroso y poco efectivo, se asume que la afectación que ha ocurrido en este gen es esporádica, y se debe a la metilación del promotor del mismo y, por lo tanto, se trata de un CCE. Si no se detecta la mutación V600 F, entonces se sugiere que se trata de un SL, y que la mutación ha ocurrido en la línea germinal, por lo que ese individuo se envía a consulta genética (Fig. 2).^(15, 20) En estos casos, el pronóstico es favorable y los individuos son susceptibles a terapia de inhibición inmune.⁽²⁷⁾

Si, por el contrario, las mutaciones en el MMR han ocurrido en los genes que codifican para las proteínas secundarias PMS2 y MSH6, entonces el sistema de IHQ detecta heterodímeros inestables o con pérdida de la función, ya que estas proteínas pueden remplazarse por otras del sistema MMR- por ejemplo, la proteína MSH6 puede sustituirse por MSH3 y PMS2 por MLH3 o PMS1. En ese caso, se está en presencia de individuos con IMS-L o MSS y que tienen un peor pronóstico. Ahí se realizará la prueba de PCR-TR, que permitirá corroborar el resultado o encontrar IMS que permita definir sus opciones de tratamiento (Fig. 2).^(15, 20, 27, 28)

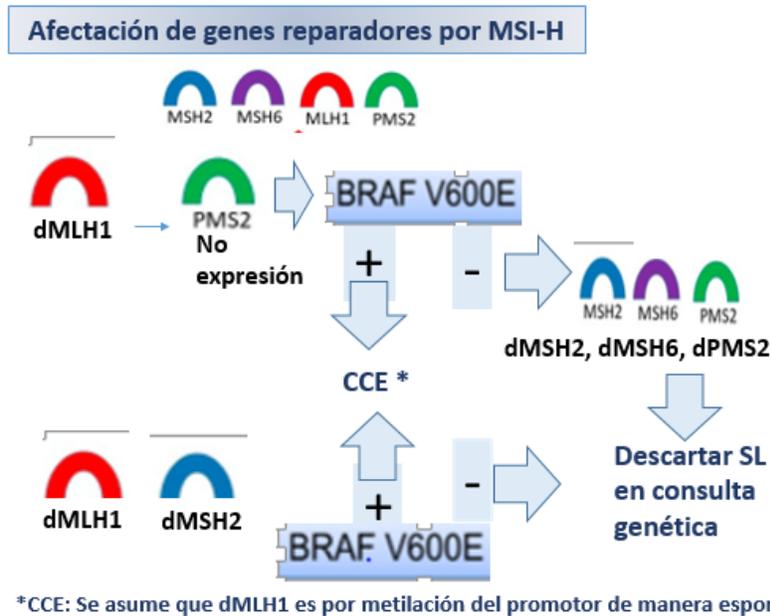


Fig. 2- Interpretación del panel de AcM que determinan la expresión de los heterodímeros de MMR en individuos con IMS-H.

La gran mayoría de los laboratorios emplean métodos de PCR-TR que se basan en el panel de secuencias de IMS de Bethesda (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, y D17S250), mediante el cual es posible detectar dos IMS de mononucleótidos (BAT25 y BAT 26) y tres dinucleótidos (D2S123, D5S346, y D17S250)⁽¹⁸⁾, o en un ensayo comercializado por la casa comercial Promega, que emplea sondas taqman y una modificación del panel de Bethesda. En este caso, emplea cinco repeticiones mononucleótidas (BAT25, BAT26, NR21, NR24 y MONO-27). El empleo de estas secuencias está validado y demostrado su alta concordancia con el método de ventana de IHQ.⁽²⁵⁾

Una vez clasificado el tumor con la presencia de IMS o MSS se define el tratamiento, pues aquellos que presentan un estatus de IMS se verán favorecidos de la terapia de inhibición inmune. En cambio, aquellos individuos con MSS, podrán recibir quimioterapia adyuvante basada en fluoracilo.^(24, 27) Para definir la terapia

inmune, una vez definido el estado de IMS, se recomienda determinar la presencia de los marcadores PD1 en aquellos individuos con IMS-H, así como la expresión de HER2, NTRK en no respondedores (MSS).⁽²⁰⁾

El estado de IMS es más frecuente en el cáncer de colon en etapa temprana, y varía desde 20 % en los pacientes en etapa I/II al 5 % en la etapa IV. Por lo tanto, los tumores inestables representan una proporción significativa de CCR en estadio II (15 a 20 %) y III (8 a 12 %). Esto sugiere que, en estos tumores inmunoinfiltrados, la vigilancia inmunológica puede ser más eficiente para limitar la propagación de la enfermedad, lo que representa porcentajes más altos en pacientes con tumores inestables en etapas tempranas en comparación con aquellos en estadios avanzados.^(29, 30)

Conclusiones

A raíz de los conocimientos actuales, se hace necesario implementar en nuestro país un algoritmo diagnóstico que conjugue la detección de MMR y la MSI, pues constituyen una sensible herramienta diagnóstica que permite evaluar el riesgo de cáncer, pronosticar y llegar al tratamiento de inmunoterapia en muchos casos que padecen CRC.

Referencias bibliográficas

1. Somarelli JA, Gardner H, Cannataro VL, Gunady EF, Boddy AM, Johnson NA, et al. Molecular Biology and Evolution of Cancer: From Discovery to Action. Mol Biol Evol. 2020;37(2):320-6. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz242>

2. Hildebrand LA, Pierce CJ, Dennis M, Paracha M, Maoz A. Artificial Intelligence for Histology-Based Detection of Microsatellite Instability and Prediction of Response to Immunotherapy in Colorectal Cancer. *Cancers*. 2021;13(3):391. <https://doi.org/10.3390/cancers13030391>
3. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(2):89-103. doi: <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>
4. 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: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
5. Ye G, Chen H, Zhang J, Sun J. Analysis of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer and Precursor Lesions. *Proceedings of Anticancer Research*. 2021;5(4):14-22. <https://doi.org/10.5114/pjp.2015.54953>
6. Evrard C, Tachon G, Randrian V, Karayan-Tapon L, Tougeron D. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers*. 2019;11(10):1567. <https://doi.org/10.3390/cancers11101567>
7. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. *Lewin's genes XII: Jones & Bartlett Learning*; 2017.
8. Bębenek A, Ziuzia-Graczyk I. Fidelity of DNA replication—a matter of proofreading. *Current Genetics*. 2018;64(5):985-96. <https://doi.org/10.1007/s00294-018-0820-1>
9. Modrich Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. *Lewin's genes XII: Jones & Bartlett Learning*; 2017. (Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*. 2016;55(30):8490-501.

10. Pećina-Šlaus N, Kafka A, Salamon I, Bukovac A. Mismatch repair pathway, genome stability and cancer. *Frontiers in molecular biosciences*. 2020;7:122. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00122>
11. Sameer AS, Nissar S, Fatima K. Mismatch repair pathway: molecules, functions, and role in colorectal carcinogenesis. *European journal of cancer prevention*. 2014;23(4):246-57. <https://doi.org/10.1097/CEJ.000000000000019>
12. Huang Y, Li G-M. DNA mismatch repair preferentially safeguards actively transcribed genes. *DNA Repair (Amst)*. 2018;71:82-6. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.08.010>
13. Bhargava A, Fuentes FF. Mutational Dynamics of Microsatellites. *Molecular Biotechnology*. 2010;44(3):250-66. <https://doi.org/10.1007/s12033-009-9230-4>
14. Li K, Luo H, Huang L, Luo H, Zhu X. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know. *Cancer Cell International*. 2020;20(1):16. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-1091-8>
15. Tieng FYF, Abu N, Lee L-H, Ab Mutalib N-S. Microsatellite instability in colorectal cancer liquid biopsy—Current Updates on Its potential in non-invasive detection, prognosis and as a predictive marker. *Diagnostics*. 2021;11(3):544. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030544>
16. Spies M, Fishel R. Mismatch repair during homologous and homeologous recombination. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(3):a022657-a. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022657>
17. Harada S, Morlote D. Molecular pathology of colorectal cancer. *Advances in anatomic pathology*. 2020;27(1):20-6. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000247>

18. 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;8(3):305-11. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2006.050092>
19. Bonneville R, Krook MA, Chen H-Z, Smith A, Samorodnitsky E, Wing MR, et al. Detection of Microsatellite Instability Biomarkers via Next-Generation Sequencing. *Methods Mol Biol.* 2020;2055:119-32. https://dx.doi.org/10.1007%2F978-1-4939-9773-2_5
20. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Annals of Oncology.* 2019;30(8):1232-43. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz116>
21. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev.* 2018;32(19-20):1267-84. <https://doi.org/10.1101/gad.314617.118>
22. McGrail DJ, Pilié PG, Rashid NU, Voorwerk L, Slagter M, Kok M, et al. High tumor mutation burden fails to predict immune checkpoint blockade response across all cancer types. *Annals of Oncology.* 2021;32(5):661-72. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.02.006>
23. Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, Miya J, Wing MR, Chen H-Z, et al. Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:PO.17.00073. <https://doi.org/10.1200/PO.17.00073>
24. Zhao P, Li L, Jiang X, Li Q. Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy efficacy.

Journal of Hematology & Oncology. 2019;12(1):54.

<https://doi.org/10.1186/s13045-019-0738-1>

25. Loughrey MB, McGrath J, Coleman HG, Bankhead P, Maxwell P, McGready C, et al. Identifying mismatch repair-deficient colon cancer: near-perfect concordance between immunohistochemistry and microsatellite instability testing in a large, population-based series. *Histopathology*. 2021;78(3):401-13.

<https://doi.org/10.1111/his.14233>

26. Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ, Bray T, Cannon JA, Cooper G, et al. Genetic/familial high-risk assessment: colorectal version 1.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2016;14(8):1010-30. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2016.0108>

27. Oliveira AF, Bretes L, Furtado I. Review of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic dMMR/MSI-H Colorectal Cancer. *Frontiers in oncology*. 2019;9:396-.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00396>

28. Son IT, Kim D-W, Kim MH, Shin Y-K, Ku J-L, Oh H-K, et al. Comparison of oncologic outcomes between patients with Lynch syndrome and sporadic microsatellite instability-high colorectal cancer. *Ann Surg Treat Res*. 2021;101(1):13-9.

<https://doi.org/10.4174/ast.2021.101.1.13>

29. Taieb J, Svrcek M, Cohen R, Basile D, Tougeron D, Phelip J-M. Deficient mismatch repair/microsatellite unstable colorectal cancer: Diagnosis, prognosis and treatment. *European Journal of Cancer*. 2022;175:136-57.

<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.07.020>

30. Yuan Z, Weng S, Ye C, Hu H, Zhang S, Yuan Y. CSCO guidelines for colorectal cancer version 2022: Updates and discussions. *Chin J Cancer Res*. 2022;34(2):67-70.

doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2022.02.01

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.