

Correspondencia:
magdali.murillo@ducuenca.edu.ec
Dirección:
Felipe II y Padre Valverde,
Teléfonos:
4090339 - 0998718063
Azua - Ecuador

Inestabilidad de los microsatélites en cáncer colo-rectal y su distribución de acuerdo a factores pronósticos en SOLCA Cuenca 2004-2014

Instability of microsatellites in colo-rectal cancer and its distribution according to prognostic factors in SOLCA-Cuenca 2004-2014.

■ Murillo Bacilio Magdali del Rocío^{1,3}, Palta Gonzalez Araceli Miroslava^{1,4},
Correa Martínez Fabián Gerardo^{2,5}, León Pesantez María Isabel¹, Patiño Murillo
Gabriela Elizabeth¹.

RESUMEN

Mundialmente, el cáncer colo-rectal constituye la tercera neoplasia más común en hombres y la segunda en mujeres. Las vías de tumorigénesis, nos permite subclasificar a los pacientes y protocolizar tratamientos. La inestabilidad microsatelital constituye una de estas vías; se presenta en un 15% a 20% en el carcinoma colo-rectal y su presencia se asocia a un mejor pronóstico.

Objetivo:

Determinar la frecuencia de inestabilidad microsatelital y su distribución de acuerdo a los factores pronósticos en biopsias de pacientes con cáncer colo-rectal atendidos en el Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca durante el periodo 2004-2014".

Método:

Es un estudio de tipo observacional, analítico. Se estudiaron 240 pacientes con cáncer colo-rectal, diagnosticados en Departamento de Patología del Instituto del Cáncer Solca Cuenca y que disponían de su material de biopsias en donde se realizaron las técnicas de inmunohistoquímica con 4 marcadores MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.

Resultados:

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

Conclusiones:

Se recomienda el uso protocolizado dentro del tratamiento del cáncer colo-rectal.

Palabras Claves: Neoplasias del Colon, Inestabilidad de microsatélites, pronóstico.

ABSTRACT

Worldwide, colorectal cancer is the third most common neoplasm in men and the second in women. Tumorigenesis pathways allow us to subclassify patients and protocolize treatments. The microsatellite instability constitutes one of these pathways; it is present in a 15% to 20% in colorectal carcinoma; its presence is associated with a better prognosis.

Objective:

To determine the frequency of microsatellite instability and its distribution according to prognostic factors in biopsies of patients with colorectal cancer in the Solca-Cuenca Cancer Institute during the period 2004-2014.

Method:

It is an observational, analytical study. About 240 patients with colorectal cancer were studied, they were diagnosed in the Pathology Department of the Cuenca Cancer Institute and who had their biopsy material where the immunohistochemical techniques were performed with 4 markers MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2.

Results:

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

Conclusions:

The protocolized use is recommended within the treatment of colorectal cancer.

Key words: colonic neoplasms, Microsatellite Instability, Prognosis.

INTRODUCCIÓN

El carcinoma colo-rectales la neoplasia más común que afecta a naciones industrializadas. Actualmente constituye la tercera neoplasia más común en hombres (746.000 casos, 10% del total) y la segunda en mujeres (614.000 casos, 9.2% del total). Cerca del 55% de los casos ocurren en países desarrollados (1).

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

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

La incidencia del cáncer colo-rectal alcanza el máximo séptima década de la vida; en menos del 20% de los casos aparece antes de los 50 años (3).

En los estudios de carcinogénesis colo-rectal se han encontrado datos fundamentales sobre los mecanismos generales de la evolución del cáncer. La combinación de episodios moleculares que conducen al adenocarcinoma de colon es heterogénea e incluye anomalías genéticas y epigenéticas. Una de estas vías es la inestabilidad de los microsatélites. Son elementos del DNA repetitivos en los cuales la unidad repetida es de solo 1 a 6 bases de largo y la unidad están repetidas de 10 a 60 veces y que pueden sufrir deleciones o mutaciones (4).

Estas mutaciones o deleciones son arregladas por el sistema de reparación de errores y cuando hay disfuncionalidad de este sistema existe acumulación de mutaciones en los microsatélites y se lo denomina inestabilidad de los microsatélites (IMS) (5).

Constituye una huella dactilar molecular de los carcinomas colo-rectales. Ocurre en un 15% de las lesiones esporádicas y está presente en el cáncer hereditario y esporádico (6).

Existe evidencia acerca de que la inestabilidad es más frecuente en el sexo femenino y a su vez este se incrementa con la edad entre 4.9% entre edades comprendidas 41 a 50 años y 24% entre 71-80 años (7).

Muchas características histológicas han sido identificadas en este grupo de pacientes, tal como la tendencia a ocurrir en el lado derecho del colon, fenotipo de carcinoma medular, presencia de componente mucinoso o de célula en anillo de sello, presencia de infiltración tumoral y linfocitos peritumorales (8).

Esta alteración molecular puede ser identificada mediante: a.- Estudio de las secuencias de ADN(PCR) o, b.- análisis de los genes que reparan estas secuencias llamados sistema de reparación de errores. Actualmente son 4 el grupo de genes que se consideran dentro del sistema de reparación de

errores: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. A su vez mediante técnicas de inmunohistoquímica podemos analizar el producto proteico de los genes anteriormente mencionados. La alteración de estos genes no permitirá el arreglo dentro de los microsátélites y se desarrolla la inestabilidad (9).

En la mayor parte de los trabajos la sensibilidad y especificidad de esta técnica para la identificación de tumores con inestabilidad de los microsátélites son muy altas, superiores al 85% (9).

Un resultado anormal es la ausencia (pérdida) completa de inmunorreactividad nuclear para 1 o más de esas proteínas (10,11).

Numerosos estudios establecieron el valor del estado de IMS como factor pronóstico en todos los carcinomas colo-rectales independientemente de la edad. Los resultados de un meta análisis, incluidos 7642 pacientes, demostraron que los pacientes con carcinoma colo-rectal que presentan inestabilidad de los microsátélites muestran un pronóstico significativamente mejor en comparación con aquellos que no lo tienen (12).

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional analítico. El proyecto fue realizado en el Departamento de Patología del Instituto del Cáncer, SOLCA, Cuenca, Ecuador. Se trabajó con 240 bloques que contenían tejidos de pacientes con diagnóstico de carcinoma colo-rectal.

Se procedió a la recuperación del bloque de tejido y a la fabricación automatizada de los arreglos de tejido (TMA) con el equipo Unitma, modelo UATM-272 A de procedencia Koreana, para lo cual se puncionó núcleos de tejido cilíndrico que miden 3 mm de diámetro y se insertan en una parafina receptora. Todos los bloques contenían control positivo.

Realización de la técnica de inmunohistoquímica: Se utilizó 4 proteínas como son MLH1, MSH6, MSH2, PMS2. Para el control de calidad cada uno de los casos fueron interpretados con un control positivo. Los anticuerpos utilizados son MLH1 clona 6168-728 B105B, MSH2 clona 219-1129 B105B, MSH6 clona 44 B105B, PMS2 clona EP51 B105B. Se utilizó el kit de detección Ultra View Universal DAB Ventana equipo para procesamiento Benchmark Ventana. La interpretación de la expresión fue realizada por dos patólogos previamente capacitados para ello.

Una vez recopilados los datos sobre las variables de estudio se ingresaron en una matriz de datos en el programa estadístico SPSS versión 15 en español para Windows™ y se procesó la información

con estadística descriptiva y analítica, mediante la presentación de tablas.

RESULTADOS

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

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

Los resultados de los factores pronósticos se hallan en la tabla 1

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

Analizando los datos de factores pronósticos vemos que la localización más frecuente es en el colon, son adenocarcinomas moderadamente diferenciados y en etapa clínica II.

58 casos mostraron inestabilidad de microsátélites y al confrontarlos con los factores pronósticos se halló asociación estadística con localización del tumor (p: 0.000) y grado de diferenciación. (p0.0001).

TABLA N° 1

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

Elaborado por: Dr. Fabián Correa. Fuente: base datos de la investigación

TABLA N° 2

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

Factores Pronósticos	Expresión proteínas				Total (n=240)	%	OR	IC	p
	Si (182)	%	No(n=58)	%					
Sexo									
Masculino	71	39,01	20	34,48	91	37,92	1,2	0,6-2,2	0,5
Femenino	111	60,99	38	66,52	149	62,08			
Localización									
Recto	92	50,56	7	12,07	99	41,25	74	3,2-17	0,0
Colon	90	49,45	51	87,98	141	58,75			
Tipo									
Histológico									
Adenocarcinoma	161	88,46	46	79,31	207	86,25	2	0,9-4	0,07
Mucinoso y A. sello	21	11,54	12	20,60	33	13,75			
Grado tumoral									
Bien y moderado	146	80,72	34	58,62	179	75	2,8	1,5-54	*0,0001
Poco	36	19,78	24	41,38	60	25			
Etapa Clínica									
I	27	14,8	9	15,5	36	15	0,9	04-21	0,8
II	54	29,7	22	37,9	76	31,7	0,8	04-15	0,6
III	45	24,7	14	24,1	59	24,6	1,0	0,5-2,0	0,9
IV	56	30,8	13	22,4	69	28,8	1,5	0,73-0	0,2

DISCUSIÓN

El cáncer de colon constituye una de las neoplasias con mayor diagnóstico a nivel del mundo entero. Los cambios moleculares como es la inestabilidad de los microsatélites se comporta como un factor pronóstico y predictivo en estos pacientes. [24]. El objetivo de este trabajo fue identificar la frecuencia de la expresión de proteínas del sistema microsatelital mediante técnicas de inmunohistoquímica en pacientes con cáncer colo-rectal.

Jorissen y cols. en un trabajo realizado en Australia, hizo un estudio en 746 pacientes con cáncer de colon, la media de edad fue de 70 años, los hombres se afectaron en 4% y las mujeres en un 44.6%. El estadio más frecuente fue el III con 46.5%; se localizaron más frecuentemente en colon derecho 42.2%; el 83% fueron bien y moderadamente diferenciados y el 13.4% mostraron inestabilidad de los microsatélites [13].

Hoseiniy cols realizaron un análisis de factores pronóstico de 38073 de pacientes con cáncer colo-rectal. La media de edad fue de 57.2 años, y la relación hombre-mujer fue 1.38. En cuanto a factores pronósticos la mayor frecuencia fue: colon 58%; tipo histológico: adenocarcinoma 96.8%; grado de diferenciación: bien diferenciados: 52%; estadio II: 39% [14].

Los resultados obtenidos en el trabajo que se presenta, muestra diferencias en cuanto al sexo: las mujeres afectadas representaron el 62.1% y los hombres el 37.9%; al parecer, se hacen necesarias investigaciones que agrupen las diferentes fuentes de información para identificar una distribución de la enfermedad más precisa en cuanto a sexo.

La inestabilidad de los microsatélites estudiados, ya sea por análisis del gen o por la expresión de sus proteínas (inmunohistoquímica) es de gran importancia.

La investigación de alteraciones moleculares en los pacientes con cáncer colo-rectal, constituyen indicadores de evolución clínica en base a lo cual, a futuro, se va a poder realizar una clasificación molecular [15]. Varios autores muestran esta alteración molecular en sus estudios: Zarate y cols. con 109 casos encontró inestabilidad de microsatélites en un 16 % [16]; Zhenqiang en el 27.3% de 404 casos [17]; Parcy cols. en el 17% de 142 [18] y Healdy cols. con 1108 pacientes reportó un 16 % [19] con este cambio molecular. En el trabajo que se presenta, la alteración se dio en un 24.2% de pacientes con cáncer colo-rectal que tienen una vía de proliferación diferente a la conocida tradicionalmente; el porcentaje de pacientes que presentan este cambio parece ser relativamente parecido en los diferentes grupos poblacionales.

La utilización de 4 marcadores (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) equivalente a la inestabilidad de los microsatélites ha convertido a la inmunohistoquímica en una técnica de valor predictivo alto. Los hallazgos encontrados en el presente trabajo mostraron que el 82.75% no expresó dos proteínas; 10.34% tres y el 6.89% cuatro proteínas. En cuanto a que proteínas, el 68.96% fueron MLH1/PMS2 sugiriéndose que podría estar dañado el gen MLH1, sin poder distinguir si son de origen germinal o no; el 1.72% no expresaron MSH2/MSH6 en el cual podría existir mutación en la línea germinal MSH2 necesiándose del análisis genético por la probabilidad de presentar síndrome de Lynch, tal y como lo expresa Zhang y cols., Kheirelseid y cols. En sus publicaciones [20,21]. Los autores mencionados no desagregan la información en cuanto a estos hallazgos. Cicek y cols. en el 2011 publicó el 56.6% no expresaron MLH1/PMS2 y 19.1% MSH2/MSH6 [22].

Cuando se revisa la distribución de inestabilidad de los microsatélites determinado por la ausencia de expresión proteica en relación a los factores pronósticos en el cáncer colo-rectal se encuentra que Jung y cols. publica 176 casos con inestabilidad de los microsatélites, el 42.6% fueron mujeres, 51.1% se localizaron en el lado derecho, 51.7% son poco diferenciados y el 34% son estadio II [23]. Gryfe y cols. en un trabajo con 607 carcinomas colo-rectales e IMS publicó que 50.0% fueron mujeres, el 26% estuvieron en el lado derecho, 92% correspondieron a tipo adenocarcinoma, 73% mostraron grado moderado y el 26% tuvieron etapa II, datos que muestran una distribución cercana a los hallazgos de nuestro estudio (66.52% en mujeres; 94.12% se ubicaron en el lado derecho; 79,31% fueron adenocarcinomas, 58,62% estuvieron en grado moderado y el 37,9% en etapa II). El análisis multivariado realizado por Gryfe y cols. encontró que la inestabilidad de microsatélites actúa como factor significativamente independientemente de la supervivencia; el mecanismo por el cual influye en el resultado clínico se desconoce, pero puede estar relacionado con el tipo de mutaciones o las dianas genéticas implicadas [24], por lo que se requiere estudios multicéntricos. En nuestros hallazgos se encontró asociación estadística de la inestabilidad microsatelital con la localización ($p: 0.0$) y el grado tumoral ($p < 0.05$).

En 520 casos estudiados, Alexander y cols. reportaron un 15% con diferenciación mucinosa hallándose asociación significativa con este patrón distintivo, reproducible y reconocido por la producción de mucina que puede ser focal [25]; en el estudio que se presenta se analizó en conjunto el patrón histológico con sus categorías, no encontrándose asociación estadística en el análisis bivariado.

En los trabajos que se refieren a cáncer de colon por separado, datos reportados por Liny cols. en Taiwan con 709 pacientes, la distribución favoreció al lado derecho (76.7%), tipo histológico adenocarcinoma (100.0%), grado moderado (71.7%) y etapa clínica II (55.0%) evidenciándose asociación estadística con localización, grado y tipo histológico ($p: 0.001$) (26). Kawakami y cols., Sinicrope y cols. mencionan que los pacientes que presentan inestabilidad tienen localización preponderante en colon derecho, son pocos diferenciados y de tipo mucinoso (27,28). En los hallazgos de la investigación que se presenta, la mayor frecuencia de los casos que presentaron inestabilidad de los microsatélites se dio en lado derecho (94.12%), tipo histológico adenocarcinoma (82.35%), grado moderado (62.75%) y en la etapa clínica II (41.17%), encontrándose asociación estadística con la localización ($p: 0.00$) y el grado tumoral ($p: 005$).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la serie de casos analizados observamos un 24.2% de inestabilidad de microsatélites por inmunohistoquímica, por lo que, en los pacientes con cáncer de colon, se requiere en forma protocolizada realizar un análisis integral tanto clínico como molecular y determinar su óptimo valor. La inestabilidad de los microsatélites forma parte de la nueva clasificación molecular del cáncer de colon que se está proponiendo junto con otros marcadores por lo que recomienda su realización en forma rutinaria.

INFORMACIÓN DE LOS AUTORES

- Murillo Bacilio Magdali del Rocío, Anatómopatóloga Magister en Investigación de Salud, SOLCA. Docente Facultad de Ciencias Médicas Universidad de Cuenca. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9752-9722>

- Palta Gonzalez Araceli Miroslava, Anatómopatóloga, SOLCA. Docente Facultad de Medicina Universidad del Azuay. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0103-8978>

- Correa Martínez Fabián Gerardo, Cirujano General Hospital Municipal de la Mujer y el Niño. Docente Facultad de Medicina Universidad Católica de Cuenca. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4007-2688>

- León Pesantez María Isabel, Oncóloga Clínica, SOLCA. Docente Facultad de Medicina Universidad Católica de Cuenca. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0901-7768>

- Patiño Murillo Gabriela Elizabeth, Estudiante de Medicina Universidad Católica de Cuenca. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3328-900X>

Figura. 1

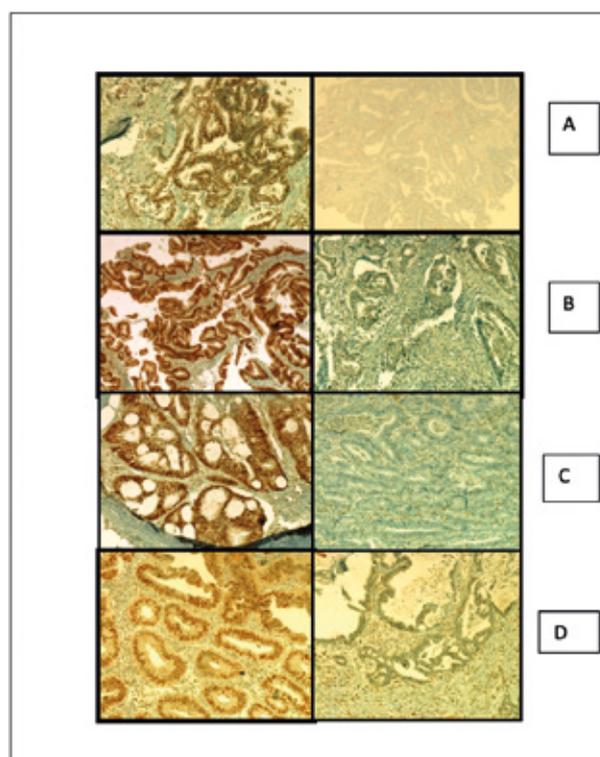


Fig. 1. Inmunohistoquímica
A.- MLH1 positivo y negativo
B.- MSH2 positivo y negativo
C.- MSH6 positivo y negativo
D.- PMS2 positivo y negativo

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores participaron en la elaboración del artículo científico, desde el protocolo hasta el informe final para su publicación.

CONFLICTO DE INTERESES

No hay conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Keum N, Giovannucci EL. Epidemiology of Colorectal Cancer. Pathology and Epidemiology of Cancer [Internet]. Springer International Publishing; 2016 Sep 2; 391-407. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-35153-7_21
2. Hano-García O, Wood-Rodríguez L, Galban-García E, Abreu-Vásquez M. Factores de riesgo para el cáncer colorrectal. [Spanish]. Revista Cubana de Medicina [Serial on the internet]. [2011, AP], [cited July 27, 2015].50(2):118-132. Availablefrom: Academic Search Complete.
3. Robbins y Cotran, PatologíaEstructural y funcional, novena edición, España, 2015, Pág. 810-811
4. Zeinalian M, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Salehi R, Kazemi M, Emami M. Tumor microsatellite instability and clinic pathologic features in Iranian colorectal cancer patients at risk for Lynch syndrome. Journal of Research in Medical Sciences [serial on the Internet]. [2015, Feb], [cited February 19, 2018]; 20(2): 154-160. Available from: Academic Search Complete.
5. OrtizC, Dongo-PfluckerK, Martín-CruzL, Barletta-Carrillo C, Mora-Alferez P, Arias A. Inestabilidad de microsatélites en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Rev. gastroenterol. Perú [Internet]. 2016 Ene [citado 2018 Feb 19]; 36(1): 15-22. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292016000100002&lng=es.
6. Geiersbach K, Samowitz W. Microsatellite Instability and Colorectal Cancer. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [serial on the Internet]. [2011, Oct], [cited February 19, 2018]; 135(10): 1269-1277. Available from: Academic Search Complete.
7. Jover R, Payá A. Inestabilidad de microsatélites en el cáncer colorrectal: concepto, métodos de detección y utilidad clínica. Gastroenterología y Hepatología [Internet]. Elsevier BV; 2003 Jan;26(10):656-63. Availablefrom: [http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5705\(03\)70427-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0210-5705(03)70427-0)
8. Bedeir A, Krasinskas A. Molecular Diagnostics of Colorectal Cancer. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [serial on the Internet]. [2011, May], [cited February 19, 2018]; 135(5): 578-587. Available from: Academic Search Complete.
9. Plasencia C, Abad A. Inestabilidad de microsatélites y cancer colorrectal. Medicina Clínica [Internet]. Elsevier BV; 2005 Apr; 124(12):454-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1157/13073220>
10. Bedeir A, Krasinskas A. Molecular Diagnostics of Colorectal Cancer. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [serial on the Internet]. [2011, May], [cited February 19, 2018]; 135(5): 578-587. Available from: Academic Search Complete.
11. Gay L, Arends M, Mitrou P, Bowman R, Ibrahim A, Rodwell S, et al. MLH1 Promoter Methylation, Diet, and Lifestyle Factors in Mismatch Repair Deficient Colorectal Cancer Patients From EPIC-Norfolk. Nutrition & Cancer [serial on the Internet]. [2011, Oct], [cited February 19, 2018]; 63(7): 1000-1010. Availablefrom: Academic Search Complete
12. Murphy GA, Devesa SS, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Abstract 1817: Sex disparities in colorectal cancer incidence by anatomic subsite, race and age. Cancer Research [Internet]. American Association for Cancer Research [AACR]; 2010Apr15;70(8Supplement):1817-1817. Availablefrom: <http://dx.doi.org/10.1158/1538-7445.am10-1817>.
13. Jorissen RN, Christie M, Mouradov D, Sakthianandeswaren A, Li S, Love C, et al. Wild-type APC predicts poor prognosis in microsatellite-stable proximal colon cancer. British Journal of Cancer [Internet]. Springer Nature; 2015 Aug 25;113(6):979-88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2015.296>.
14. Hoseini S, Moaddabshoar L, Hemati S, Mohammadianpanah M. An Overview of Clinical and Pathological Characteristics and Survival Rate of Colorectal Cancer in Iran. Annals of Colorectal Research [Internet]. Kowsar Medical Institute; 2014 Mar 30;2(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.17795/acr-17264>.
15. Alexander J, Watanabe T, Wu T-T, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. The American Journal of Pathology [Internet]. Elsevier BV; 2001 Feb;158(2):527-35. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63994](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63994)
16. Iacopetta B, Grieco F, Amanuel B. Microsatellite instability in colorectal cancer. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology [Internet]. Wiley-Blackwell; 2010 Oct 26;6(4):260-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1743-7563.2010.01335.x>
17. Zhenqiang S, Xianbo Y, Haijiang W, Shuo Z, Zeliang Z, Ruiwei X. Clinical significance of mismatch repair gene expression in sporadic colorectal cancer. Experimental & Therapeutic Medicine [serial on the Internet]. [2014, Nov],

- [cited March 11, 2017]; 8(5): 1416-1422. Available from: Academic Search Complete.
18. Parc Y. Prognostic significance of microsatellite instability determined by immunohistochemical staining of MSH2 and MLH1 in sporadic T3N0M0 colon cancer. *Gut* [Internet]. *BMJ*; 2004 Mar 1;53(3):371-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.019190>.
 19. 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. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. American Society of Clinical Oncology [ASCO]; 2013 Apr;31(10):1336-40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2012.45.1674>.
 20. Zhang, X., & Li, J. [2013]. Era of universal testing of microsatellite instability in colorectal cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 5(2), 12-19. <http://doi.org/10.4251/wjgo.v5.i2.12>
 21. Kheirelseid, E. A. H., Miller, N., Chang, K. H., Curran, C., Hennessey, E., Sheehan, M., & Kerin, M. J. [2013]. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 4(4), 397-408. <http://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2013.021>
 22. Cicek MS, Lindor NM, Gallinger S, Bapat B, Hopper JL, Jenkins MA, et al. Quality Assessment and Correlation of Microsatellite Instability and Immunohistochemical Markers among Population- and Clinic-Based Colorectal Tumors. *The Journal of Molecular Diagnostics* [Internet]. Elsevier BV; 2011 May;13(3):271-81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmoldx.2010.12.004>
 23. Jung SH, Kim SH, Kim JH. Prognostic Impact of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer Presenting With Mucinous, Signet-Ring, and Poorly Differentiated Cells. *Annals of Coloproctology* [Internet]. Korean Society of Coloproctology [KAMJE]; 2016;32(2):58. Available from: <http://dx.doi.org/10.3393/ac.2016.32.2.58>.
 24. Gryfe R, Kim H, Hsieh ETK, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [Internet]. New England Journal of Medicine [NEJM/MMS]; 2000 Jan 13;342(2):69-77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/nejm200001133420201>
 25. Alexander J, Watanabe T, Wu T-T, Rashid A, Li S, Hamilton SR. Histopathological Identification of Colon Cancer with Microsatellite Instability. *The American Journal of Pathology* [Internet]. Elsevier BV; 2001 Feb;158(2):527-35. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63994-](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63994-)
 26. Lin C, Lai Y, Lin T, Chen W, Jiang J, Chang S, et al. Clinicopathologic features and prognostic analysis of MSI-high colon cancer. *International Journal of Colorectal Disease* [serial on the Internet]. [2012, Mar], [cited March 24, 2017]; 27(3): 277-286. Available from: Academic Search Complete
 27. Kawakami H, Zaanani A, Sinicrope FA. Microsatellite Instability Testing and Its Role in the Management of Colorectal Cancer. *Current Treatment Options in Oncology* [Internet]. Springer Nature; 2015 Jun 2;16(7). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-015-0348-2>
 28. Sinicrope FA, Rego RL, Halling KC, Foster N, Sargent DJ, La Plant B, et al. Prognostic Impact of Microsatellite Instability and DNA Ploidy in Human Colon Carcinoma Patients. *Gastroenterology* [Internet]. Elsevier BV; 2006 Sep;131(3):729-37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.00>