

**ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN CLÍNICA, PATOLÓGICA  
Y MOLECULAR DE PACIENTES CON SOSPECHA DE  
POLIPOSIS COLÓNICA HEREDITARIA**



**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA  
FACULTAD DE MEDICINA**

**Luis Figuero Pérez**

**2023**

**DIRECTORES**

**Prof. Dr. Juan Jesús Cruz Hernández**

**Prof. Dr. Emilio Fonseca Sánchez**

**Dra. Rosario Vidal Tocino**



**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**Facultad de Medicina**

**Departamento de Medicina**

**EL DR. JUAN JESÚS CRUZ HERNÁNDEZ CATEDRÁTICO DE MEDICINA,  
EL DR. EMILIO FONSECA SÁNCHEZ PROFESOR TITULAR DE MEDICINA  
Y LA DRA. ROSARIO VIDAL TOCINO ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA  
MÉDICA**

**CERTIFICAN:**

Que el presente trabajo titulado “Análisis y caracterización clínica, patológica y molecular de pacientes con sospecha de poliposis colónica hereditaria”, que presente el Graduado en Medicina y Médico Interno Residente de Oncología Médica, Luis Figuro Pérez, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Medicina, y reúne, a su juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y pueda optar al título de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Salamanca a 05 de abril de 2023.

Prof. Dr. Juan Jesús Cruz Hernández

Prof. Dr. Emilio Fonseca Sánchez

Dra. Rosario Vidal Tocino



## **FINANCIACIÓN**

Este trabajo de tesis doctoral ha sido financiado parcialmente por el proyecto de la Fundación Mutua Madrileña. Código: FMM20/001. 2020-2023. “Estudio clínico y molecular de poliposis de colon sin mutaciones en genes asociados a cáncer hereditario”.



*Para Dani, todo esto es por ti*





## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quería agradecer a mis directores de tesis doctoral:

Al **Prof. Dr. Juan Jesús Cruz Hernández**. Qué difícil resumir en estas palabras todo lo que ha significado para mi desde que llegué al Servicio de Oncología médica de Salamanca hace 5 años. Me siento profundamente agradecido de haber podido trabajar al lado de una eminencia como él tanto en lo profesional como en lo académico. Y, además, una de las mejores personas que he conocido, con una calidad humana inigualable. Gracias por confiar en mi desde el primer día.

A la **Dra. Rosario Vidal Tocino** por su inestimable apoyo desde el inicio de mi residencia, así como en la consecución de esta tesis doctoral. Una profesional magnífica. Expresar mi enorme gratitud por su confianza, sus sabios consejos y su capacidad de trabajo, sin ella no habría sido posible llegar hasta aquí.

Al **Prof. Dr. Emilio Fonseca Sánchez** por su orientación, apoyo y visión crítica. Gracias por ser uno de los artífices de que todo esto sea posible, así como por la gran confianza depositada en mi para el trabajo diario en el Servicio de Oncología. Junto al Prof. Dr. Cruz, gracias por esas magníficas clases de sexto por las que en gran parte estoy hoy aquí.

Al equipo del **laboratorio 14 del Centro de Investigación del Cáncer liderado por el Prof. Dr. Rogelio González Sarmiento**. Especialmente a la **Dra. Jessica Pérez**, gracias por favorecer tanto el desarrollo de esta tesis y poner los medios necesarios para ello a mi entera disposición.

A **Paula García** por su gran ayuda para plantear las bases de esta tesis doctoral.

Al **Dr. Javier Martín Vallejo** por su cordialidad, enorme disponibilidad y brillantez en el desarrollo del análisis estadístico de esta tesis.

A todos los pacientes y familias. El motivo principal por el que nos dedicamos a este trabajo. Sin ellos nada tendría sentido.

A todos los integrantes del **Servicio de Oncología médica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca**, de residentes a adjuntos. Han sido tantas las vivencias y el trabajo conjunto durante todos estos años. Es un orgullo poder formar parte de este Servicio, con una calidad profesional y humana excepcional.

En especial quiero agradecer a **Alejandro**, compañero de mil batallas y ante todo un gran amigo. Estoy seguro de que no podría haber llegado aquí sin tu ayuda.

A **María**, gracias por aparecer en mi vida cuando más lo necesitaba y por haberte quedado en ella. A pesar del tiempo que te he robado siempre has estado como el apoyo más incondicional de todos. Este es solo un paso más en una vida que espero que caminemos juntos.

A mis amigos, por vuestro cariño y apoyo diario en cada paso que doy. Sois de esas cosas por las que todo merece la pena.

A mis padres y a mi hermano Andrés, nada de lo que soy tiene ningún sentido si no es por vosotros. Gracias por estar siempre a mi lado. Qué suerte tengo de teneros.

Y, por supuesto, a Dani. Juntos desde el primer día hasta el último. No hay nada que haga sin acordarme de ti.



# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>20</b>
<b>1. CÁNCER COLORRECTAL .....</b>	<b>28</b>
1.1 EPIDEMIOLOGÍA .....	28
1.2 ETIOLOGÍA Y EVOLUCIÓN NATURAL.....	28
1.3 HISTORIA NATURAL .....	31
1.4 ANATOMÍA PATOLÓGICA .....	33
<b>2. SÍNDROMES PÓLIPÓSICOS DE PREDISPOSICIÓN AL CCR.....</b>	<b>34</b>
2.1 POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR .....	35
2.2 POLIPOSIS ASOCIADA A MUTYH.....	45
2.3 OTROS SÍNDROMES DE POLIPOSIS ADENOMATOSA.....	48
2.4 SÍNDROME DE POLIPOSIS HAMARTOMATOSA .....	49
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>57</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>60</b>
<b>1. PACIENTES INCLUIDOS Y VARIABLES ESTUDIADAS .....</b>	<b>61</b>
<b>2. METODOLOGÍA.....</b>	<b>64</b>
2.1 RECOGIDA DE LOS DATOS .....	64
2.2 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES ANALIZADAS.....	64
2.3 ANÁLISIS DE VARIANTES PATOGENICAS EN APC Y MUTYH.....	66
2.4 PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA HEREDITARY ONCOKITDX®.....	75
2.5 CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	76
2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	76
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>79</b>
<b>1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA .....</b>	<b>80</b>
<b>2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PATOLÓGICAS DE LOS PACIENTES EN FUNCIÓN DE SU ESTADO MUTACIONAL.....</b>	<b>85</b>

---

2.1 EDAD, SEXO Y ÉXITUS .....	85
2. 2 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS E HISTORIA FAMILIAR.....	88
2. 3 ANTECEDENTE PERSONAL DE CCR Y CIRUGÍAS PROFILÁCTICAS .....	95
2.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS POLIPOSIS Y ESTUDIO ENDOSCÓPICO .....	104
2.5 MANIFESTACIONES EXTRACOLÓNICAS .....	118
<b>3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....</b>	<b>124</b>
<b>4. BÚSQUEDA DE OTROS GENES IMPLICADOS .....</b>	<b>129</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>132</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>151</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>154</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>170</b>

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estimación del número de nuevos casos de cáncer en España para el año 2023 (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de REDECAN (3). .....	23
Tabla 2. Estimación del número de nuevos casos de cáncer en España para el año 2023 según tipo tumoral (excluidos los cánceres cutáneos no melanoma (ambos sexos. Modificado de REDECAN (3).....	24
Tabla 3. Fallecimientos por tumores en España en 2021, por causa, ambos sexos. Modificado de INE (4).....	27
Tabla 4. Riesgo acumulado de padecer manifestaciones extracolónicas en la PAF clásica. Modificado de Libro Cáncer hereditario SEOM 3ª ed (18).....	42
Tabla 5. Principales síndromes que cursan con poliposis hamartomatosa. Modificado de Libro Cáncer hereditario SEOM 3ª ed (18).....	50
Tabla 6. Criterios de selección de PAF de la Junta de Castilla y León. ....	61
Tabla 7. Hospitales desde los que se derivan a los pacientes.....	62
Tabla 8. Cebadores sentido y antisentido del gen APC.....	69
Tabla 9. Cebadores sentido y antisentido del extremo 3' del gen APC .....	70
Tabla 10. Cebadores sentido y antisentido del gen MUTYH.....	70
Tabla 11. Edad al estudio germinal .....	81
Tabla 12. VP patogénicas detectadas en el gen APC.....	82
Tabla 13. VP en homocigosis en el gen MUTYH.....	83
Tabla 14. Variantes patogénicas en heterocigosis en el gen MUTYH. ....	84
Tabla 15. VSD en el gen APC.....	84
Tabla 16. VSD en el gen MUTYH.....	84
Tabla 17. Distribución de la edad de los pacientes en función de su estatus mutacional.....	86
Tabla 18. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP en APC. ....	88
Tabla 19. Antecedentes familiares de los pacientes con VP en APC.....	89
Tabla 20. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP en homocigosis en MUTYH .....	89
Tabla 21. Antecedentes familiares de los pacientes con VP en homocigosis en MUTYH.....	90
Tabla 22. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP heterocigótica del gen MUTYH .....	90
Tabla 23. Antecedentes familiares de pacientes con VP heterocigótica en MUTYH.....	91
Tabla 24. Criterios diagnósticos pacientes con VSD en el gen APC.....	91
Tabla 25. Antecedentes familiares pacientes con VSD en APC.....	92
Tabla 26. Criterios diagnósticos pacientes sin VP en APC y MUTYH.....	92

---

Tabla 27. Antecedentes familiares pacientes sin VP en APC y MUTYH .....	93
Tabla 28. Características de los CCR en los pacientes con VP en APC. ....	96
Tabla 29. Características de los CCR en los pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH .	97
Tabla 30. Características de los CCR en los pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH	98
Tabla 31. Características de los CCR de los pacientes con VSD en el gen APC .....	99
Tabla 32. Características de los CCR de los pacientes sin VP ni VSD en los genes APC y MUTYH. .....	101
Tabla 33. Colonoscopias realizadas a los pacientes con VP en APC.....	105
Tabla 34. Nº de pólipos totales y en función de la lateralidad en pacientes con VP en APC....	106
Tabla 35. Colonoscopias realizadas a la población con VP homocigótica en MUTYH .....	107
Tabla 36. Nº de pólipos totales y en función de la localización en el colon de los pacientes con VP bialélica en MUTYH .....	108
Tabla 37. Colonoscopias realizadas a la población con VP heterocigótica en MUTYH .....	110
Tabla 38. Nº de pólipos totales y en función de la localización en el colon de los pacientes con VP heterocigótica en MUTYH .....	111
Tabla 39. Colonoscopias realizadas a la población con VSD en APC.....	112
Tabla 40. Nº de pólipos clasificados en función de su localización de los pacientes con VSD en el gen APC. ....	113
Tabla 41. Colonoscopias realizadas por los pacientes sin VP ni VSD .....	114
Tabla 42. Nº de pólipos clasificados en función de su localización de los pacientes sin VP ni VSD en APC y MUTYH. ....	115
Tabla 43. Comparación del número de colonoscopias realizadas en función del estatus mutacional.....	116
Tabla 44. Edad al primer pólipo de toda la población en función de su estatus mutacional. ..	116
Tabla 45. Nº de pólipos totales y por localización colónica en función del estatus mutacional .....	117
Tabla 46. Manifestaciones extracolónicas de los pacientes con VP en APC.....	120
Tabla 47. Distribución de las ME en los pacientes con VP en APC.....	120
Tabla 48. manifestaciones extracolónicas de los pacientes sin VP ni VSD .....	123
Tabla 49. Pacientes sin VP en APC y MUTYH y con varias ME. ....	123
Tabla 50. Tabla de confusión donde se muestra en la diagonal el número de observaciones que han sido bien clasificadas con las funciones discriminantes canónicas. Los valores fuera de la diagonal indican observaciones mal clasificadas. ....	128
Tabla 51. Proporción de bien clasificados por las funciones discriminantes canónicas. ....	128
Tabla 52. VSD encontradas mediante el panel de secuenciación masiva OncoKitDx.....	129

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia estimada de tumores en la población mundial para los años 2020 y 2040, ambos sexos (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (2). .....	20
Figura 2. Tumores más frecuentemente diagnosticados en el mundo. Estimación para el año 2020, ambos sexos (excluidos tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (2). .....	21
Figura 3. Mortalidad por cáncer a nivel mundial. Modificado de Globocan 2020 (2). .....	22
Figura 4. Mortalidad por cáncer a nivel mundial por sexos (hombres derecha, mujeres izquierda). Modificado de Globocan 2020 (2). .....	22
Figura 5. Incidencia estimada de tumores en España para los años 2020 y 2040, por sexos (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (3). .....	23
Figura 6. Estimación de la prevalencia a los 5 años del diagnóstico de cáncer a nivel mundial para el año 2020. Modificado de GLOBOCAN 2020 (2). .....	25
Figura 7. Evolución temporal de la mortalidad estandarizada por tumores en España. Modificado de GLOBOCAN 2020 (2). .....	26
Figura 8. Secuencia de la carcinogénesis en el cáncer colorrectal partiendo de una dieta rica en grasas. (Medicine) (7). .....	29
Figura 9. Vías de carcinogénesis de carcinoma colorrectal. Modificado de Manrique Areses et al (21). .....	32
Figura 10. Clasificación de los síndromes polipósicos y principales genes responsables. Modificado de Valle L (58, 18). .....	35
Figura 11. La ruta de señalización canónica Wnt/B- catenina. Modificado de Jeong et al (68). .....	37
Figura 12. Representación de la localización y tipo de mutaciones y grandes reordenamientos (GR) a lo largo del gen APV en la población española. Modificado de Rivera et al (63). .....	40
Figura 13. Representación del papel de las deficiencias en la glicosilasas de la ruta BER en el desarrollo tumoral. Modificado de Weren et al (93). .....	46
Figura 14. Esquema de la formación de Heterodúplex tras la desnaturalización y posterior renaturalización del producto de PCR. Las hebras madre, tras la desnaturalización, pueden renaturalizarse con su hebra complementaria correspondiente, o con la hebra complementaria del otro alelo. Si existe un cambio de nucleótido en heterocigosis dentro del fragmento amplificado, la renaturalización puede generar Heterodúplex, es decir apareamiento entre dos hebras que son complementarias en todos los nucleótidos excepto uno, generando un	



---

desapareamiento en este punto, lo que genera un cambio en la conformación del DNA, detectable por CSGE.....	72
Figura 15. Electroforesis en gel sensible a la conformación (CSGE), donde se muestra el patrón de una mutación. ....	73
Figura 16. Secuencia de nucleótidos correspondiente a un fragmento del gen NOMO. ....	75
Figura 17. Diagrama de flujo del estudio .....	80
Figura 18. Sexo de la población total .....	81
Figura 19. Distribución por rangos de edad. ....	82
Figura 20. Distribución por sexos .....	87
Figura 21. Distribución de los pacientes fallecidos/vivos .....	87
Figura 22. Frecuencia de detección mediante criterios clínicos .....	94
Figura 23. Frecuencia de detección en función de cada criterio clínico. ....	95
Figura 24. Distribución de cirugías profilácticas en la población total.....	103
Figura 25. Distribución de las cirugías profilácticas en función del estado mutacional. ....	104
Figura 26. Edad al 1º pólipo de los pacientes con VP en APC. ....	105
Figura 27. Tipos histológicos de poliposis en los pacientes con VP en APC.....	107
Figura 28. Edad al 1º pólipo de los pacientes con mutación homocigótica en MUTYH .....	108
Figura 29. Tipo histológico de las poliposis en pacientes con VP homocigótica en MUTYH ....	109
Figura 30. Edad al 1º pólipo de los pacientes con VP heterocigótica en MUTYH .....	110
Figura 31. Nº de pacientes con VP heterocigótica en MUTYH en función de la histología de sus pólipos.....	111
Figura 32. Edad al 1º pólipo en pacientes con VSD en APC .....	112
Figura 33. Nº de pacientes con VSD en APC en función de la histología de sus pólipos .....	113
Figura 34. Edad al 1º pólipo en pacientes sin VP ni VSD.....	114
Figura 35. Nº de pacientes sin VP ni VSD en APC y MUTYH en función de la histología de sus pólipos.....	115
Figura 36. Distribución población total de las ME. ....	118
Figura 37. Distribución de los tipos de ME.....	119
Figura 38. ME en pacientes con VP en APC.....	120
Figura 39. Pacientes con VP homocigótica en MUTYH y ME .....	121
Figura 40. Pacientes con VP heterocigótica en MUTYH y ME .....	121
Figura 41. Pacientes con VSD en APC y ME.....	122
Figura 42. Pacientes sin VP ni VSD con ME .....	122
Figura 43. Biplot canónico de los dos primeros ejes donde se han proyectado las observaciones de cada grupo. (Edad; Edad al 1º pólipo: Edad1pol; Nº de metástasis: Metast; Éxito; CCR:	

---

Ccolon; Nº de colonoscopias previas: Ncolonopre; Nº de manifestaciones extraintestinales:  
Ncomplic; Nº de pólipos en colon izquierdo: PolColizq; Nº de colonoscopias totales:  
Ncolonostotales; Nº de pólipos totales: Poltotal; Nº de pólipos en colon derecho; PolColDer).  
..... 125



# **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad del mundo (1). La *International Agency for Research on Cancer* (IARC) estimó que en el año 2020 se diagnosticaron aproximadamente 18,1 millones de casos nuevos de cáncer en el mundo (excluyendo los tumores cutáneos no melanoma), y que dicha cifra aumentará en las dos próximas décadas hasta los 27,0 millones (Figura 1). Sin embargo, sabemos que la pandemia de la Covid-19 ha afectado al número de diagnósticos de cáncer en muchos países por lo que probablemente el número real de cánceres diagnosticados en 2020 habrá sido menor (2).

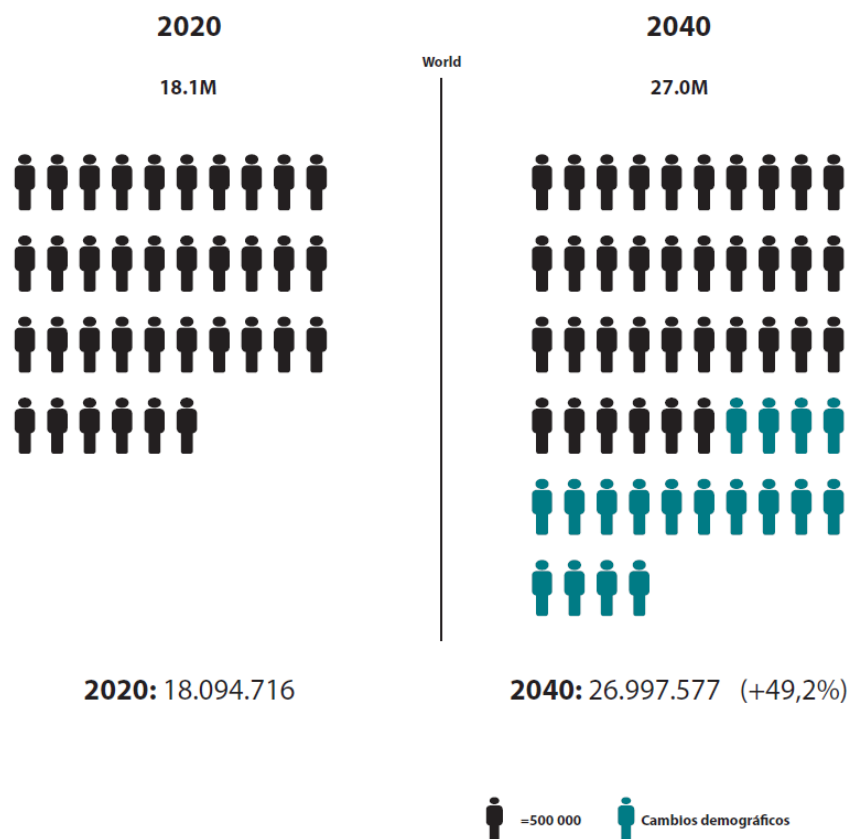


Figura 1. Incidencia estimada de tumores en la población mundial para los años 2020 y 2040, ambos sexos (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (2).

Los tumores más frecuentemente diagnosticados en el mundo en el año 2020 fueron los de mama (que ocupa la primera posición), pulmón, colon y recto, próstata y estómago, todos ellos con más de un millón de casos (Figura 2).

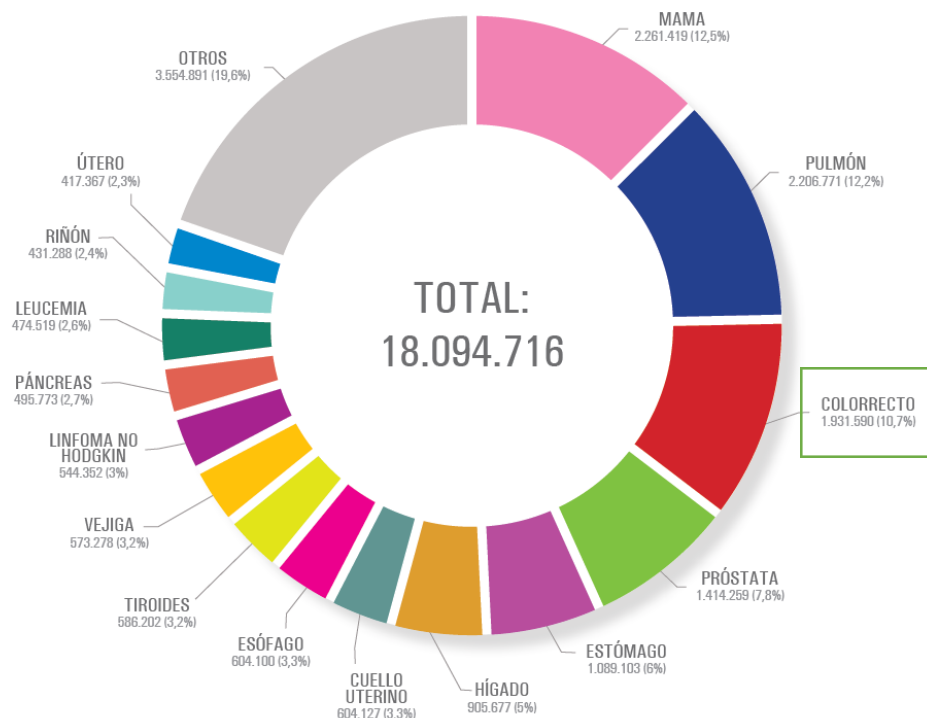


Figura 2. Tumores más frecuentemente diagnosticados en el mundo. Estimación para el año 2020, ambos sexos (excluidos tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (2).

Atendiendo a la mortalidad, el cáncer de pulmón ocupa el primer lugar, seguido del cáncer colorrectal. En tercer y cuarto lugar, encontramos el cáncer de estómago y el cáncer de hígado (Figura 3). En el análisis por sexos, en varones la causa más elevada de mortalidad es el cáncer de pulmón seguido del cáncer de hígado y el cáncer de estómago. En mujeres, el cáncer de mama es la causa más frecuente, seguido de cáncer de pulmón y cáncer colorrectal (Figura 4).

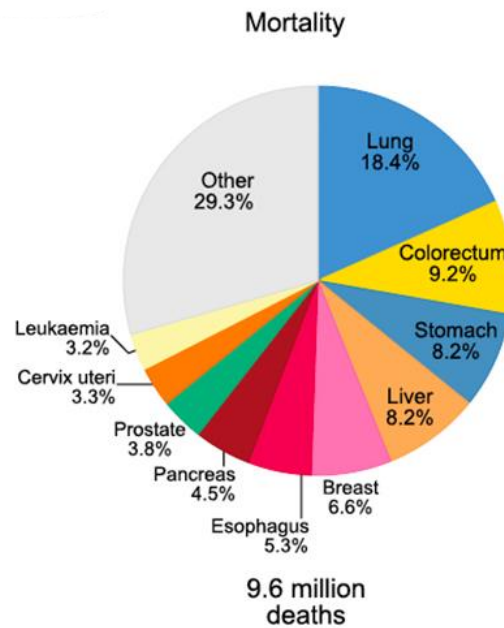


Figura 3. Mortalidad por cáncer a nivel mundial. Modificado de Globocan 2020 (2).

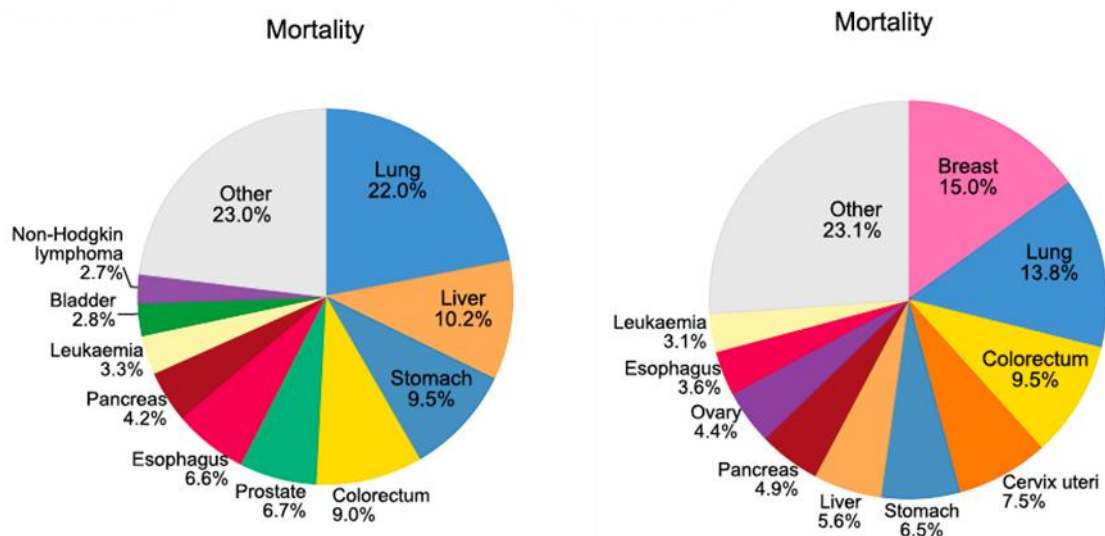


Figura 4. Mortalidad por cáncer a nivel mundial por sexos (hombres derecha, mujeres izquierda). Modificado de Globocan 2020 (2).

En España, el cáncer es también una de las principales causas de morbi-mortalidad. El número de cánceres diagnosticados en España en el año 2023 se estima que alcanzará los 279.260 casos según los cálculos de REDECAN (3), lo que supone una estabilización con respecto al año anterior (Tabla 1). Al igual que se espera un incremento en la incidencia del cáncer a nivel mundial, en España se estima que en 2040 la incidencia alcance los 341.000 casos (Figura 5).

Sin embargo, igual que a nivel mundial, la realidad del año 2023 puede ser ligeramente diferente, ya que esta estimación no incluye el posible efecto de la pandemia de la COVID-19. Por ejemplo, a causa de la pandemia de la Covid-19 los programas de cribado de cáncer se vieron afectados en mayor o menor grado por lo que, con toda probabilidad, el número de cánceres colorrectales y de mama, finalmente, diagnosticados en 2020 fue menor al esperado. Del mismo modo, no está claro cómo todo esto afectó al número de diagnósticos de cáncer del año 2021 y 2022.

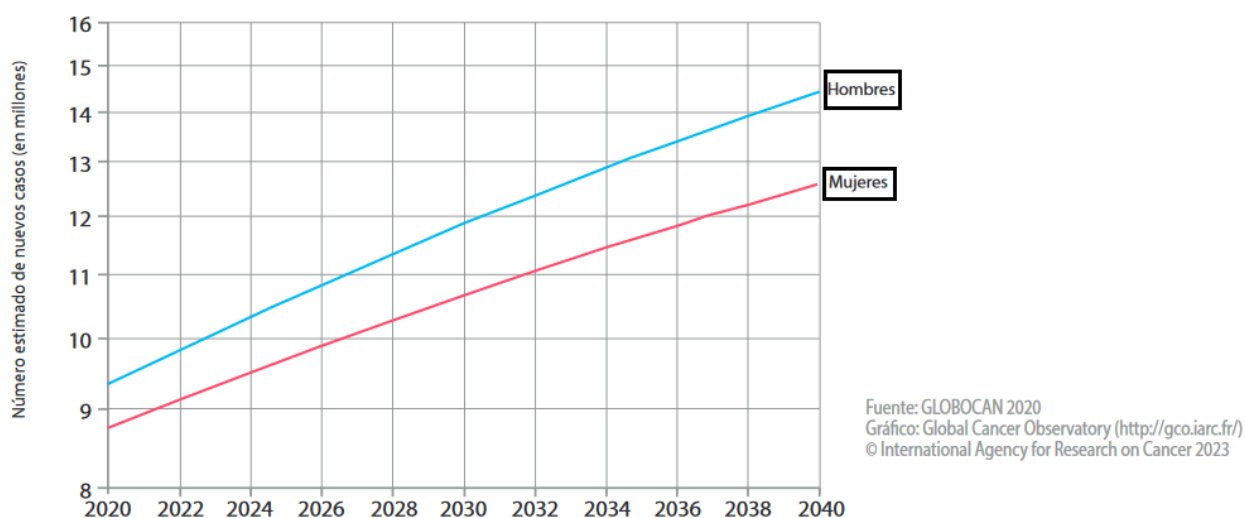


Figura 5. Incidencia estimada de tumores en España para los años 2020 y 2040, por sexos (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de Globocan 2020 (3).

Tabla 1. Estimación del número de nuevos casos de cáncer en España para el año 2023 (excluidos los tumores cutáneos no melanoma). Modificado de REDECAN (3).

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
<45 años	6.070	10.315	16.385
45 a 64 años	51.418	47.054	98.472
≥65 años	101.057	63.346	164.403
Todas las edades	158.544	120.715	279.260



Los cánceres más frecuentemente diagnosticados en España en 2023 serán los de colon y recto (42.721 nuevos casos), mama (35.001), pulmón (31.282), próstata (29.002) y vejiga urinaria (21.694). A mucha distancia, los siguientes cánceres más frecuentes serán los linfomas no hodgkinianos (9.943), el cáncer de páncreas (9.280), el de riñón (8.626), el melanoma maligno cutáneo (8.049), los cánceres de cavidad oral y faringe (7.882), y los cánceres de cuerpo uterino (7.171), estómago (6.932) e hígado (6.695) (Tabla 2).

Tabla 2. Estimación del número de nuevos casos de cáncer en España para el año 2023 según tipo tumoral (excluidos los cánceres cutáneos no melanoma (ambos sexos. Modificado de REDECAN (3).

TIPO TUMORAL	N
Cavidad oral y faringe	7.882
Esófago	2.302
Estómago	6.932
Colon	28.465
Recto	14.256
Hígado	6.695
Vesícula biliar	2.648
Páncreas	9.280
Laringe	3.378
Pulmón	31.282
Melanoma de piel	8.049
Mama	35.001
Cérvix uterino	2.326
Cuerpo uterino	7.171
Ovario	3.584
Próstata	29.002
Testículo	1.510
Riñón (sin pelvis)	8.626
Vejiga urinaria	21.694
Encéfalo y sistema nervioso	4.072
Tiroides	6.084
Linfoma de Hodgkin	1.539
Linfomas no hodgkinianos	9.943
Mieloma	3.082
Leucemias	6.411
Otros	18.046
Todos excepto piel no melanoma	279.260

En España, la prevalencia a nivel global la encabeza el cáncer de mama con más de 120.000 pacientes diagnosticados de este tumor actualmente en nuestro país (3). El segundo lugar, lo ocupa el cáncer colorrectal, seguido del cáncer de próstata y del de pulmón (Figura 6). Por sexos, en el varón el 25% de los pacientes diagnosticados, actualmente, de cáncer lo son por cáncer de próstata. El segundo lugar lo ocupa el cáncer colorrectal, seguido del cáncer de vejiga. En las mujeres, el cáncer de mama representa el 36% de los tumores diagnosticados en España en mujeres en el momento actual, seguido del cáncer colorrectal y del cáncer de endometrio.

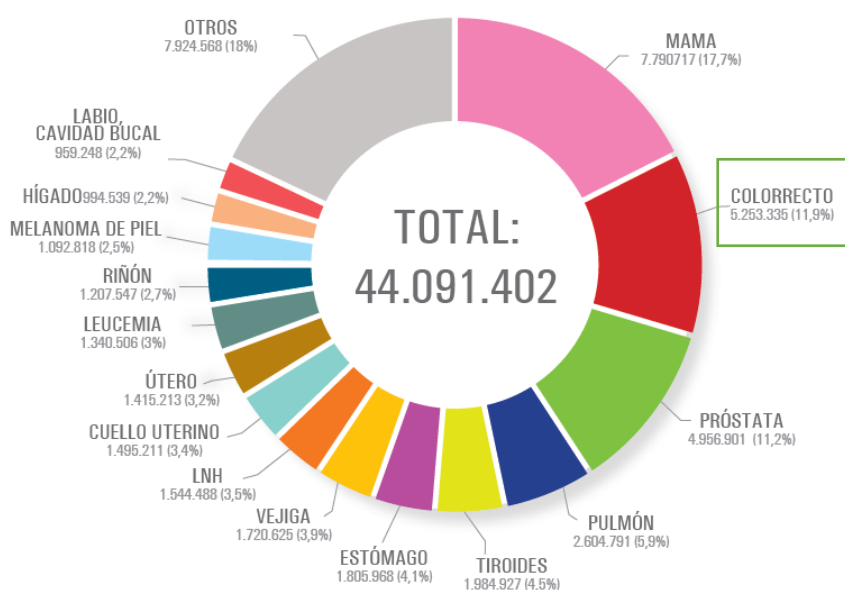


Figura 6. Estimación de la prevalencia a los 5 años del diagnóstico de cáncer a nivel mundial para el año 2020. Modificado de GLOBOCAN 2020 (2).

El INE ha publicado recientemente los datos de mortalidad en España en el año 2021, con 445.744 defunciones, lo que supone una disminución de la tasa bruta de mortalidad del 8.7% respecto al año previo. En este periodo de tiempo, los tumores constituyeron la segunda causa de muerte en España (25,2% de los fallecimientos, 116.662), con un aumento del 0,8% respecto al año anterior y sólo por detrás de las enfermedades del sistema circulatorio (26,4% de las muertes, 119.853) (4). Las enfermedades infecciosas fueron la tercera causa del muerte con el 10,2% del total, 39.444 con identificación positiva de COVID-19 y 595 adicionales con alta sospecha. En el año 2020, fueron 80796 muertes por COVID-19 y 14.418 con alta sospecha, por tanto, a pesar de la crudeza de la

pandemia de la COVID-19, el cáncer siguió siendo responsable de más muertes que el COVID-19 en el año 2020 (3).

En varones, los tumores han seguido siendo la principal causa de mortalidad en España en 2021 (67.884), por delante de las enfermedades cardiovasculares (55.905) e infecciosas (25.728). En mujeres, las enfermedades cardiovasculares fueron la principal causa de mortalidad (63.291), seguidas de los tumores (45.818) y las enfermedades infecciosas (20.273)

Entre los fallecimientos por tumor, las causas más frecuentes en España en 2021, como en años anteriores, fueron los cánceres de pulmón, colon, páncreas, mama y próstata (Tabla 3).

De forma general, la mortalidad por cáncer en España ha experimentado un fuerte descenso en las últimas décadas (Figura 7). Estas tendencias reflejan las mejoras en la supervivencia de los pacientes con tumores debido a las actividades preventivas, las campañas de diagnóstico precoz, los avances terapéuticos, y, en varones, la disminución de la prevalencia del tabaquismo. Otros cambios, como el aumento de cáncer de pulmón atribuible a la contaminación, los tratamientos para el virus de la hepatitis, etc., tardarán en evidenciarse.

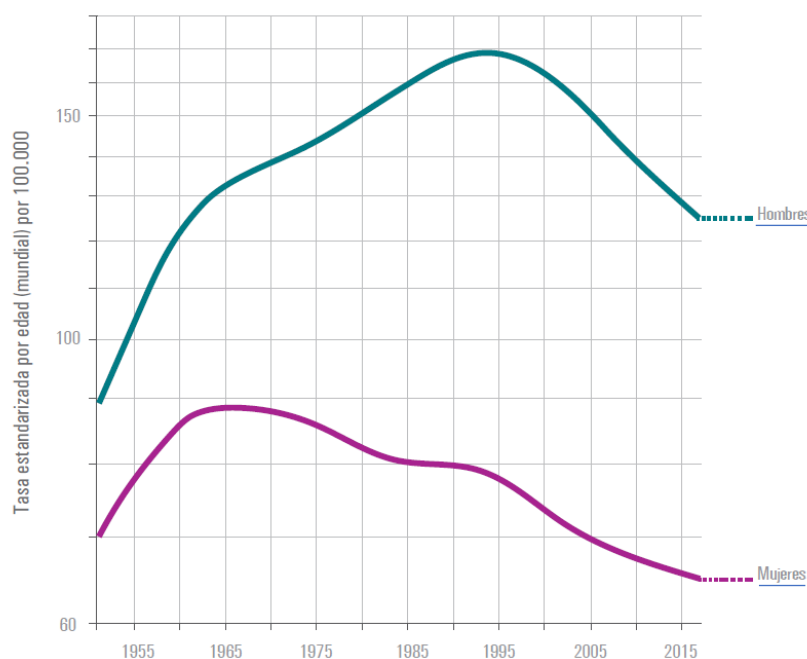


Figura 7. Evolución temporal de la mortalidad estandarizada por tumores en España. Modificado de GLOBOCAN 2020 (2).

Tabla 3. Fallecimientos por tumores en España en 2021, por causa, ambos sexos. Modificado de INE (4).

	 Total
Tumores	113.662
Tumor maligno del labio, de la cavidad bucal y de la faringe	2.451
Tumor maligno del esófago	1.780
Tumor maligno del estómago	4.838
Tumor maligno del colon	11.021
Tumor maligno del recto, de la porción rectosigmoide y del ano	4.017
Tumor maligno del hígado y vías biliares intrahepáticas	5.066
Tumor maligno del páncreas	7.663
Otros tumores malignos digestivos	2.515
Tumor maligno de la laringe	1.158
Tumor maligno de la tráquea, de los bronquios y del pulmón	22.438
Otros tumores malignos respiratorios e intratorácicos	476
Tumores malignos del hueso y de los cartilagos articulares	352
Melanoma maligno de la piel	1.056
Otros tumores malignos de la piel y de los tejidos blandos	1.675
Tumor maligno de la mama	6.614
Tumor maligno del cuello del útero	697
Tumor maligno de otras partes del útero	1.628
Tumor maligno del ovario	1.979
Tumores malignos de otros órganos genitales femeninos	626
Tumor maligno de la próstata	5.889
Tumores malignos de otros órganos genitales masculinos	180
Tumor maligno del riñón, excepto pelvis renal	2.270
Tumor maligno de la vejiga	4.464
Otros tumores malignos de las vías urinarias	1.770
Tumor maligno del encéfalo	3.175
Otros tumores malignos neurológicos y endocrinos	624
Tumor maligno de sitios mal definidos, secundarios y de sitios no especificados	4.836

---

## 1. CÁNCER COLORRECTAL

### 1.1 EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer colorrectal (CCR) representa el tercer tipo de neoplasia con mayor incidencia en el mundo (10,7%), tras el cáncer de mama (12,5%) y el de pulmón (11,7%) y la segunda causa de muerte por cáncer a nivel global (1, 2). En España, el CCR ocupa el primer puesto en incidencia y el segundo en mortalidad (3). El cáncer de colon es más frecuente en las mujeres y el de recto en el hombre. Se presentan de manera sincrónica o metacrónica en el 5% de las ocasiones.

Sin embargo, aunque estudiados juntos, el cáncer de colon y el de recto presentan características, al menos epidemiológicas, muy diferentes. Por un lado, el cáncer de colon (que ocupa el 70%) se ha ido haciendo cada vez más frecuente en los países industrializados y está claramente relacionado con factores ambientales, mientras que la incidencia del cáncer de recto no parece haber variado y el porcentaje de presentación es muy similar en todos los países (1, 5, 6).

### 1.2 ETIOLOGÍA Y EVOLUCIÓN NATURAL

#### **La edad**

La edad es el factor que más influye por encima de cualquier otro factor demográfico. La mayor incidencia se sitúa entre los 65-80 años. Esta aumenta de manera sostenida desde los 35 años de menos de 2 casos por 100.000 habitantes hasta los 400 después de los 85 años (1, 7).

#### **Dieta y estilos de vida**

Los estudios epidemiológicos, así como experimentales realizados en animales, han puesto de manifiesto que el cáncer colorrectal es causado o promovido por factores medioambientales, especialmente por factores dietéticos que afectan al microambiente intestinal (7).

El cáncer de colon se encuentra en aumento en los países occidentales y del norte de Europa, en EE.UU. y en Nueva Zelanda, principalmente en los grupos sociales

económicamente más altos. Por el contrario, su incidencia va a la baja en otros países o continentes como Japón, África, Asia y América del Sur.

El consumo de dietas pobres en fibra, fruta y verdura y ricas en grasas animales, carnes rojas y procesadas, constituyen un factor de riesgo, ya que promueven la secreción de ácidos biliares, la formación de cetosteroides y cambios en la flora intestinal que conllevan a la aparición de sustancias potencialmente carcinogénicas, además de inducir a la proliferación en la luz intestinal (8).

Algunos micronutrientes como la vitamina D o el calcio parecen ser factores protectores del cáncer colorrectal, al igual que el consumo de pescado, rico en ácidos grasos omega 3 (Figura 8).

El alcohol, el tabaco, la obesidad y la inactividad física se asocian con el aumento de riesgo de CCR (7, 8 y 9).

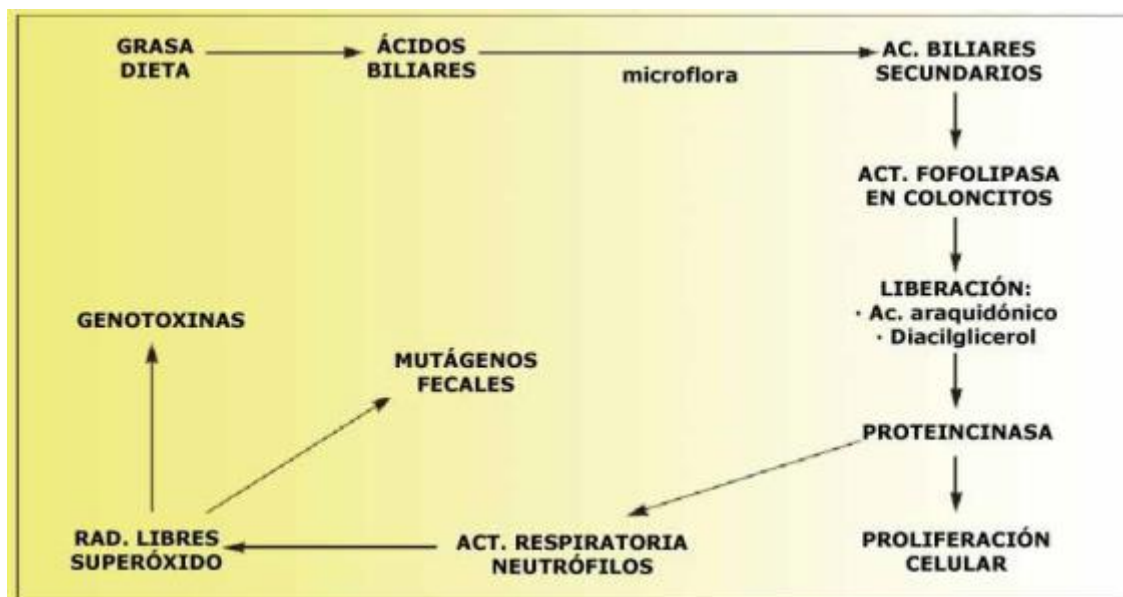


Figura 8. Secuencia de la carcinogénesis en el cáncer colorrectal partiendo de una dieta rica en grasas. (Medicine) (7).

La ciclooxigenasa (COX-2) junto con otras enzimas oxigenadoras y una dieta rica en grasas, genera un estrés oxidativo crónico y, por tanto, una injuria celular que, si no es reparada por los agentes detoxificadores como el glutatión (GSH) o por genes reparadores del DNA, puede determinar la aparición de células tumorales, especialmente cuando los mecanismos normales de apoptosis no entran en funcionamiento (7).

---

Por último, cabe destacar que la microbiota puede desempeñar un papel fundamental en la carcinogénesis e incluso en la modulación de respuesta a tratamientos como la inmunoterapia en términos de eficacia y toxicidad (10). La multidisciplinariedad en esta línea de investigación (oncología, inmunología, digestivo, anatomía patológica, bioinformática) es fundamental para analizar y comprender los datos derivados de la misma.

### **Factores hereditarios**

El 75-80% de los cánceres colorrectales son de tipo esporádico, mientras que en el 20-25% restante aparece un componente familiar (familiares de primer y/o segundo grado afectados de CCR). Sin embargo, solamente el 5-7% presentan una predisposición hereditaria mediante un patrón mendeliano (1, 5 y 6).

- a) Antecedentes familiares. El riesgo para aquellos con dos o más parientes de primer grado afectados, aumenta el riesgo al triple (1).
  
- b) Síndrome de Lynch o Cáncer colorrectal hereditario no polipósico (3-5% de los CCR): es el síndrome hereditario de predisposición al CCR más frecuente, sigue un patrón de herencia autosómico dominante (11). Está causado por alteraciones germinales en los genes de reparación del ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). Puede asociar otros tumores extracolónicos (endometrio, ovario, gástrico, vías biliares, urinarias, SNC, mama, etc). La penetrancia de CCR se sitúa en el 80%, siendo menor para el resto de los tumores (endometrio 40-60%, ovario 9-12%, gástrico 2-13%). Una de las principales características es la edad temprana de aparición del CCR (menores de 45 años); además tiene unas características fenotípicas como la apetencia por el colon derecho, la desdiferenciación de los tumores o la histología mucinosa o con células en anillo de sello (12, 13, 14 y 15).
  
- c) Poliposis adenomatosa familiar (0,5% de los CCR): sigue un patrón de herencia autosómico dominante, originada por mutaciones del gen APC, localizado en el cromosoma 5 (16, 17, 18). Se caracteriza por la presencia de más de 100 pólipos en colon y recto (cientos o miles) que, invariablemente darán lugar a la aparición de CCR (penetrancia del 100%) si no se establecen medidas preventivas (cirugía profiláctica) (19). Puede asociar manifestaciones extracolónicas como pólipos en

---

tracto digestivo superior, tumores desmoides, hipertrofia del epitelio pigmentario de la retina, osteomas, quistes epidérmicos, tumores hepatobiliares, de tiroides o del SNC (cuando asocia manifestaciones extracolónicas, también se le conoce como síndrome de Gardner o si se acompaña de gliomas, síndrome de Turcot) (20, 21, 22). Esta parte será ampliamente desarrollada posteriormente.

### **Patología colónica previa (7, 24, 26)**

- *Pólipos*: El riesgo depende del tamaño y del tipo de pólipo. El adenoma vellosos y vellosos-tubular, los mayores de 2 cm y los múltiples son los que más potencial maligno presentan (27, 28).
- *Enfermedad intestinal inflamatoria*: Colitis ulcerosa y Enfermedad de Crohn en relación con el tiempo de evolución y severidad de la enfermedad, siendo más frecuente en la colitis ulcerosa (29).
- *Ureterosigmoidostomía*: Tiempo de latencia de 15-30 años, sobre todo si es distal (30, 31).
- *Cáncer colorrectal*: el riesgo de presentar tumores metacrónicos en los primeros 5 años es del 1,5-3% (32).

### **1.3 HISTORIA NATURAL (33, 34, 35)**

La mayoría de los cánceres de colon y recto se desarrollan a partir de un adenoma, siguiendo el modelo de Volgestein en un proceso que dura 10-15 años (36, 37); sin embargo, algunos pueden aparecer de novo sin existencia previa de una lesión adenomatosa por mecanismos de carcinogénesis diferentes (38).

Se han identificado dos grandes vías de carcinogénesis en el desarrollo del CCR, por tres mecanismos diferentes (7): la vía supresora o de inestabilidad cromosómica (CIN) y la vía de inestabilidad de microsatélites (IMS). Esta última puede venir ocasionada por una vía mutadora o metiladora -fenotipo metilador de islas de CpG (CIMP)- (Figura 6) (39, 40). La vía de CIN es la más frecuente, tanto en CCR esporádico como en los síndromes de poliposis hereditarios, y se caracteriza por la activación de los oncogenes *K-RAS* y *c-MYC*, y la inactivación de genes supresores del crecimiento tumoral; *APC*, *DCC*, *p53*, *TGFBR* o *PIK3CA* (23, 24). La IMS puede producirse por mutaciones germinales en los



genes reparadores del ADN del sistema *mismatch repair* (MMR), es el que tiene lugar en el síndrome de Lynch, y produce acumulación de mutaciones a lo largo de todo el genoma siendo especialmente sensibles las regiones de los microsatélites (Fenotipo Mutador) (41, 42 y 43). La IMS también puede ser consecuencia de la vía de carcinogénesis CIMP, en este caso tiene como mecanismo iniciador la mutación activadora de *BRAF*, lo que ocasiona una inhibición de la apoptosis y un silenciamiento epigenético por hipermetilación de los islotes CpG de la región promotora de genes supresores dando lugar al CCR (Figura 9) (21, 44, 45).

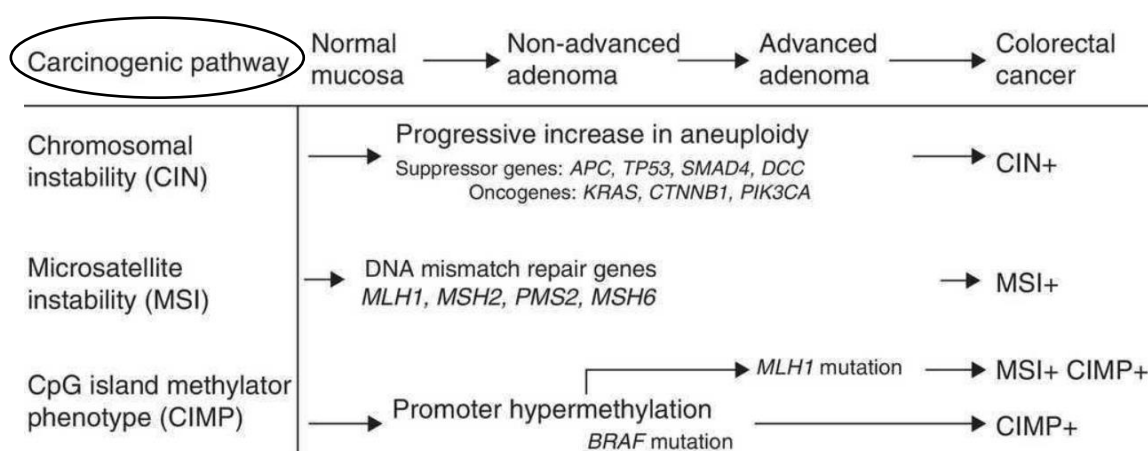


Figura 9. Vías de carcinogénesis de carcinoma colorrectal. Modificado de Manrique Areses et al (21).

A nivel histológico, la expresión más incipiente es la aparición de focos de criptas aberrantes que dan lugar a la formación de focos de adenomas microscópicos (46). Con el tiempo estos cambios avanzan hasta la superficie epitelial dando lugar al pólipo. La evolución de pólipo a carcinoma tiene lugar a lo largo de los años (1, 47, 48).

Posteriormente, en la etapa invasora de carcinoma, la progresión se hace de forma ordenada, con tendencia al crecimiento circular e invadiendo las diferentes capas de la pared colónica (49). La diseminación locorregional, también, suele ser ordenada, invadiendo primero los ganglios paracólicos y pararrectales para luego extenderse a los mesentéricos. A partir de aquí, la diseminación depende de la localización primaria del tumor: los situados a menos de 3 cm del margen anal se diseminan hacia los linfáticos inguinales, los situados entre 3 y 8 cm hacia los ganglios linfáticos ilíacos internos, a más de 8 cm hacia los ganglios linfáticos mesentéricos superiores y el localizado en el colon hacia los ganglios linfáticos mesentéricos superiores (22, 23, 50).

---

La diseminación hematológica se realiza desde las estaciones ganglionares afectadas. Lo más habitual es el drenaje portal y, por tanto, el principal asiento de metástasis el hígado, seguido de pulmón, huesos y otras localizaciones. Sin embargo, los tumores distales (principalmente recto), pueden dar lugar a metástasis pulmonares de inicio por el drenaje vía vena cava inferior (sin pasar por la porta) (21, 51, 52).

## 1.4 ANATOMÍA PATOLÓGICA

### Localización

Considerando en conjunto el CCR, la localización predominante es el recto (45%) y el sigma (25%). Cuando se tiene en cuenta el colon de forma aislada el orden de frecuencia es colon descendente > colon transversal > colon ascendente. En el 3% de los casos de cáncer colorrectal se observan tumores sincrónicos, y en el 2%, metacrónicos (1, 7).

### Histología

Más del 95% de los carcinomas colorrectales son adenocarcinomas (ADC), siendo el ADC tubular o glandular el más frecuente, aunque se describen otros subtipos de ADC como el mucinoso, de células en anillo de sello o medular (53, 54). Otros tipos menos frecuentes son: carcinoma adenoescamosos, sarcoma, linfoma, tumor carcinoide, melanoma en la unión anorrectal y carcinoma indiferenciado (7, 24).

### Biomarcadores

En CCR se han descrito biomarcadores de utilidad clínica tanto en enfermedad localizada como en enfermedad avanzada (56).

La *European Society for Medical Oncology* (ESMO) recomienda la determinación del estatus de RAS (KRAS y NRAS), BRAF y MSI y/o inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras del DNA (MMR), siendo también recomendable la determinación de HER2 en enfermedad avanzada, puesto que serán determinantes de cara a la elección del tratamiento más adecuado en cada momento evolutivo de la enfermedad. Por otra parte, en enfermedad localizada, el único biomarcador de utilidad clínica hasta el momento, es la determinación de MSI/MMR. En ambos casos, enfermedad localizada y avanzada, el análisis de MSI/MMR sirve, también, como cribado de síndrome de Lynch (6, 56 y 57).

---

## 2. SÍNDROMES PÓLIPÓSICOS DE PREDISPOSICIÓN AL CCR

La poliposis gastrointestinal es un problema clínico común en el que aún no se ha encontrado un consenso sobre el mejor manejo de los pacientes con un moderado número de pólipos y sin mutación germinal (18). Cada año en nuestro país se diagnostican más de 34.000 casos de cáncer colorrectal, y más del 95% de ellos se desarrollan a partir de un pólipo adenomatoso, un hallazgo frecuente en las colonoscopias de despistaje, y cuya prevalencia aumenta con la edad y el sexo masculino. Individuos con varios pólipos tienen un mayor riesgo para desarrollar cáncer colorrectal y alguno de ellos puede tener un síndrome hereditario de poliposis (58).

Los síndromes hereditarios de poliposis son entidades poco frecuentes, genética y clínicamente heterogéneas, con características que a menudo solapan uno o más de los distintos síndromes, y en las que la identificación de su causa genética repercute favorablemente en el pronóstico y vigilancia de los afectados. Los pólipos gastrointestinales se clasificaron tradicionalmente en dos grupos principales: adenomas y pólipos hiperplásicos (59). Los primeros con un gran potencial de malignización, precursores de la mayoría de los cánceres colorrectales, y los segundos considerados inocuos durante mucho tiempo. Esta clasificación elemental ha evolucionado clínica, histológica y molecularmente, hasta la distribución en cuatro grandes grupos: poliposis adenomatosas, poliposis hamartomatosas, poliposis serradas y poliposis mixtas, las dos primeras incluyendo diferentes entidades (Figura 10). Junto a la presencia de uno u otro tipo de pólipos, estos síndromes exhiben una serie de manifestaciones extracolónicas cuyo reconocimiento es esencial para orientar el diagnóstico y el estudio genético.

Los mayores riesgos se producen en las poliposis adenomatosas asociadas a mutaciones en los genes APC o MUTYH. Mientras que las mutaciones en genes como SMAD4 o BMPR1A se asocian a riesgos más moderados. Las mutaciones en algunos de estos genes confieren, además, riesgo para desarrollar tumores extracolónicos, a veces mucho más elevados que los del propio cáncer colorrectal (60).

Las guías NCCN (61) indican que cualquier individuo con las características reseñadas a continuación, precisa una valoración de riesgo para descartar que pueda padecer un síndrome polipósico:

- > 10 pólipos adenomatosos, o
- $\geq 2$  pólipos hamartomatosos, o
- $\geq 5$  pólipos serrados en el colon proximal, o
- $\geq 1$  familiar afecto de poliposis.

La presencia de >10 pólipos adenomatosos puede ser causado por la Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF), la Poliposis Adenomatosa Familiar Atenuada (PAFA) o la Poliposis por mutaciones bialélicas en el gen *MUTYH* (PAM).

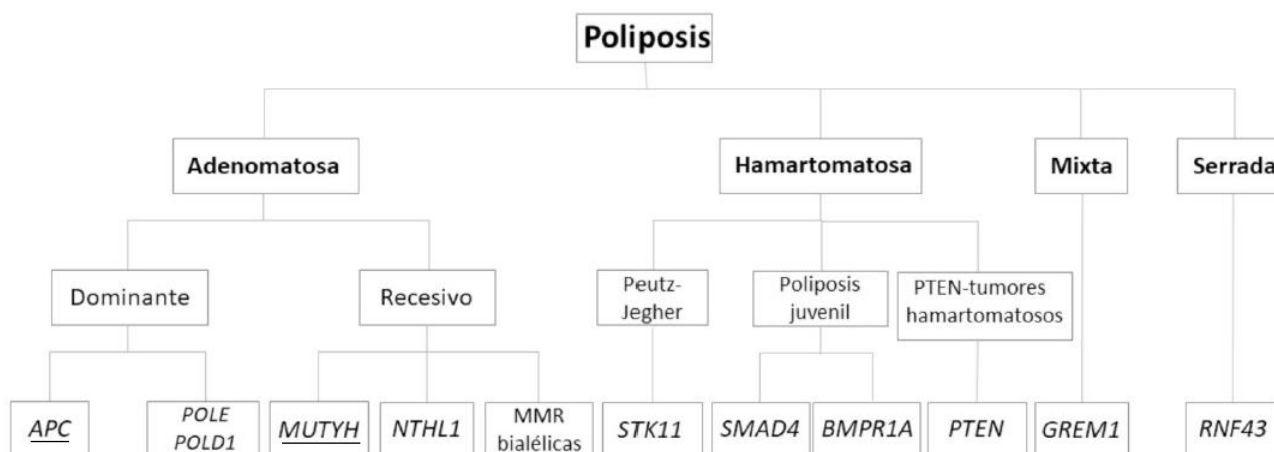


Figura 10. Clasificación de los síndromes polipósicos y principales genes responsables. Modificado de Valle L (58, 18).

## 2.1 POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR

La PAF es el segundo síndrome de cáncer colorrectal hereditario en orden de frecuencia, por detrás del síndrome de Lynch (60, 62). Representa cerca del 1% de todos los cánceres colorrectales (18). La forma clásica de la enfermedad se caracteriza por la aparición desde una edad temprana, de cientos o miles de adenomas a lo largo de todo el colon y un riesgo de sufrir cáncer colorrectal del 100% si no se adoptan medidas preventivas, como la colectomía (63). Hay una forma atenuada de la enfermedad (PAFA) con manifestaciones más leves, una aparición más tardía de los pólipos y, por lo general, con un número de

---

adenomas que no excede de cien. Microscópicamente, la mayoría de los adenomas se inician a partir de criptas displásicas - *aberrant crypt foci* o ACF, que se piensa son las lesiones precursoras de los adenomas y el subsiguiente cáncer-, que posteriormente adquieren una arquitectura tubular (64, 65).

### **Gen APC y la ruta canónica Wnt/b-catenina.**

Las primeras familias identificadas con PAF se ajustaban a un modelo de herencia autosómico dominante. Entre los años 1987 y 1991 se identificó el locus de APC en el brazo largo del cromosoma 5 en pacientes con poliposis adenomatosa y deleciones constitucionales de la región cromosómica 5q21, y tiempo después, se asociaron las mutaciones en el gen APC con el desarrollo de la PAF (66).

El gen APC es un gen supresor de tumores que consta de veintiún exones, quince de ellos codificantes, un tamaño de 8.532 bp que se trasladan a una proteína que, en su isoforma más frecuente, tiene 2.843 aminoácidos (67). Las alteraciones del gen APC son eventos tempranos, sino iniciadores, del 80- 85% de todos los cánceres colorrectales, exceptuando aquellos que muestran un fenotipo CIMP por metilación de las islas CpG, o los que se desarrollan por inestabilidad de microsatélites, consecuencia de la deficiencia de los genes MMR. La proteína APC cumple funciones importantes en la ruta de señalización Wnt, y se relaciona con procesos celulares como la apoptosis, diferenciación neuronal, adhesión y migración celular, así como en la segregación de los cromosomas (68).

La ruta de señalización Wnt/b-catenina, altamente conservada a lo largo de la evolución, desempeña funciones esenciales durante el desarrollo embrionario normal y a lo largo de la vida, en el mantenimiento de la homeostasis en, virtualmente, todos los tejidos. Consta de al menos 3 vías diferentes de las cuales la principal se conoce como vía canónica (*Canonical Wnt pathway*), en la que APC desempeña un papel central (Figura 16). APC junto con AXIN2 y GSK3-b forma el “complejo de destrucción de la b-catenina”, marcándola para su degradación por el proteosoma. Cuando APC está mutado, la b-catenina se acumula en exceso en el citoplasma y pasa al núcleo. En el núcleo, la b-catenina forma un complejo con el factor de transcripción de las células T (TCF) o con el *lymphoid enhancer factor* (LEF), que activa la expresión de varios genes implicados en

proliferación y transformación, como c-MYC, c-Jun, CCND1 (el gen que codifica la ciclina D1), EGFR, CD44, CD133, LGR5, y otros (68).

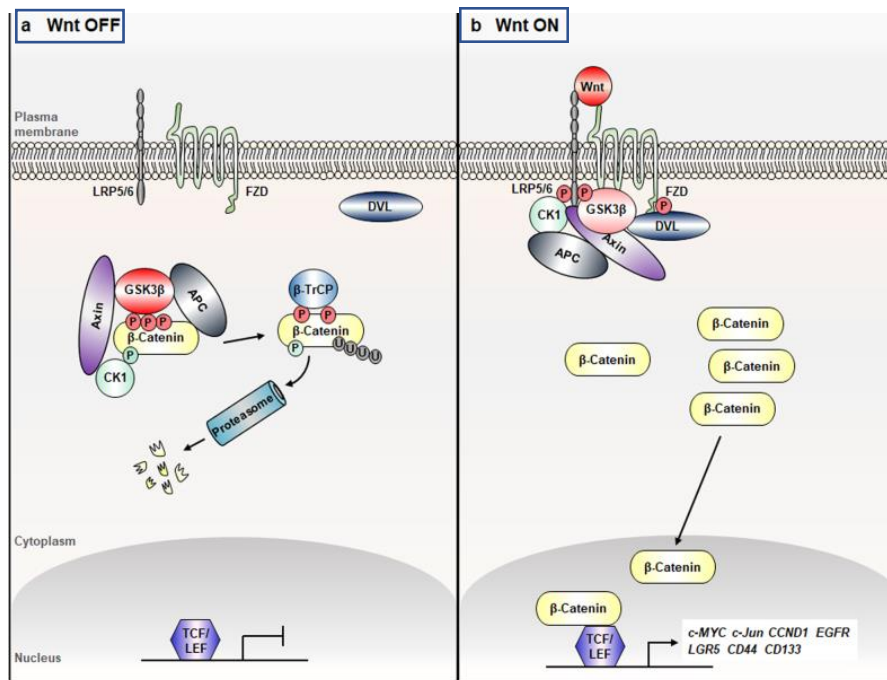


Figura 11. La ruta de señalización canónica Wnt/B- catenina. Modificado de Jeong et al (68).

Mutaciones en APC explican un elevado porcentaje de los casos con PAF, con una clara desigualdad entre las tasas de mutación detectadas en las formas de PAF clásica, aproximadamente un 75-85% y las atenuadas, alrededor del 30-50%. No obstante, la mayor capacidad de detección de las nuevas tecnologías de análisis, ha puesto en evidencia que algunos casos clasificados como APC negativos, tenían mutaciones heterocigotas en APC, alteraciones en la secuencia promotora, mutaciones en áreas intrónicas alejadas, reordenamientos genómicos complejos, o mutaciones somáticas o mosaicismos de APC (60).

La mayoría de las mutaciones en APC se concentran en la mitad 5' del gen. El 75% aproximadamente, de la secuencia codificante del gen corresponde al codón 15, que es el área que concentra un mayor número de mutaciones tanto germinales, como somáticas. Asimismo, dentro de este codón 15, hay zonas con mayor tasa de mutaciones como la región MCR (*Mutation Cluster Region*). Los codones 1.061 y 1.309 del MCR son puntos especialmente "calientes" por la presencia de secuencias altamente repetitivas, donde la posibilidad de fallo por deslizamiento de la polimerasa es mayor.

---

Los individuos con PAF heredan una mutación inactivante en uno de los alelos del gen APC, y en el adenoma o en el adenocarcinoma, adquieren una segunda mutación en el otro alelo. La aparición de mutaciones bialélicas es un evento temprano en los individuos con PAF (18, 60).

Se ha propuesto que el carácter del primer *hit* mutacional en la PAF condiciona el segundo. Así la mutación germinal, la heredada, influye, o determina, el tipo y la localización de la mutación somática (60).

Más del 90% de las mutaciones en APC generan codones de parada prematuros que derivan en productos truncados, la mayoría, estables, y, aproximadamente, el 60% de todos ellos ocurre en la MCR (69, 70).

La expresión estable de la proteína APC truncada se ha detectado en pacientes con PAF y también en pacientes con cáncer colorrectal esporádico. Las proteínas con el extremo C-terminal perdido, carecen de los dominios requeridos para su unión con los microtúbulos, EB1, y b-catenina, circunstancia que, potencialmente, induce inestabilidad cromosómica, activación de la proliferación, e inhibición de la diferenciación. A la vez que la pérdida de la función supresora tumoral debida a la pérdida de la secuencia C-terminal de APC, es un mecanismo crítico para la iniciación del cáncer colorrectal, cada día son mayores las evidencias que apuntan a que la proteína APC truncada ejerce una función dominante que podría contribuir a la tumorigénesis colorrectal (67, 69).

La alteración de APC produce la desregulación de otros procesos celulares. La pérdida de la función supresora de APC conlleva también pérdida de la adhesión celular, y defectos en el control del ciclo celular, deterioro de los mecanismos de reparación por escisión de bases (BER), y de las roturas de doble cadena, además de la inducción de errores en el *Spindle Assembly Checkpoint* (SAC), que derivarían en mala segregación e inestabilidad cromosómicas. Por su parte, la ganancia de función asociada a muchas de las mutaciones en APC parece ser responsable de la resistencia a la apoptosis, la alteración de los mecanismos de migración celular y también de la interferencia con el correcto funcionamiento del SAC (69, 71, 72).

---

## Relación genotipo-fenotipo

Durante los últimos años varios estudios han buscado una correlación entre la localización de la mutación y el fenotipo desarrollado por los pacientes con PAF (18, 5). Sin embargo, es posible que la información actualmente disponible no tenga una aplicación universal, o que su validez quede restringida a algunas poblaciones, aquellas en las que fueron obtenidos los datos.

Está ampliamente aceptada la relación entre las mutaciones en la región MCR, en concreto en el codón 1.309, con los fenotipos más severos, caracterizados por la presencia de más de un millar de pólipos, y con un debut más temprano de la enfermedad, en torno a diez años antes de lo usual. Otra de las asociaciones clásicas es la que relaciona mutaciones en los extremos 5' y 3' del gen, con el desarrollo de un fenotipo atenuado, concretamente aquellas mutaciones anteriores al codón 157 y posteriores al 1.517 (73). En el extremo 5' este efecto se explicaría por la presencia de un segundo sitio de inicio de transcripción en el codón 184 que en parte solventaría el efecto de una mutación anterior a esa zona. La región de procesamiento alternativo del exón 9 se ha asociado también a fenotipos PAFA (63).

En España existen algunos trabajos realizados en poblaciones del noroeste, noreste, Islas Baleares y sur de la península, que describen unas tasas de mutación del gen APC que van desde el 35,3% en población gallega, al 86,7% descrito en el sur de España (63) en población con criterios clínicos de PAF.

El trabajo más extenso es el de Rivera et al. (63), en el que se muestran los resultados de 136 pacientes con PAF clásica. La tasa de mutaciones fue del 74,3% en el global de la serie, y algo más elevada cuando se consideraron sólo los casos familiares. Todas las mutaciones en APC fueron truncantes, con una cuarta parte de ellas localizadas en la MCR (Figura 12). Es destacable que ocho casos de la serie -que sólo incluía formas clásicas de la enfermedad-, mostraran mutaciones localizadas en áreas del gen típicamente vinculadas con las formas atenuadas. Al margen de las características descritas para las mutaciones en la MCR, el resto de manifestaciones fenotípicas del síndrome no mostraron una clara relación con el genotipo.



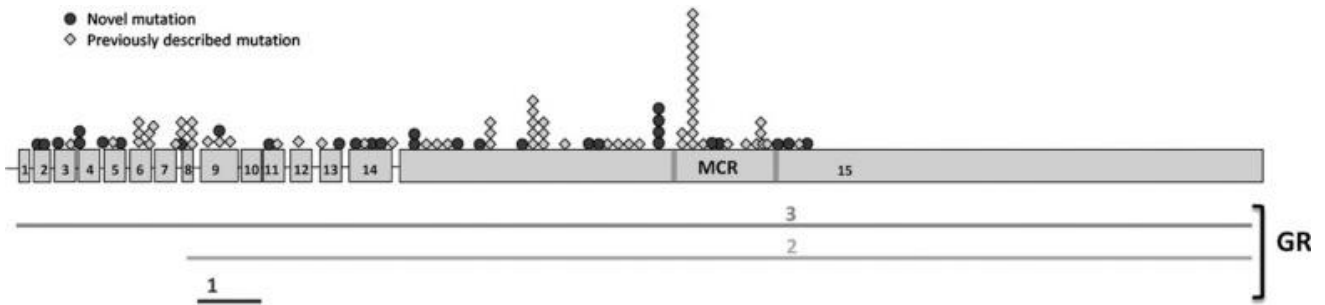


Figura 12. Representación de la localización y tipo de mutaciones y grandes reordenamientos (GR) a lo largo del gen APV en la población española. Modificado de Rivera et al (63).

### Variante de la PAF: Adenocarcinoma gástrico y poliposis proximal gástrica (GAPPS)

En 2016, Li y cols. (75) describieron una entidad autosómica dominante de poliposis múltiple de las glándulas del fundus del estómago y una alta predisposición al cáncer gástrico, pero no al cáncer colorrectal, en seis familias en las que identificaron tres mutaciones en el promotor 1B del gen APC que segregaban con la enfermedad. Las mutaciones se localizaban en el dominio de unión con el factor de transcripción YY1. La alteración de la afinidad entre YY1 y el promotor 1B de APC y la reducción de la actividad transcripcional, fueron demostradas en líneas celulares gástricas y colorrectales. Además, el análisis en diferentes tejidos de los portadores demostró desbalance alélico de APC. El promotor 1A de APC se encuentra metilado en los pacientes con GAPPS, también en la mucosa gástrica normal y en los pólipos fúndicos esporádicos, hecho que apunta a que los transcritos del 1B tienen mayor relevancia que los del 1A en la mucosa gástrica (18).

### ASPECTOS CLÍNICOS DE LA PAF

La PAF es la poliposis más importante. Representa menos del 1% de todos los cánceres colorrectales y se diagnostica un caso cada 10,000-30,000 individuos. Supone menos de un 0,5% de todos los cánceres colorrectales pero es importante dado que los individuos afectados tienen un riesgo de, prácticamente, el 100% de padecer CCR.

---

La PAF clásica se caracteriza por la presencia de cientos o miles de adenomas a lo largo de todo el colon desde la adolescencia. Existe una variante atenuada de la enfermedad (PAFA) con manifestaciones más leves, una aparición más tardía de los pólipos y, por lo general, con un número de adenomas inferior a 100 (76).

Si no se recibe tratamiento, los pólipos suelen desarrollarse en la segunda y tercera década de la vida, a los 15 años el 50% de los pacientes presentan pólipos, y a los 35 años más de un 95%. Es por ello que, dado que la penetrancia es cercana al 100%, se considera que, si un paciente no ha desarrollado pólipos antes de los 40 años es muy improbable que padezca PAF (77).

Hasta un 30% de los afectos de PAF o PAFA no tienen historia familiar de poliposis y se consideran casos de novo (78). Mutaciones en el gen supresor APC explican un elevado porcentaje de los casos de PAF, identificando mutación hasta en un 80% de las PAF clásica y hasta un 30% de la PAFA. La variabilidad fenotípica PAF es muy elevada, incluso dentro de una misma familia y en personas que presentan la misma alteración genética del gen APC (79).

### **Características clínicas**

El diagnóstico clínico de PAF clásica se establece al demostrar más de 100 pólipos adenomatosos en el intestino grueso con un riesgo acumulado de padecer CCR del 100% a los 40 años de edad en aquellos pacientes que no realizan ningún tipo de seguimiento o tratamiento. Además, pueden aparecer manifestaciones extracolónicas que incluyen: pólipos del fundus gástrico y duodeno (presentes hasta en un 50% de individuos con PAF, con un riesgo de malignidad de los pólipos duodenales de hasta un 12%, cientos de veces aumentado con respecto al riesgo de la población general) (80), osteomas, anomalías dentales, hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina (HCEPR), tumores desmoides (hasta en el 10-30% de los individuos con PAF, aproximadamente el 65% de los tumores desmoides se localizan en la pared/ cavidad abdominal), y cánceres como el duodenal (4-12%), hepatoblastoma (1-2%, generalmente antes de los 5 años), de tiroides (<2%), páncreas (<2%) y gástrico (<1%) (81).

Tabla 4. Riesgo acumulado de padecer manifestaciones extracolónicas en la PAF clásica. Modificado de Libro Cáncer hereditario SEOM 3ª ed (18).

Manifestacion	Riesgo Población General	Riesgo en PAF	Edad de aparición
<b>Pólipos gastroduodenales</b>			
Adenoma gastroduodenal	<1%	50%	25 años
Cáncer gástrico	<1%	<1%	50
Carcinoma duodenal o periampular	<1%	4-12%	45
<b>Osteoma</b>	<1%	14-90%	
<b>Tumores desmoides</b>	<1%	10-30%	
<b>Cáncer de Tiroides</b>	<1%	<2%	25-35
<b>Cáncer de Páncreas</b>	1.5%	<2%	50
<b>Hepatoblastoma</b>	<1%	1-2%	<5
<b>Tumor cerebral</b>	<1%	1-2%	15-21
<b>Hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina(HCEPR)</b>	<1%	>50%	

La PAF atenuada (PAFA) Se caracteriza por la presencia de un número menor de pólipos (< 100, media 30 pólipos), localizados a nivel del colon proximal. El riesgo acumulado de CCR se estima en un 70% a los 80 años. La media de edad de CCR en los individuos con PAFA es de 50-55 años, 10-15 años más tarde que en la PAF clásica. La PAFA también incluye manifestaciones extracolónicas: pólipos y cáncer del tracto digestivo superior, cáncer de tiroides y otras, mientras que son raros tanto los tumores desmoides como la HCEPR.

### Diagnóstico

El diagnóstico de la PAF clásica se considera un diagnóstico clínico; un individuo con más de 100 pólipos adenomatosos cumple criterios clínicos de PAF, se identifique o no una mutación deletérea en línea germinal.

El diagnóstico de PAF se debe sospechar en un paciente que presente más de 10 pólipos adenomatosos evidenciados a lo largo de la vida con o sin manifestaciones extracolónicas de la enfermedad. Previo un asesoramiento genético adecuado y una meticulosa revisión

---

de los antecedentes personales y familiares, así como la verificación histológica de la histología adenomatosa de los pólipos en el individuo afecto, se le debe ofrecer un estudio genético en línea germinal que incluya los genes APC y MUTYH (este último responsable de la Poliposis Asociada a MUTYH, que tal y como veremos se solapa con la PAF) a cualquier individuo que presente 10 o más pólipos adenomatosos a lo largo de su vida, o que cumpla los criterios establecidos por la NCCN anteriormente (61).

Además, actualmente, se pueden utilizar paneles de múltiples genes que incluye el estudio simultáneo de muchos genes implicados en cáncer hereditario. Se debe señalar que, a mayor número de genes estudiados, mayor es la probabilidad de resultados no informativos por el hallazgo de mutaciones de significado incierto (VUS) (82).

Si se identifica una mutación deletérea en APC en un individuo, se debe ofrecer estudiar esta mutación en todos los familiares en riesgo de ser portadores. La edad razonable para realizar el estudio genético de una mutación germinal en APC responsable de PAF clásica previamente identificada en una familia, está entre los 10- 12 años, previo al inicio de las colonoscopias de cribado. El estudio genético se puede realizar a niños más pequeños si hay antecedentes de hepatoblastoma en la familia (83). Las pruebas genéticas prenatales y/o de diagnóstico genético preimplantacional (DGP) pueden ser una opción a considerar en familias seleccionadas (84).

### **Tratamiento de las manifestaciones de los individuos afectados por PAF**

Se considera la cirugía mediante colectomía, ante la presencia de múltiples adenomas que no puedan ser controlados endoscópicamente. La cirugía se intenta realizar a partir de la segunda década de la vida si el manejo endoscópico es suficientemente seguro en niños e individuos jóvenes (85). Los tipos de cirugía posible de más a menos conservadora son: colectomía total con anastomosis ileorrectal, proctocolectomía con reservorio ileal y anastomosis anal, y proctocolectomía con ileostomía permanente. Se requiere vigilancia del recto (cada 6-12 meses) si no se extirpa y, en caso contrario, del reservorio ileal (cada 1-3 años, en función de la presencia o no de pólipos). En caso de ileostomía también se debe vigilar e inspeccionar el estoma ante el riesgo de presentar pólipos en la zona (86).

---

Unas pinceladas del manejo de otras manifestaciones de la PAF se describen a continuación (61, 86):

- Pólipos y cáncer de intestino delgado: en caso de severa poliposis o displasia de alto grado (estadio IV Spiegelman) se puede llegar a requerir una duodenopancreatectomía cefálica (técnica de Whipple).
- Osteomas: se extirpan habitualmente por cuestión estéticas o si causan compresión de estructuras adyacentes.
- Tumores desmoides: los tumores desmoides, junto con el cáncer de duodeno, son una de las dos principales causas de mortalidad en los pacientes con PAF colectomizados. El manejo de estos tumores desmoides es complejo y supone un reto clínico importante. El tratamiento debe ser multidisciplinar pudiendo valorarse tratamiento médico con AINE, antiestrógenos como el tamoxifeno, quimioterapia, radioterapia y cirugía en casos seleccionados, aunque esta última ofrece alta probabilidad de recurrencia de la lesión.

#### **Quimiopprofilaxis en individuos afectados de PAF:**

La quimiopreención se contempla para facilitar el manejo del recto en cirugías conservadoras dado que se conoce que los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y aspirina reducen el riesgo de recurrencia de pólipos adenomatosos de colon en la población general sin embargo, dado el aumento de riesgo cardiovascular descrito con los inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), no se recomienda su uso rutinario en la población general (87).

En pacientes afectados de PAF y PAFA el uso de sulindac o aspirina no ha demostrado eficacia en prevención de desarrollo de adenomas en pacientes no operados (88). Un ensayo realizado con el ácido graso eicosapentaenoico (ácido graso polinsaturado omega-3) ha demostrado eficacia prometedora en la reducción de pólipos en pacientes afectados de PAF (89). El uso prolongado de sulindac parece ser efectivo para la regresión de pólipos y prevenir recurrencias de pólipos adenomatosos de alto grado en el segmento de recto remanente en pacientes operados y es el fármaco con mayor evidencia sobre la regresión de los pólipos tras la cirugía (90).

---

## 2.2 POLIPOSIS ASOCIADA A MUTYH

Las mutaciones bialélicas en el gen MUTYH son responsables de la Poliposis Asociada a MUTYH (PAM), una entidad autosómica recesiva, caracterizada por un alto riesgo de cáncer colorrectal, debido a la presencia de pólipos adenomatosos, en número por lo general inferior a cien, y una edad de diagnóstico alrededor de los cincuenta años. Existe además un riesgo incrementado para desarrollar otros tumores, incluyendo cáncer de vejiga y de ovario (91).

El gen MUTYH, miembro de la ruta de reparación del ADN por excisión de bases (BER), fue identificado como responsable de la poliposis adenomatosa en el año 2002, en una familia en la que se observó una alta frecuencia de transversiones G:C>T:A en el ADN tumoral (92). La ruta BER es un mecanismo de reparación del ADN de cadena sencilla, esencial para que la célula mantenga su integridad genómica. La ruta detecta y corrige bases alteradas como consecuencia del daño oxidativo, deaminación o alquilación. El proceso reparador se inicia con las glicosilasas del ADN que reconocen y retiran las bases dañadas o inadecuadamente incorporadas (93) (Figura 13). MUTYH es una de estas glicosilasas que reconoce y corrige los emparejamientos anómalos entre las guaninas modificadas por la oxidación, con adeninas. El fallo de este mecanismo de reparación origina la acumulación de transversiones G:C>T:A en el tejido tumoral. Al examinar la secuencia adyacente a las áreas mutadas se comprobó que con frecuencia eran dominios GAA. El tejido colónico está expuesto a un alto estrés oxidativo, y una de las claves del desarrollo de adenomas y de cáncer colorrectal en los portadores de mutaciones en MUTYH, es la circunstancia de que el gen APC contiene 216 sitios GAA en su secuencia, lo que le confiere una especial vulnerabilidad (93).

Otro gen frecuentemente alterado en los adenomas asociados a MUTYH es KRAS. La mutación c.34G>T en el codón 12 de kras aparece en el 64% de los pacientes con PAM y, por esta razón, se recomendó el estudio previo de esa mutación en pacientes con poliposis con el propósito de dirigir posteriormente el estudio genético hacia APC o MUTYH (94).

Los pacientes con PAM presentan tanto mutaciones nonsense como missense, pero la frecuencia de las mutaciones varía sustancialmente en distintos grupos étnicos. La

frecuencia de portadores heterocigotos de una de las mutaciones recurrentes en población general varía entre el 0,3 y el 2%. Hay cierta controversia en el riesgo de cáncer en portadores heterocigotos. Un estudio reciente encuentra riesgo para tumores gástricos, hepatobiliares, endometriales y cáncer de mama (91).

Se dispone de escasa información sobre el papel del gen MUTYH en pacientes españoles. En una población del norte de España, el 24% de los casos APC negativos portaban mutaciones bialélicas en MUTYH. En todos los casos la poliposis fue atenuada (95).

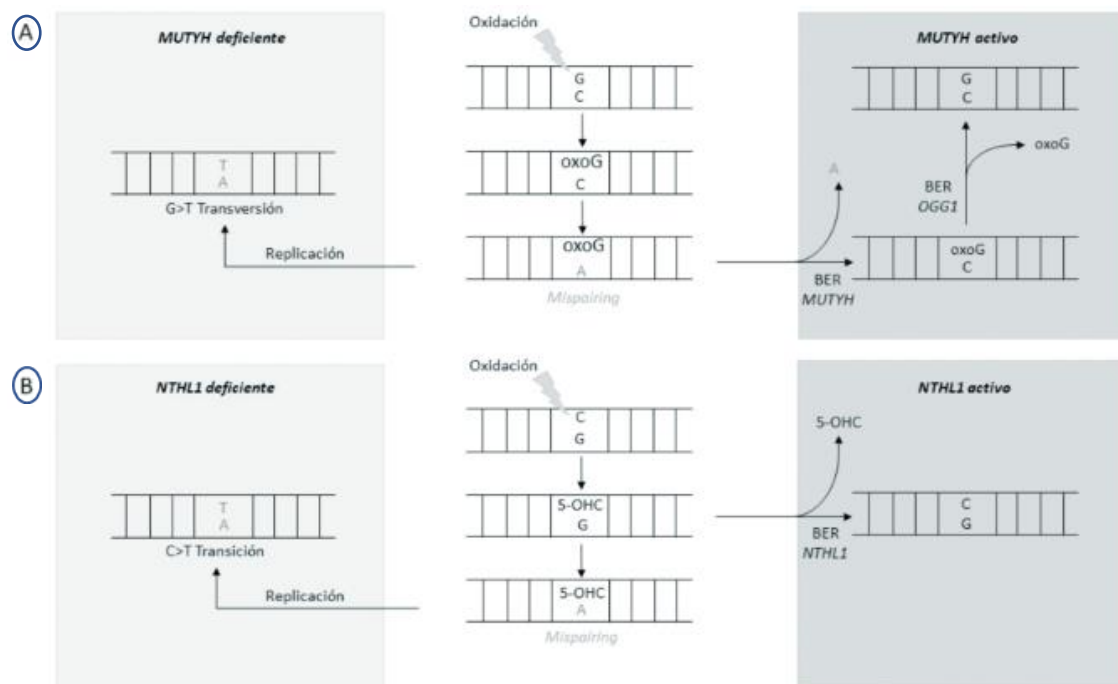


Figura 13. Representación del papel de las deficiencias en la glicosilasas de la ruta BER en el desarrollo tumoral. Modificado de Weren et al (93).

## ASPECTOS CLÍNICOS DE LA POLIPOSIS ASOCIADA A MUTYH (PAM)

Es una entidad autosómica recesiva (caracterizada por poliposis adenomatosa con un número de pólipos por lo general inferior a 100 y un alto riesgo de cáncer colorrectal a una edad superior a la PAF clásica (alrededor de los cincuenta años) (61). Aunque el tipo de pólipos más frecuente son los adenomatosos, también pueden aparecer pólipos hiperplásicos, serrados y mixtos. Además, los adenomas duodenales se diagnostican entre

---

el 17-25% de los pacientes con PAM y el riesgo a lo largo de la vida de padecer un cáncer duodenal es de un 4% (96).

### **Diagnóstico:**

La PAM se debe sospechar en individuos que presentan menos de 100 adenomas siguiendo un patrón de herencia recesivo. El diagnóstico de PAM se confirma por la presencia de mutaciones bialélicas del gen MUTYH en individuos afectados de poliposis. La frecuencia de mutaciones varía sustancialmente entre distintos grupos étnicos. En población caucásica, las variantes Y165C y G382D, que reducen sustancialmente la función proteica, representan el 80% del total de mutaciones (97). Como hemos dicho anteriormente hay cierta controversia en el riesgo de cáncer en portadores heterocigotos, estimando que pueden tener más riesgo de padecer CCR que la población general especialmente si hay antecedentes de CRC en la familia, sin que se haya demostrado que éste se diagnostique a una edad precoz (98).

### **Manejo de los pacientes con PAM**

- Colon: colonoscopia completa: cada 1-2 años desde los 21 años (aunque algunos autores sugieren empezar antes), incluyendo polipectomía si se detectan pólipos. Colectomía subtotal o proctocolectomía: en caso de que los pólipos adenomatosos no se puedan manejar endoscópicamente.
- Duodeno: gastroduodenoscopia completa que incluya la visualización de la ampolla de Vater, desde los 30 - 35 años, cada 3 - 5 años. Aunque la frecuencia depende la severidad de los adenomas según la clasificación de Spigelman.
- En relación con los portadores sanos heterocigotos de variantes patogénicas en MUTYH , actualmente no hay guías consensuadas de seguimiento, y se recomienda con un bajo nivel de evidencia, realizar colonoscopia desde los 40 años de edad cada 5 años (61).



---

### **2.3 OTROS SÍNDROMES DE POLIPOSIS ADENOMATOSA**

La utilización de paneles que incluyan múltiples genes (99) pueden permitir identificar mutaciones en línea germinal en genes tales como POLE, POLD1, AXIN2, mutaciones bialélicas en NTHL1 o MSH3 entre otros, que han sido identificados en individuos con más de diez adenomas, y en los que se habían descartado alteraciones en otros genes de predisposición al cáncer colorrectal como APC y MUTYH.

#### **Poliposis adenomatosa asociada a NTHL1 (PAAN)**

NTHL1 es la segunda glicosilasa del ADN perteneciente a la ruta de reparación BER cuyas mutaciones bialélicas confieren una alta predisposición para desarrollar adenomas y cáncer colorrectal. Su implicación en el desarrollo de la poliposis fue identificada mediante secuenciación de exomas en 48 familias con poliposis y cáncer colorrectal. Siete pacientes pertenecientes a tres familias de origen holandés, mostraron mutaciones nonsense homocigotas en el gen NTHL1 (100). La poliposis aparecía en una única generación y sólo en los individuos que eran homocigotos para la mutación, lo que confirmaba el modelo de herencia recesivo de la PAAN. Heterocigotos compuestos y cuadros clínicos más complejos que incorporan múltiples tumores, han sido comunicados en trabajos posteriores, si bien hasta la fecha el número de casos descrito es limitado, y no permite aún una definición precisa del fenotipo esperable en los portadores de mutaciones bialélicas del gen (101). Como MUTYH, NTHL1 es también una glicosilasa pero con funciones más amplias que aquella -posee actividad glicosilasa y endonucleasa. Cada ADN glicosilasa actúa de manera específica sobre un subgrupo de bases dañadas.

#### **Poliposis asociadas a las Polimerasas Proofreading (PPAP)**

Mutaciones germinales dominantes en las ADN polimerasas epsilon (POLE) y delta (POLD1) fueron identificadas mediante análisis de ligamiento y secuenciación del genoma, en individuos con más de diez adenomas aparecidos antes de los sesenta años, y en los que se habían descartado alteraciones en otros genes de predisposición al cáncer colorrectal (APC, MUTYH y MMR) (102). Ambos genes han sido posteriormente validados como genuinos genes de predisposición al cáncer colorrectal en varios estudios en distintas poblaciones (103). En ambas polimerasas, las mutaciones heterocigotas

---

parecen ser altamente penetrantes, confieren riesgo para otros tumores además del colorrectal, como es esperable en una alteración del mecanismo de corrección de los errores del ADN durante la replicación. Por esta razón, los tumores desarrollados por los portadores son hipermutados, en algunos casos con más de un millón de sustituciones por tumor, y, por lo general, muestran estabilidad de microsatélites aunque también se han comunicados casos con inestabilidad (104).

### **Otros genes asociados a poliposis adenomatosa**

- **AXIN2:** Mutaciones truncantes y variantes missense en el gen AXIN2 , han sido comunicadas en cuatro familias, con fenotipos altamente heterogéneos pero con dos rasgos principales: poliposis adenomatosa y signos de displasia ectodérmica (105). AXIN2 tiene un papel esencial en la degradación de la b-catenina dentro de la ruta canónica de señalización Wnt/b-catenina. Aunque es, por tanto, un buen candidato a gen de susceptibilidad a la poliposis y al cáncer colorrectal, nuestro conocimiento sobre esta relación es aún limitado.
- **Mutaciones bialélicas en los MMR:** aplicando la secuenciación de exomas en una serie de 102 individuos con poliposis adenomatosa en la que se habían descartado los principales genes, Adam y cols. (106) identificaron dos individuos heterocigotos compuestos de mutaciones germinales con pérdida de función del gen MSH3. Ambos pacientes mostraron poliposis adenomatosa de aparición en torno a los treinta años, junto a una serie de lesiones benignas y malignas gastrointestinales y de otros órganos. Los tumores colorrectales mostraron pérdida de expresión inmunohistoquímica de MSH3 y alta inestabilidad de microsatélites con repeticiones de di- y tetranucleótidos.

## **2.4 SÍNDROME DE POLIPOSIS HAMARTOMATOSA**

Los pólipos hamartomatosos intestinales están formados por células normales del tracto gastrointestinal pero que exhiben una arquitectura marcadamente distorsionada. Son tumores compuestos, por lo general, de tejido conectivo –músculo liso y lámina propia-, cubiertos por mucosa sin displasia, específica del área en la que aparece el pólipo, y

epitelio intestinal. Al contrario que los adenomas se consideran lesiones con un carácter benigno, no neoplásico. Sin embargo, los pacientes con síndromes de poliposis hamartomatosa tienen un riesgo aumentado para desarrollar cáncer colorrectal. Para solventar esta aparente contradicción se ha postulado que la proliferación de las células del estroma crea un microambiente que afecta al desarrollo de las células epiteliales adyacentes y que, eventualmente, conduce al desarrollo neoplásico del epitelio (107).

Tabla 5. Principales síndromes que cursan con poliposis hamartomatosa. Modificado de Libro Cáncer hereditario SEOM 3ª ed (18)

Síndrome	Gen causante	Histología	Herencia
Poliposis juvenil	SMAD4, BMPR1A	Hamartoma	AD
S Cowden	PTEN (10q23.31)	Hamartoma	AD
S Bannayan-Riley-Ruvalcaba	PTEN (10q23.31)	Hamartoma	AD
S Peutz-Jeghers	STK11/LKB1 (19p13.3)	Hamartoma	AD
Esclerosis Tuberosa	TSC1(9q34) y TSC2 (16p13)	Hamartoma	AD
Ganglioneuromatosis intestinal	Asociada a RET, NF1	Hamartoma	-

AD: Autosómico dominante

### Tumores hamartomatosos asociados a PTEN (PHTS)

Engloba un conjunto de entidades clínicas causadas por mutaciones germinales en el gen PTEN, entre las que se encuentran los síndromes de Cowden, y de Bannayan Riley-Ruvalcaba, los dos principales, la enfermedad de Lhermitte-Duclos, trastornos del espectro autista asociados a macrocefalia, y el síndrome Proteus-like. El síndrome de Cowden es el prototipo dentro del PHTS (108). Las mutaciones en el gen PTEN localizado en 10q22-23, son responsables del PHTS.

La proteína PTEN se expresa ubicuamente y está implicada en varias rutas importantes, si bien en el contexto del PHTS, su papel más relevante es la inactivación de la ruta PI3K/AKT/mTOR (108)

Mutaciones germinales se identifican en el 80-85% de los pacientes que se ajustan a los criterios clínicos del síndrome de Cowden, en el 60-65% de los casos de Bannayan-Riley-Ruvalcaba y en el 10-20% de los pacientes con trastornos del espectro autista asociados a macrocefalia o con el síndrome Proteus-like (109).

---

**El síndrome de Cowden** es una entidad poco frecuente de herencia autosómico dominante y penetrancia cercana al 90%. Se presenta más frecuentemente en mujeres de raza caucásica aunque también puede aparecer en hombres y se diagnostica en la tercera década de la vida. Se ha estimado la incidencia es 1 de cada 200.000, aunque debido a que la enfermedad tiene un fenotipo variable, pudiera estar infraestimada (110).

Se caracteriza por la aparición de hamartomas múltiples en diferentes órganos, lesiones mucocutáneas y alto riesgo de tumores benignos y/o malignos del tracto gastrointestinal, tiroides, mama, endometrio y sistema nervioso central. Existen manifestaciones extraintestinales como queratosis acra, triquilemomas faciales, pápulas o papilomas, fibromas orales, lipomas, macrocefalia y la enfermedad de Lhermitte-Duclos (gangliocitoma cerebeloso displásico) (110, 111).

En mujeres con síndrome de Cowden, la enfermedad mamaria puede manifestarse como patología benigna (67%), riesgo de cáncer de mama hasta más del 80% según algunas publicaciones que puede ser bilateral, con una edad media de aparición de 38-46 años, y es la causa más importante de muerte (111). Los pólipos gastrointestinales aparecen en el 93% de portadores con un aumento del riesgo de cáncer de colon del 16%. El 50% de pacientes tiene pólipos hiperplásicos, adenomatosos, hamartomatosos, ganglioneuromatosos e inflamatorios, con una edad media de aparición a los 46 años.

**El síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba** se trata de un síndrome raro causado también por una mutación en PTEN. Puede presentarse con herencia autosómico dominante pero también como casos esporádicos (112). Se caracteriza por la aparición de lipomas, retraso mental y psicomotor, tiroiditis de Hashimoto, macrocefalia, hemangiomas, pólipos intestinales hamartomatosos en el 35-45% de casos, retraso del crecimiento (50%) y pápulas hiperpigmentadas en genitales masculinos. Los pólipos intestinales no suelen degenerar, se suelen localizar en todo el trayecto gastrointestinal aunque más frecuentemente en colon y recto (113).

### **Síndrome de Poliposis Juvenil**

La Poliposis Juvenil es una entidad autosómica dominante determinada por la aparición de múltiples, más de 3-5, pólipos gastrointestinales juveniles, que reciben esta

denominación por su apariencia histológica, pero cuya aparición puede ocurrir a cualquier edad. Los pólipos juveniles pueden ser indistinguibles de otros pólipos hamartomatosos (109). Tiene una incidencia muy baja (1-1,5 casos/100.000 habitantes), aunque es el síndrome de poliposis hamartomatosa más frecuente. Existen dos formas de presentación, la esporádica y la familiar, ambas con patrón de herencia autosómico dominante y con una penetrancia variable.

Mutaciones germinales heterocigotas en los genes SMAD4 y BMPR1A se identifican en el 50-60% de los pacientes con Poliposis Juvenil. Ambos genes son componentes de la ruta de señalización TGF- $\beta$ /Proteína Morfogénica del Hueso (BMP), con un papel importante en el control del crecimiento del epitelio del colon, además de modular otros procesos celulares como proliferación, diferenciación o adhesión celular (114). SMAD4 es un mediador intracelular habitual en la ruta TGF- $\beta$ . Por su parte, BMPR1A es un receptor de la superficie celular que, unido al correspondiente ligando, activa las rutas de señalización para que complejos proteicos migren al núcleo con el fin de unirse directamente al ADN y regular la transcripción de sus genes diana (115).

Establecer una clara correlación genotipo-fenotipo resulta difícil, dada la escasa frecuencia del síndrome, si bien algunos autores relacionan las mutaciones en SMAD4 con un fenotipo más agresivo con un mayor número de pólipos, que se extienden a lo largo de todo el tracto gastrointestinal (109).

Por otra parte, las mutaciones en SMAD4 también se han asociado con la aparición de rasgos del síndrome de Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria caracterizado por anomalías vasculares, telangiectasias mucocutáneas y malformaciones arteriovenosas afectando al cerebro, pulmones, tracto gastrointestinal e hígado (116). Si en la familia se conoce una mutación en SMAD4, podría realizarse el estudio genético en los primeros 6 meses de vida para descartar esta patología.

Las características para establecer el diagnóstico son (117):

- 3 ó más pólipos juveniles colorrectales.
- Pólipos juveniles en el tracto gastrointestinal.
- Historia familiar de poliposis juvenil.

---

La presentación más habitual es la rectorragia, aunque pueden aparecer dolor abdominal, retraso en el crecimiento, anemia o hipoalbuminemia entre otros (118).

Según la presentación clínica podemos destacar 3 grupos fenotípicos:

1. Poliposis juvenil de la infancia.
2. Poliposis juvenil colónica.
3. Poliposis juvenil generalizada.

La más grave y de peor pronóstico es la de la infancia (117). Desde el punto de vista histopatológico, se caracteriza por la aparición de numerosos pólipos (entre 50 y 200), de tamaño variable (pocos milímetros a pocos centímetros), rodeados de mucosa normal y distribuidos por todo el colon e incluso en ocasiones pueden aparecer también en estómago e intestino delgado, aunque la mayoría son de localización rectosigmoidea, a diferencia del Síndrome de Peutz-Jeghers que se localizan más frecuentemente en intestino delgado (118).

La degeneración maligna de los pólipos del tracto gastrointestinal es elevada (entre el 20-70%) y aumenta con la edad, por ello es necesario e importante realizar el estudio genético para poder establecer el pronóstico.

El riesgo a lo largo de la vida para cáncer de colon es del 40-50%, con una edad media al diagnóstico de 34 años; para el cáncer de estómago el riesgo es del 21% (117). Debido al riesgo alto de cáncer que existe en la Poliposis Juvenil y la anemia que presentan estos pacientes por sangrado, se recomienda seguimiento mediante colonoscopia y gastroduodenoscopia.

### **Síndrome de Peutz-Jeghers**

Es también un síndrome de herencia autosómico dominante con una penetrancia cercana al 100%, aunque aproximadamente un 45% de casos no tienen historia familiar. Afecta a 1 de cada 120.000 individuos, con un pico de incidencia entre los 10 y 30 años (119).

Se caracteriza por la asociación de poliposis gastrointestinal y pigmentación mucocutánea. Los pólipos suelen ser múltiples, lobulados, de diferentes tamaños y superficie lisa y suelen estar distribuidos a lo largo de todo el tracto digestivo (esófago a

---

recto) aunque más frecuentemente en intestino delgado (yeyuno proximal 60-90%). Pueden aparecer también en localizaciones extraintestinales (cérvix, mama, pulmón, uréteres, vejiga, testículo, riñón, área bilio-pancreática y ovario). Los pólipos suelen aparecer en la primera década de la vida. Las manchas hiperpigmentadas melánicas pardas o azul oscuras aparecen hasta en el 95% de casos (119). Se localizan más frecuentemente en labio (95%) y mucosa bucal (66-83%) aunque también pueden encontrarse en cara, manos, pies encías o paladar y región perianal. Los tumores gonadales es otra de las manifestaciones del síndrome (120).

Aproximadamente el 50% de los pacientes con este síndrome, tendrán las manifestaciones clínicas antes de los 20 años. La forma de presentación clínica suele ser anemia y cuadros de dolor abdominal tipo cólico debido a episodios de invaginación recidivante.

La mutación en el gen supresor STK11 (también denominado LKB1) localizado en el cromosoma 19 es el responsable. Este gen pertenece a la familia de las quinasas y treoninas y codifica una serina-treonina-quinasa implicada en la vía m-TOR. El gen consta de diez exones. STK11 actúa como gen supresor de tumores y los pólipos Peutz-Jeghers exhiben la clásica pérdida de heterocigosidad que resulta en pérdida total de la función del gen.

Se han encontrado mutaciones patogénicas en más del 90% de los pacientes que presentan características clínicas y un 25% de pacientes presentan la mutación *de novo*. Las mutaciones reportadas en la base de datos *Human Genome Mutation* en su mayoría son deleciones e inserciones (121).

El riesgo de cáncer gastrointestinal es 15 veces mayor que en la población general. Las manchas melánicas parecen no tener potencial de malignización.

Se aconseja iniciar el cribado en la infancia con colonoscopia y gastroscopia, aproximadamente a los 8 años. Si no se encuentran pólipos se comenzará de nuevo el cribado a partir de los 18 años. Si se encuentran pólipos se repetirá cada 3 años. A partir de los 50 años se recomienda hacer anual/bianual debido al incremento de riesgo de cáncer (122).

---

### **Síndrome de Poliposis Serrada**

La poliposis serrada, previamente conocida como poliposis hiperplásica, constituye un síndrome en el que se identifican múltiples, al menos cinco, dos de ellos mayores de 1 cm, pólipos serrados en colon y recto, y un incremento del riesgo de cáncer colorrectal que podría llegar a ser superior al 50% a lo largo de la vida. Entre un 40 y un 60% de los casos tienen historia familiar pero su modelo de herencia no está del todo bien definido y se han propuesto modelos dispares, dominantes o recesivos (115).

En los pólipos serrados se observa el acúmulo de cambios somáticos, incluyendo las mutaciones en BRAF, y un alto nivel de metilación de regiones promotoras. Parece, por tanto, que estos pólipos se desarrollan a través de la ruta serrada, que se diferencia de la secuencia adenoma-carcinoma tradicional por la presencia de hipermetilación de las islas CpG en las secuencias promotoras de múltiples genes, que es su principal característica (123).

### **Síndrome de Poliposis Mixta**

El Síndrome de Poliposis Mixta Hereditaria es una entidad infrecuente, autosómica dominante, que se reconoce por la presencia conjunta de varios tipos histológicos de pólipos colorrectales (juveniles, serrados, Peutz-Jeghers, adenomas tubulares, vellosos y tubulovellosos, hamartomas, etc). Aunque por el momento no se han establecido unos robustos criterios diagnósticos, sí que parece claro que los pacientes con el síndrome muestran una elevada predisposición al cáncer colorrectal, en ausencia, aparentemente, de manifestaciones extracolónicas.

Aunque el locus del gen responsable de la enfermedad fue asignado mediante análisis de ligamiento a la región 15q13.3, la identificación del gen GREM1 como responsable del síndrome, no se produjo hasta pasados unos años, gracias a la utilización de *arrays* de oligonucleótidos específicamente diseñados para detectar variaciones en el número de copias en la región 15q13.3 (124). Jaeger y cols identificaron una duplicación de 40 kb en la región reguladora 5' del gen, en familias judías Ashkenazi que compartían un mismo haplotipo, circunstancia que sugería un posible efecto fundador. Otras duplicaciones han sido descubiertas posteriormente. Recientemente en un estudio (125) se ha descubierto



una nueva duplicación de *GREM1* en una paciente a la que le resecaron un total de veinte pólipos, la mayor parte adenomas tubulares y algún hiperplásico. El estudio genético mediante un panel de múltiples genes, demostró que la paciente era también portadora de una mutación patogénica en *BRCA1*.

Las duplicaciones descritas de *GREM1* incrementan notablemente la expresión alelo específica del gen, sobreexpresión que conduce a la alteración de la ruta de la Proteína Morfogenética del Hueso (BMP), que podría ser la responsable del desarrollo de los pólipos y su transformación neoplásica. Este mecanismo de desarrollo de pólipos y de carcinogénesis colorrectal, por sobreexpresión génica, contrasta con el de condiciones como la Poliposis Adenomatosa asociada a mutaciones en *APC* o en *MUTYH*.

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

La poliposis gastrointestinal es un problema clínico común en el que aún no se ha encontrado un consenso sobre el mejor manejo de los pacientes con un moderado número de pólipos y sin variante patogénica germinal identificada. Los síndromes hereditarios de poliposis son entidades poco frecuentes, genética y clínicamente heterogéneas, con características que, a menudo, solapan uno o más de los distintos síndromes, y en las que la identificación de su causa genética repercute favorablemente en el pronóstico y vigilancia de los afectados.

Agrupar y analizar las características clínicas, patológicas, familiares y moleculares de pacientes con sospecha de poliposis hereditaria e intentar correlacionarlas en distintos grupos o entidades ya conocidas supone un reto, dado que, la clasificación de los pólipos y de las poliposis ha cambiado a lo largo de los años. Merece una reflexión y análisis de los individuos estudiados con sospecha de poliposis, pero sin identificar la causa genética, incorporando un análisis exhaustivo de todas las variables e incorporando un estudio molecular innovador.

Los principales **objetivos** de este proyecto son:

### OBJETIVO PRINCIPAL:

Analizar las características clínicas, patológicas, moleculares y familiares de los pacientes con sospecha de poliposis adenomatosa familiar estudiados en la Unidad de Consejo Genético del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA).

### Objetivos específicos:

1. Analizar la frecuencia de detección de Síndromes de Poliposis Adenomatosa Colónica Familiar mediante el uso de criterios clínicos.
2. Análisis de la correlación genotipo-fenotipo en pacientes con Poliposis Colónica Familiar.

3. Caracterización clínica, patológica y molecular de los pacientes con sospecha de poliposis hereditaria y estudio genético no informativo para los genes APC y MUTYH. Búsqueda de otros genes potencialmente implicados.

# **MATERIAL Y MÉTODOS**

## 1. PACIENTES INCLUIDOS Y VARIABLES ESTUDIADAS

Se incluyeron en el estudio 177 pacientes estudiados en la Unidad de Consejo Genético del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA) durante el periodo de enero de 2007 a diciembre de 2021, que cumplían criterios de selección para el Programa de Consejo Genético en el síndrome de Poliposis Adenomatosa Familiar de la Junta de Castilla y León (Tabla 6).

*Tabla 6. Criterios de selección de PAF de la Junta de Castilla y León.*

### ***Poliposis Adenomatosa Familiar***

A.- Presencia de más de 100 pólipos en la misma persona, independientemente de su historia familiar.

B.- Persona con antecedentes familiares de PAF  
- Debe cumplirse al menos un criterio.

### ***Poliposis Adenomatosa Familiar Atenuada***

C.- Presencia de más de 10 pólipos adenomatosos en la misma persona, independientemente de su historia familiar.

D.- Pacientes con adenomas colorrectales antes de los 40-45 años  
- Debe cumplirse al menos un criterio.

La selección de los pacientes se realizó según los datos de su historia personal y familiar de cáncer y poliposis en la consulta de Consejo Genético del CAUSA.

Durante la primera consulta de asesoramiento se entrevistó al individuo que consulta y se construyó el árbol genealógico de la familia, recogiendo datos de al menos tres generaciones: tamaño de la familia (número de hermanos, número de tíos en ramas paterna y materna, primos, etc), edades en el momento de la consulta, fallecimientos, casos con pólipos, casos con cáncer (tipo), edades al diagnóstico, otro tipo de patologías relevantes, posible consanguinidad entre ramas familiares, y miembros de la familia que ya hubieran sido sometidos a pruebas de despistate de la enfermedad (colonoscopías, etc).

La Unidad de Consejo Genético (UCG) del Hospital Universitario de Salamanca es referencia para las provincias de León (León y El Bierzo), Zamora, Ávila y Salamanca (tabla 7); por lo que los pacientes estudiados en dicha unidad provienen de dichos lugares (tanto de Atención Hospitalaria como de Atención Primaria, ambos niveles con capacidad para derivar a los pacientes a la UCG para su valoración). Todos ellos son valorados, asesorados y, si se indica el estudio genético, se realiza la extracción de muestra (principalmente de sangre periférica) para el análisis genético correspondiente en la UCG del CAUSA.

*Tabla 7. Hospitales desde los que se derivan a los pacientes.*

PROVINCIA	HOSPITAL
Salamanca	C.A. Universitario de Salamanca
León	C.A.U. de León.
León	Hospital del Bierzo
Zamora	C.A. de Zamora
Ávila	C.A. de Ávila

Los pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

1. Los pacientes debían de tener realizado el estudio mutacional en línea germinal de los genes APC y MUTYH.
2. Se debe de disponer de la historia oncológica personal y familiar del paciente.
3. Debían de firmar el consentimiento informado.

Se establecieron como criterios de exclusión los siguientes:

- 1- Pacientes que no cumplieran con los criterios de inclusión.
- 2- Pacientes que no firmaron el consentimiento informado.

El periodo de estudio se escogió así porque enero de 2007 es la fecha en la que comenzó a realizarse, de manera formal, en la UCG del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca el estudio genético en línea germinal de APC y MUTYH.

---

Las principales **variables** recogidas de cada paciente se describen a continuación:

- Variables demográficas:

- Edad
- Sexo

- Características de la poliposis:

- Número de pólipos
- Tipos histológicos
- Edad de diagnóstico del primer pólipo
- Número de pólipos por localización (colon derecho, colon izquierdo)
- Número de colonoscopias realizadas.
- Cirugía profiláctica (colectomía total o subtotal)

- Antecedentes oncológicos:

- Cáncer colorrectal (CCR)
- Edad de diagnóstico
- Lateralidad del CCR
- Histología y características moleculares (expresión proteínas MMR, estado mutacional de RAS/BRAF)
- Estadio tumoral
- Diagnóstico de otros tumores

- Historia familiar de cáncer (familiares de primer y de segundo grado).

-Manifestaciones extracolónicas (adenoma gastroduodenal, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, tumor desmoide, osteoma, cáncer duodenal, hepatoblastoma, tumor cerebral, hiperplasia del epitelio pigmentario de la retina, quistes dérmicos, adenoma adrenocortical).

- Estudio genético: APC, MUTYH.

- Estudio genético de otras entidades de CCR hereditario. Panel de múltiples genes.

- Éxito (Si/No)



## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1 RECOGIDA DE LOS DATOS**

Al tratarse de un estudio observacional retrospectivo, obtuvimos información acerca de los antecedentes personales y/o familiares de los pacientes, mediante la revisión de las 177 historias clínicas. Las características histopatológicas de los tumores y de los pólipos fueron recogidas en los informes proporcionados por el Servicio de Anatomía Patológica.

La información acerca de los antecedentes familiares se obtuvo mediante la revisión de las historias clínicas elaboradas por la UCG. En estos casos, verificamos los árboles genealógicos de forma ascendente, descendente y lateral.

Cabe destacar que hijo/a, padre, madre y hermano/a se consideraron familiares de primer grado. Se consideraron familiares de segundo grado a abuelos, nietos, tíos, sobrinos en la misma línea materna o paterna.

Dado que la UCG del CAUSA, trabaja en colaboración con el Laboratorio 14 de biología molecular en el Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (CIC), la información sobre el estudio molecular realizado de los genes APC y MUTYH, fue obtenida mediante los informes emitidos por el mismo laboratorio.

### **2.2 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES ANALIZADAS**

#### **Datos demográficos**

Se consideró la edad de los pacientes en el momento del estudio genético de APC y MUTYH.

#### **Características de las poliposis**

Para el análisis de las características de los pólipos de cada paciente incluido en el estudio se extrajeron los datos de las historias clínicas de los pacientes, los estudios endoscópicos

---

realizados por las Unidades de Endoscopias y los resultados histológicos elaborados por los Servicios de Anatomía Patológica de cada hospital de donde provenían los pacientes. Para la recogida de los datos se utilizaron las bases de datos disponibles en la historia clínica electrónica, los informes en papel de las historias clínicas no recogidas en la historia clínica electrónica y, de aquellos pacientes residentes en otras provincias de Castilla y León que no fueran Salamanca, se utilizó la Historia Clínica Electrónica centralizada Jimena IV.

Se recogió información pormenorizada de todas las colonoscopias realizadas a cada paciente, considerando la edad de aparición del primer pólipo como la fecha de la primera colonoscopia en la que se describiese la existencia de poliposis.

Se contabilizaron todos los pólipos registrados en los informes de las colonoscopias de cada paciente, registrando aquellos descritos (extirpados o no) tanto en colon derecho como en colon izquierdo, clasificándolos en función de su localización.

En el caso de que el paciente tuviera realizada una cirugía profiláctica (colectomía) se contabilizaron los pólipos descritos en el análisis patológico de la pieza quirúrgica. Para aquellos resultados patológicos en los que el informe histológico no contabilizara el número de pólipos al ser muy numerosos, se consideraron como mayores a 100.

Asimismo, se clasificaron los pólipos en 4 grupos en función de su histología: adenomatosos, hiperplásicos, hamartomatosos y serrados.

### **Antecedentes oncológicos**

Se recogieron los antecedentes oncológicos de cada paciente a través de su historia clínica, con especial interés en el análisis de los antecedentes de CCR. Las características histológicas del tumor fueron analizadas sobre la pieza tumoral, tras la intervención quirúrgica o biopsia endoscópica (considerándose dicho momento como la fecha de diagnóstico).

---

Aquellos tumores diagnosticados en colon ascendente y transverso se consideraron como CCR derecho, mientras que aquellos localizados en colon descendente, sigma y recto se clasificaron como CCR izquierdo.

Para el grado histológico, se tuvo en cuenta la siguiente clasificación: grado 1 (bien diferenciado), grado 2 (moderadamente diferenciado) y grado 3 (pobrementemente diferenciado).

Se clasificaron los tumores en función de estadio localizado (I, II o III) o metastásicos (estadio IV). Se recogieron, asimismo, la localización de las metástasis a partir de la información recogida en sus historias oncológicas y pruebas radiológicas.

### **Manifestaciones extracolónicas**

Para la recogida y análisis de las manifestaciones extracolónicas de cada paciente se consideraron aquellas descritas en las guías NCCN (61, 18) y desarrolladas en la Tabla 4.

Se obtuvieron estos datos a través de las historias clínicas de los pacientes, los informes anatomopatológicos y las pruebas radiológicas.

## **2.3 ANÁLISIS DE VARIANTES PATOGENICAS EN APC Y MUTYH**

### **2.3.1 Extracción de DNA de sangre periférica**

El DNA genómico de alto peso molecular se extrajo a partir de sangre periférica de los pacientes. Tras centrifugar la muestra de sangre periférica se aisló la interfase de células leucocitarias, que se resuspendieron en tampón Fornace (0.25M sacarosa; 50 mM Tris-HCL pH 7.5; 25 mM KCL; 5mM MgCl<sub>2</sub>); EDTA (ácido etilendiaminotetra acético) 0.5M pH 8, que es un quelante de iones divalentes que posibilita la inactivación de las nucleasas; proteinasa K (20 mg/L), que degrada las proteínas; y SDS (dodecil sulfato sódico) al 10%, que rompe las membranas celulares.

Esta mezcla se incubó a 55°C durante unas 16 horas, tras lo cual se purificó el DNA tratándolo con una mezcla de fenol tamponado y CIAA (cloroformo : alcohol isoamílico 24:1) y centrifugado posteriormente para aislar las fases. Con este tratamiento el DNA queda en la fase acuosa, que se limpió de otros residuos mezclándola, de nuevo, con CIAA y centrifugando para separar las dos fases; una contiene el DNA y la otra que contiene los detritos celulares.

Tras este paso se añadió etanol absoluto frío a la fase acuosa, precipitando el DNA, que se recuperó, se lavó con etanol al 70% y, finalmente, se resuspendió en agua desionizada. La muestra de DNA se almacenó a -20°C en tubos eppendorff con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del DNA como la posible contaminación.

La concentración y el grado de contenido proteico de DNA se calcula tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro automático de DNA/RNA (ND-1000 Spectrophotometer Nanodrop Technologies, Inc. Wilmintong, DE. USA), siguiendo la fórmula:

$$\mu\text{g de DNA/ml} = (\text{DO } 260) \times (\text{factor de dilución}) \times 50$$

(Nota: 50 es un factor de corrección introducido, ya que la unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260 nm es un valor de absorbancia que tiene 50  $\mu\text{g}$  de DNA/ml).

El cociente DO<sub>260</sub> / DO<sub>280</sub> se utiliza para el grado de contaminación proteica, considerándose como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o solventes orgánicos; en estos casos, se procedió a realizar una nueva purificación del DNA. Valores superiores indican un exceso de RNA, que se elimina tratando la solución de DNA con RNAsa y purificando de nuevo, según el método descrito anteriormente (Sambrook et al., (126)).

### 2.3.2 Amplificación del DNA (PCR)

Las muestras de DNA fueron amplificadas por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, Polymerase Chain Reaction). Se amplificaron todos los exones de los genes APC, MUTYH, así como las fronteras intrón-exón y exón-intrón, mediante cebadores específicos que anillaban en la zona intrónica. El exón 15 de APC, debido a su gran tamaño, fue amplificado en varios fragmentos ordenados en sentido 5' a 3'.

La amplificación se llevó a cabo en un volumen de 25  $\mu\text{L}$ : 10  $\mu\text{L}$  de Master Mix (*5-Prime*) (ADN Taq polimerasa; dATP, dGTP, dCTP, dTTP;  $\text{MgCl}_2$ ); 10  $\mu\text{L}$  de agua libre de nucleasas; 1  $\mu\text{L}$  de cada oligonucleótido cebador (sentido y anti-sentido), 1  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  y 2  $\mu\text{L}$  de ADN obtenido por el método anteriormente descrito (concentración: 0,1-0,2  $\mu\text{g/mL}$ ). Como control negativo se utilizó un tubo de reacción con todos los componentes excepto el ADN molde.

Para amplificar los exones de los genes APC, MUTYH, partimos de un programa estándar de PCR, adaptado en cada caso al exón que se amplificó.

Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y la manipulación post-PCR se realizó en un área distinta de donde se llevó a cabo la extracción de ADN.

Los programas de amplificación utilizados en nuestro trabajo para las diferentes combinaciones de cebadores únicamente variaron en la temperatura de anillamiento para cada pareja de cebadores, los cuales se detallan en las tablas 8 y 9, correspondientes al gen APC. En ciertos casos, para obtener una mejor amplificación, se utilizaron una combinación de los cebadores sentido y antisentido de algunos fragmentos del exón 15 del gen APC, variando las condiciones de amplificación.

Tabla 8. Cebadores sentido y antisentido del gen APC

Exón	Cebador Sentido	Cebador Antisentido	Tamaño	T <sub>m</sub>
1	AGG TCC AAG GGT AGC CAA G	TAC CTC AAG TTT ACA AGA GGG AAT	200 pb	50°C
2	AAA TAC AGA ATC ATG TCT TGA AGT	ACA CCT AAA GAT GAC AAT TTG AG	85 pb	50°C
3	TTA AGA ATA TTT TAG ACT GCT TAA AGC	ACA ATA AAC TGG AGT ACA CAA GG	290 pb	50°C
4	TGA TGT AAG TAT TGC TCT TCT GC	TGA ATT TTA ATG GAT TAC CTA GGT	180 pb	50°C
5	CTT TTT TTG CTT TTA CTG ATT AAG C	TGT AAT TCA TTT TAT TCC TAA TAG CTC	114 pb	50°C
6	GGT AGC CAT AGT ATG ATT ATT TCT	CTA CCT ATT TTT ATA CCC ACA AAC	84 pb	50°C
7	AAG AAA GCC TAC ACC ATT TTT GC	GAT CAT TCT TAG AAC CAT CTT GC	105 pb	50°C
8	TCA TTT GGA GTA CCT TAA CAT GA	ACC TGG CCA AGA ATG TCT TA	220 pb	50°C
9	AGT CGT AAT TTT GTT TCT AAA CTC	TGA AGG ACT CGG ATT TCA CGC	379 pb	50°C
9A	TCA TTC ACT CAC AGC CTG ATG AC	GCT TTG AAA CAT GCA CTA CGA T	76 pb	50°C
10	AAA CAT CAT TGC TCT TCA AAT AAC	TAC CAT GAT TTA AAA ATC CAC CAG	96 pb	50°C
11	GAT GAT TGT CTT TTT CCT CTT GC	CTG AGC TAT CTT AAG AAA TAC ATG	140 pb	50°C
12	CAT TTA GTA GCC AAA AAT AAA GCT TG	ACC CCG TCT CTA TAA AAA ATA CAA AA	340 pb	50°C
13	TTT CTA TTC TTA CTG CTA GCA TT	ATA CAC AGG TAA GAA ATT AGG A	300 pb	50°C
14	TAG ATG ACC CAT ATT CTG TTT C	CAA TTA GGT CTT TTT GAG AGT A	215 pb	50°C
15.1	GTT ACT GCA TAC ACA TTG TGA C	GCT TTT TGT TTC CTA ACA TGA AG	372 pb	50°C
15.2	GCT CAA GCT TGC CAT CTC TT	GCA AAC CTC GCT TTG AAG AA	398 pb	50°C
15.3	TTC ATC AAG AGG AAG CTT AGA TAG TT	CTAG GTC GGC TGG GTA TTG A	480 pb	50°C
1061	GTC AAT ACC CAG CCG ACC TA	CCC GTG AAC TGT ATG GAG AA	324 pb	50°C
15.4	CCT CAA GTT CCA ACC ACA TTT	GAG CTG ATT CTG CCT CTT GG	436 pb	55°C
1309	AAG AGG CAG AAT CAG CTC CA	TCA GGT GGA CTT TTG GGT GT	446 pb	55°C
15.4	CAA AAG TGG TGC TCA GAC A	AGC TGT TTG AGG AGG TGG TG	254 pb	55°C
1462	CAT GCC ACC AAG CAG AAG TA	TTG CCA CAG GTG GAG GTA AT	543 pb	55°C
15.5	CAG CCC AGA CTG CTT CAA A	TGA TTT TTG TTG GGT GCA GA	511 pb	50°C
15.6	TCT GCA CCC AAC AAA AAT CA	TGC CTT TCT TAA TTC AGC CTT T	381 pb	50°C

Tabla 9. Cebadores sentido y antisentido del extremo 3' del gen APC

Exón	Cebador Sentido	Cebador Antisentido	Tamaño	Tm
15.8	CTT ACT GTT TTT CAC GAA ATG	GGT TCA TTT TCT TTA TTG TTG TT	400 pb	55°C
15.9	CAG CAA CTG ATG AAA AGT TAC A	CAA GTG TCA GAT CTT CAC CTA AT	402 pb	55°C
15.10	CAA AAA AGA AAA AGC CTT CA	ACT TTT CTC CCC TGG TTT TA	380 pb	55°C
15.11	ACC ATT TCA TCT TAC ACC TGA T	TTG GCT CCT CTA GGA GAA GT	387 pb	55°C
15.12	GGA GTT CGA AAT AGC TCC TC	TGA CAT TTT TCC AGA ACC TG	393 pb	55°C
15.13	TAG AAA TGG AAT AAG TCC TCC TA	CTT CTT AAG GTT GGG CTT G	366 pb	55°C
15.14	ATC AAG TGG AAG TGA ATC TGA T	CTG ACC TAT TGA TTG GAA GTC T	365 pb	55°C
15.15	TCA GTC CCA CTA TAG AGT ATA ATG A	AGG AAA CGG TCT GAG AAG TAC	363 pb	55°C
15.16	ACC AAA CAA AGT AAA GAA AAC	ACC TGA ATA AAG GAG TTC AGG	392 pb	55°C
15.17	TAA TCA GGC AAA ACA AAA TGT	GTT CAA CTG GAT TCT GTG C	387 pb	55°C
15.18	TCA GAT CCC AAC TCC AGT G	GGA TGG GAT GCT ACT TTA AAT	396 pb	55°C

La secuencia de cebadores y los tamaños de los fragmentos amplificados para *MUTYH* se detallan en la Tabla 10.

Tabla 10. Cebadores sentido y antisentido del gen MUTYH

Exón	Cebador Sentido	Cebador Antisentido	Tamaño	Tm
1	GAA GCT GCG GGA GCT GAA A	ATC CCC GAC TGC CTG AAC C	132 pb	57°C
2	CTG CTT TGG CTG GGT CTT T	CGC ACC TGG CCC TTC GTA AG	259 pb	57°C
3	AGG GAT GAT TGC TGA GTG TC	CAA TGC AAC CCC AGA TGA GG	268 pb	54°C
4	CTC ATC TGG GGT TGC ATT GA	GGG TTG GCA TGA GGA CAC TG	166 pb	57°C
5	GGG CAG GTC AGC AGT GTC	TAC ACC CAC CCC AAA GTA GA	189 pb	57°C
6	TAC TTT GGG GTG GGT GTA GA	AAG AGA TCA CCC GTC AGT CC	185 pb	57°C
7	GGG ACT GAC GGG TGA TCT CT	TTG GAG TGC AAG ACT CAA GAT T	186 pb	57°C
8	CCA GGA GTC TTG GGT GTC TT	AGA GGG GCC AAA GAG TTA GC	240 pb	57°C
9	AAC TCT TTG GCC CCT CTG TG	GAA GGG AAC ACT GCT GTG AAG	196 pb	57°C
10	GTG CTT CAG GGG TGT CTG C	TGT CAT AGG GCA GAG TCA CTC C	262 pb	57°C
11	TAA GGA GTG ACT CTG CCC TAT G	GCC AAG AGG GCT TTA GG	251 pb	57°C
12	AGC CCT CTT GGC TTG AGT A	TGC CGA TTC CCT CCA TTC T	297 pb	57°C
13	AGG GCA GTG GCA TGA GTA AC	GGC TAT TCC GCT GCT CAC TT	242 pb	57°C
14	TTG GCT TTT GAG GCT ATA TCC	CAT GTA GGA AAC ACA AGG AAG TA	256 pb	57°C
15	TGA AGT TAA GGG CAG AAC ACC	GTT CAC CCA GAC ATT CGT TAG T	207 pb	57°C
16	AGG ACA AGG AGA GGA TTC TCT G	GGA ATG GGG GCT TTC AGA	224 pb	57°C

### 2.3.3 Electroforesis en gel de Agarosa

Los fragmentos amplificados mediante PCR, fueron separados por su tamaño mediante electroforesis en geles horizontales de agarosa al 2% (*Gibco-BRL*) preparados con tampón TBE (Tris 0.044 M, ácido bórico 0.044 M, EDTA 1.0mM pH=8.3).

Las muestras se migraron en paralelo a un marcador de tamaño que corresponde con el ADN del fago  $\Phi$ X-174 cortado con la endonucleasa *HaeIII*. La electroforesis se llevó a cabo con una diferencia de potencial constante de 120 voltios durante 25 minutos.

Para monitorizar la migración del ADN en el gel utilizamos dos colorantes que se incluyeron en el tampón de carga: el xileno cianol, que migra aproximadamente con los fragmentos de 5 Kb en un gel de agarosa al 0.8%, y el azul de bromofenol, que migra aproximadamente con los fragmentos de 0.5 Kb.

Tras la electroforesis, los fragmentos amplificados se visualizaron en el gel de agarosa utilizando bromuro de etidio (0.1 $\mu$ g/ml), que actúa intercalándose entre las bases nitrogenadas del ADN y emitiendo fluorescencia al ser expuesto a la luz UV (254nm). Los resultados obtenidos se conservaron mediante un sistema de fotografía digital (BioRad).

### 2.3.4 Purificación del DNA

La purificación de fragmentos de DNA procedentes de la amplificación fue realizada mediante PureLink® PCR Purification kit (Life Technologies-Invitrogen, California, U.S.A). Se mezcló el producto de PCR con 4 volúmenes de la solución de *Binding*. Se pasó esta mezcla por la columna y se centrifugó a 10000 rpm durante un minuto. Posteriormente, para limpiar el DNA, se añadió a la columna 500  $\mu$ L de la solución *wash buffer*. A continuación, se centrifugó a 10000 rpm durante un minuto. Se decanta y se vuelve a centrifugar para secar la columna. Finalmente, el DNA pegado en la membrana se eluyó con 40  $\mu$ L de *elution buffer*.



### 2.3.5 Electroforesis en Gel Sensible a la Conformación (CSGE)

Los fragmentos amplificados fueron sometidos a análisis por CSGE siguiendo la técnica descrita por Orita, con algunas modificaciones (127)

El paso inicial del análisis por CSGE consiste en desnaturalizar el producto de PCR a 95°C y su posterior renaturalización para permitir la formación de heterodúplex (apareamiento entre cadenas que difieren en su secuencia) en el caso de individuos heterocigotos (figura 14). Los heterodúplex y los homodúplex migran de manera diferente en geles de acrilamida.

La electroforesis se realizó en geles MDE™ 2X (AT Biochem, Inc. USA), que es un polímero de acrilamida modificado derivado del vinilo. Se utilizaron las siguientes cantidades para preparar cada gel: agua destilada 7.705mL, formamida 99% 5.98mL, etilenglicol 99% 4.025mL, TBE 10X 2.415mL, MDE™ 2X 20.125mL, TEMED (N, N, N, N' Tetrametilendiamina) 36.8 µL, AMPS 25% 138 µL. La electroforesis se realizó a un voltaje de 180, durante 21 horas aproximadamente (el tiempo varía dependiendo del tamaño del fragmento de PCR a analizar).

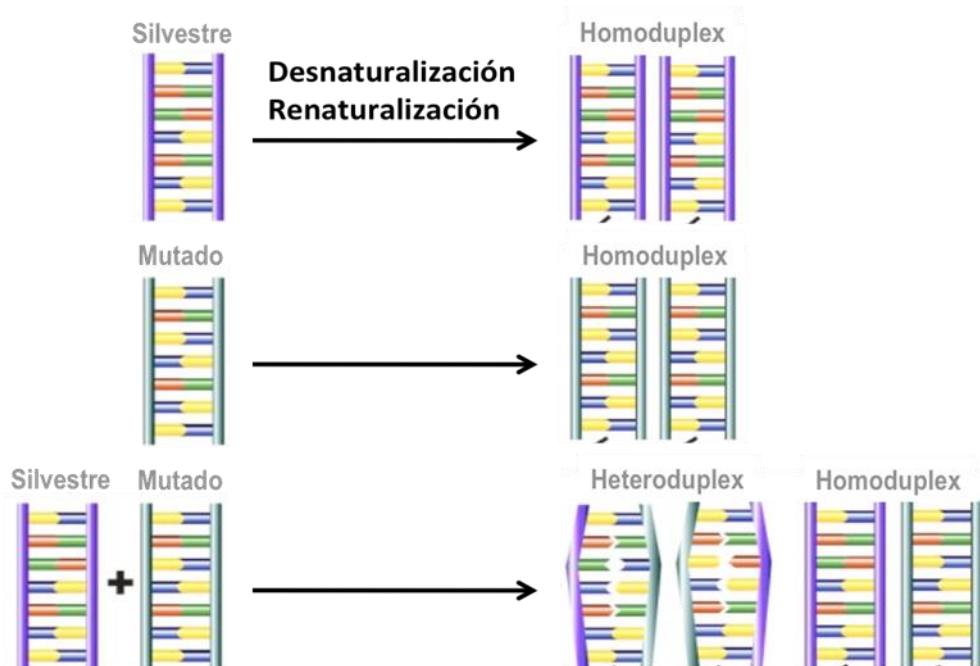


Figura 14. Esquema de la formación de Heterodúplex tras la desnaturalización y posterior renaturalización del producto de PCR. Las hebras madre, tras la desnaturalización, pueden renaturalizarse con su hebra complementaria correspondiente, o con la hebra complementaria del otro alelo. Si existe un cambio de nucleótido en heterocigosis dentro del fragmento amplificado, la renaturalización puede generar Heterodúplex, es decir apareamiento entre dos hebras que son complementarias en todos los nucleótidos excepto uno, generando un desapareamiento en este punto, lo que genera un cambio en la conformación del DNA, detectable por CSGE.

Para la tinción de plata se utilizó el reactivo comercial *DNA Silver Staining Kit* de *G.E. Healthcare*, siguiendo las instrucciones del comerciante. Los fragmentos de PCR de un mismo exón de distintos pacientes, con distintos patrones de migración en el gel de acrilamida, fueron posteriormente secuenciados. Esta técnica fue utilizada rutinariamente para el rastreo de mutaciones en APC y MUTYH.

En la figura 15 puede observarse el patrón de migración anómalo del exón 7 del gen APC en una familia que presenta una mutación patogénica.

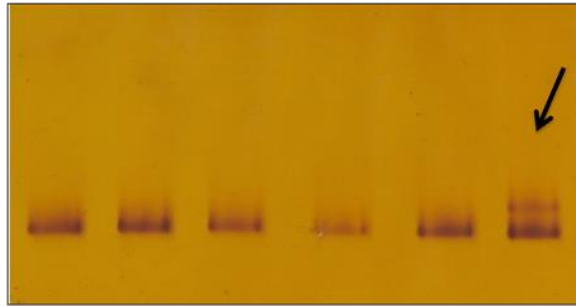


Figura 15. Electroforesis en gel sensible a la conformación (CSGE), donde se muestra el patrón de una mutación.

### 2.3.6 Análisis de grandes alteraciones cromosómicas del gen APC mediante MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)

Para el estudio de grandes pérdidas/amplificaciones genómicas del gen APC, se empleó la técnica de amplificación por PCR multiplex dependiente de ligación (MLPA). Es un método empleado para establecer el número de copias existente en hasta 45 secuencias de DNA en una única reacción. Fue descrito por Schouten (128) y consta de cuatro etapas: desnaturalización, hibridación, ligación y amplificación.

Cada reacción de amplificación consta de dos tipos diferentes de sondas específicas que llevan incorporado uno de los oligonucleótidos universales empleados para la amplificación final de los fragmentos. Con ello se reduce la inespecificidad de la técnica, puesto que es imprescindible que ambas sondas reconozcan las regiones de unión para que se lleve a cabo la amplificación. En un primer paso, la mezcla de las sondas de MLPA se añade al DNA genómico previamente desnaturalizado. Las dos partes de la sonda hibridan con secuencias diana adyacentes y ligan mediante una enzima ligasa termoestable.

La secuencia que proporcionan las dos sondas ligadas sirve como molde para la amplificación, utilizando oligonucleótidos universales y específicos de las sondas empleadas anteriormente marcados con un fluorocromo en uno de sus extremos. Los productos amplificados se someten a una cromatografía capilar y el resultado se visualiza en forma de electroferograma.

El kit utilizado para el análisis de deleciones o reordenamientos del gen APC es SALSA MLPA KIT P043 APC (MCR-Holland, Amsterdam, Holanda). Este kit contiene 36 sondas diferentes con productos de amplificación entre 130 y 445 pb. Adicionalmente, contiene 5 fragmentos control que generan productos amplificados más pequeños de 120pb: Cuatro fragmentos de cuantificación de DNA (fragmentos Q) de 64-70-76-82 pb y un control dependiente de ligación de un tamaño de 92pb.

Los ensayos de MLPA se realizaron en aquellos pacientes con fenotipo FAP (más de 100 pólipos) y que no presentaban ninguna mutación patogénica. No se realizaron estos ensayos en pacientes AFAP, debido a que se han reportado ausencia de estas alteraciones en pacientes con dicho fenotipo.

La preparación de las muestras para los ensayos de MLPA parten de 100 ng de DNA diluídos en ddH<sub>2</sub>O hasta un volumen de 5 µL y las condiciones de desnaturalización, hibridación, ligación y amplificación fueron estipuladas por el fabricante.

Para comprobar la correcta amplificación, se realizó una electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 2% mediante el procedimiento anteriormente descrito, cargando 6 µL de cada producto de PCR en los pocillos del gel.

El análisis de los fragmentos se realizó preparando cada muestra con 12 µL de formamida desionizada 0,2 µL del marcador de tamaños ROX (GeneScan<sup>TM</sup>-500) y 2,0 µL del producto de PCR. Esta mezcla se analizó en un secuenciador ABI Prism 3700 (PE Applied Biosystems) y los resultados se visualizaron mediante el software Peak Scanner v1.0.

### **2.3.7 Secuenciación automática**

Todos los productos de PCR analizados a través de CSGE, dHPLC y que mostraban un patrón de migración o de elución diferente, fueron secuenciados para identificar la

naturaleza de la variante encontrada. En el caso del genes MUTYH se secuenció directamente.

Para la secuenciación automática, las muestras se prepararon con 40-60ng de DNA purificado con 3 pmol del oligonucleótido sentido o antisentido correspondiente, llevado a un volumen final de 8  $\mu$ L. La reacción de secuenciación por Sanger se llevó a cabo en el secuenciador automático ABI PRISM 377 *DNA Sequencer* (Applied Biosystems, Inc.) en la unidad de Genómica del CIC, usando el kit *BigDye Terminator*® v.3.1.

La lectura y tratamiento de las secuencias automáticas se realizó con ayuda del programa *Chromas lite 2.01* (Figura 16). La determinación del grado de homología con las secuencias de referencia se llevó a cabo con el programa Serial Cloner.

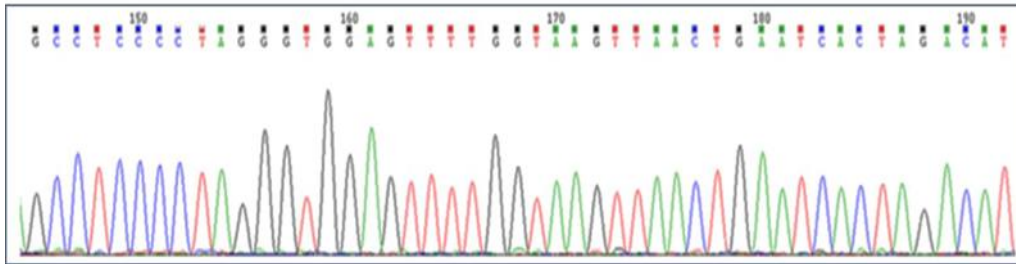


Figura 16. Secuencia de nucleótidos correspondiente a un fragmento del gen NOMO.

#### 2.4 PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA HEREDITARY ONCOKITDX®

En 57 de los pacientes que incluye este proyecto se realizó un panel de secuenciación NGS denominado Hereditary OncoKitDx®. Este panel analiza las secuencias de las regiones codificantes de 50 genes: APC, ATM, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK4, CDKN2A, CHEK2, EPCAM, FAM175A(ABRAXAS1), FH, KIF1B, MAX, MEN1, MET, MLH1, MLH3, MRE11, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, NTHL1, PALB2, PIK3CA, PMS2, POLD1, POLE, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, RB1, RET, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, STK11, TMEM127, TP53, VHL, XRCC2.

La metodología de este panel es la siguiente:

1. Preparación de la muestra: dilución y cuantificación de la muestra. Fragmentación enzimática de 10-26 ng de ADN genómico.
2. Ligación de adaptadores de secuenciación: reparación de los extremos y ligación de adaptadores. Purificación de los fragmentos unidos a los adaptadores. Amplificación universal de las librerías por PCR: unión de índice y adaptadores de secuenciación.
3. Hibridación y captura: hibridación de las sondas a las regiones de interés. Captura de las sondas con beads de estreptavidina. Purificación de los fragmentos de ADN capturados.
4. Enriquecimiento de las librerías: amplificación post-captura mediante PCR para el enriquecimiento de las librerías. Purificación de los productos de PCR.
5. Secuenciación masiva: secuenciación de las librerías con plataformas de Illumina.
6. Análisis bioinformático: pipeline de análisis diseñado especialmente para el Hereditary OncoKitDx® a través de la plataforma Datagenomics.

## **2.5 CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Todos los pacientes reclutados para el estudio genético fueron debidamente informados por los miembros clínicos de la consulta de la Unidad de Consejo Genético del CAUSA. El consentimiento informado fue el modelo estándar de la Unidad (Anexo 1).

## **2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Se fueron completando los datos de cada paciente en una base de datos creada a tal efecto en el programa Excel 2021. Una vez recogidos todos los datos, se codificaron las respectivas variables para trasladarlas al programa informático SPSS versión 23 para su posterior análisis estadístico.

---

Inicialmente, se clasificaron los pacientes en función de su estado mutacional:

- Pacientes con variante patogénica (VP) en el gen APC
- Pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH
- Pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH
- Pacientes con variante de significado desconocido (VSD) en el gen APC
- Pacientes sin VP o VSD en ninguno de los dos genes

Los dos pacientes con VSD en MUTYH no han sido considerados para este análisis por su escaso tamaño muestral.

Posteriormente realizamos un análisis descriptivo de cada grupo, para conocer las características clínicas, patológicas y moleculares de los sujetos a estudio. Para las variables cuantitativas se calcularon media (desviación típica), mediana y valor mínimo/máximo. En el caso de las variables categóricas nominales y ordinales se calculó la frecuencia y la proporción para cada categoría.

Para la realización del estudio descriptivo conjunto sobre la importancia de las variables en la discriminación de los grupos genotípicos se ha llevado a cabo el MANOVA BIPLLOT para un factor (129), aunque este análisis multivariante es utilizado principalmente con carácter inferencial para detectar diferencias entre grupos a partir de un conjunto de variables analizadas simultáneamente, en este estudio se ha utilizado como un análisis descriptivo. La razón de considerar simplemente el análisis descriptivo es por el escaso número de observaciones en la mayoría de los grupos y la tipología de alguna de las variables. Estas limitaciones producen el incumplimiento de los supuestos de partida de esta técnica para que se pueda considerar su validez inferencial. La ventaja que presenta esta técnica es su representación gráfica mediante el Biplot Canónico.

El Biplot Canónico (130 y 131) permite una representación ponderada de la matriz de medias consiguiendo las direcciones con máximo poder discriminante entre grupos. Además, esta técnica también puede proporcionar funciones discriminantes a partir de las variables canónicas que permitan la asignación de nuevos individuos a los distintos grupos.

La representación gráfica de los biplots muestra las principales diferencias entre grupos, las variables responsables de estas diferencias y realizar inferencias sobre las variables canónicas y originales mediante círculos de confianza situados sobre los puntos que representan a los grupos. Si se proyectan los círculos de confianza sobre las variables y los ejes canónicos (variables canónicas) se obtiene una estimación de intervalos de confianza para cada variable o eje canónico. Si las proyecciones de los círculos de confianza no se cruzan se puede afirmar que se han detectado diferencias estadísticamente significativas. Las variables canónicas son variables ficticias generadas a partir de la combinación lineal de las variables originales. Si bien, como se ha indicado, está última función inferencial de esta técnica no se ha tenido en cuenta. El significado interpretativo de las variables canónicas está basado por aquellas variables originales que mejor las explican.

Esta técnica también nos permite proyectar las observaciones originales en el espacio de las medias de los grupos. Esta característica nos permite observar cómo se distribuyen las observaciones en relación a la media de los grupos a los que pertenecen.

Para la realización del MANOVA BILOT se ha utilizado el MULTBILOT 2015 (132) y la función discriminante canónica el SAS-JMP versión 12.

# RESULTADOS



## 1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA

En este proyecto se llevó a cabo el estudio de las características clínicas, patológicas y moleculares de 177 pacientes con sospecha de poliposis adenomatosa hereditaria estudiados en la Unidad de Consejo Genético del CAUSA. Todos los pacientes cumplían los criterios de inclusión descritos en material y métodos:

1. Los pacientes debían de tener realizado el estudio mutacional en línea germinal de los genes APC y MUTYH.
2. Se debe de disponer de la historia oncológica personal y familiar del paciente.
3. Debían de firmar el consentimiento informado.

En la figura 17 se describe el diagrama de flujo del estudio:

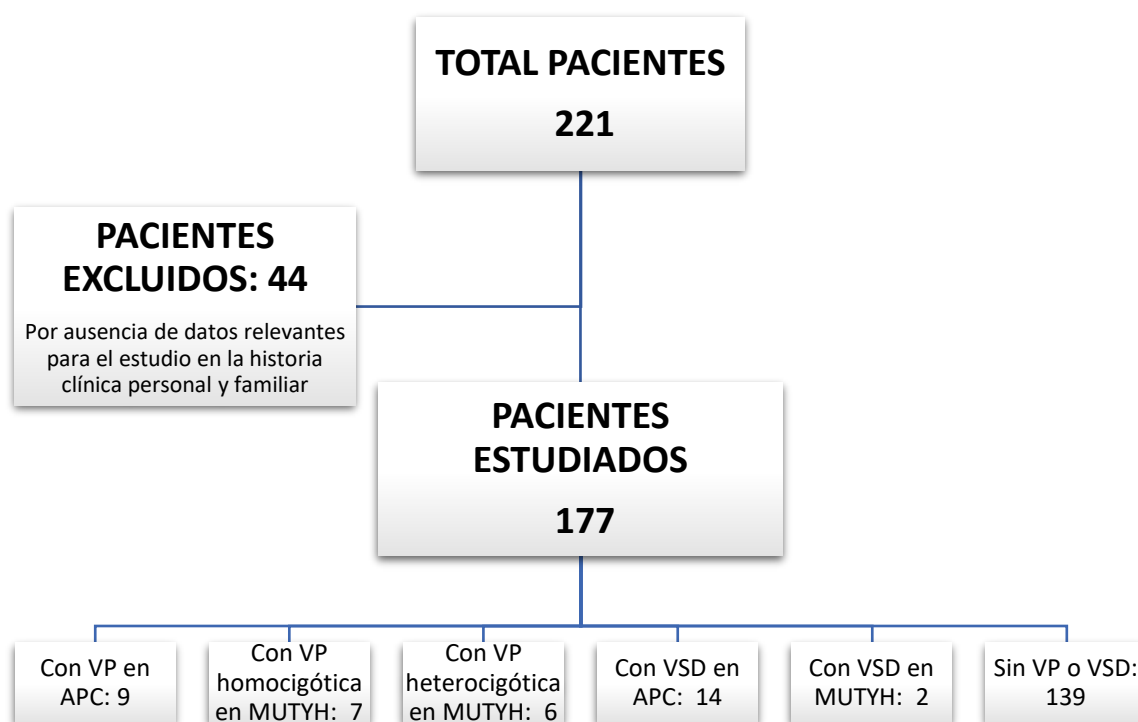


Figura 17. Diagrama de flujo del estudio

Si analizamos únicamente los 9 pacientes con VP en APC, 6 (66,6%) cumplían criterios clínicos de PAF clásica (más de cien pólipos) y 3 (33,3%) presentaban características clínicas de PAFA.

De los 177 pacientes incluidos en el estudio, 63 (35.5%) eran mujeres y 114 (65.5%) eran varones (figura 18). Presentaban una edad media de 61 años (DE 13.89) y una edad mediana de 63 (24-86) (tabla 11).

Tabla 11. Edad al estudio germinal

Edad al estudio germinal	
Media $\pm$ DE	61 $\pm$ 13,89
Mediana	63
Edad mínima	24
Edad máxima	86



Figura 18. Sexo de la población total

La distribución de la población por rango de edad se describe en la figura 19.

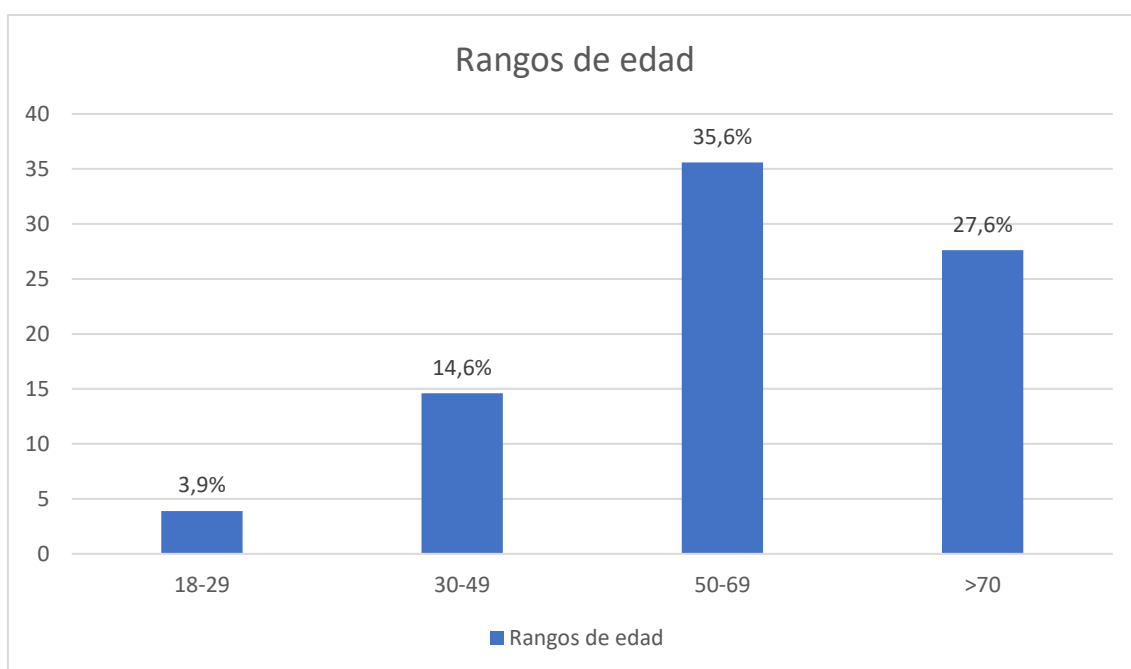


Figura 19. Distribución por rangos de edad.

Tras el estudio a nivel germinal de los genes MUTYH y APC se encontraron las siguientes mutaciones:

Se identificaron 9 (5%) casos de familias no emparentadas portadoras de variantes patogénicas en el gen APC (tabla 12). Cabe destacar el dato curioso de que las 9 VP sean diferentes y no se repita ninguna de ellas en los pacientes.

Tabla 12. VP patogénicas detectadas en el gen APC

Síndrome clínico	Localización cromosómica	Exón	Cambio de base	Cambio de aa	Tipo de mutación
PAF	5q22.2	15	c.3340C>T	p.Arg1114Ter	SNV
PAFA	5q22.2	15	c.2127del	p.Leu710fs	Delección
PAF	5q22.2	15	c.4721_4722del	p.I1574fsX	Delección
PAF	5q22.2	15	c.3783_3784del	p.Tyr1262Ter	Delección
PAFA	5q22.2	15	c.7927_7928del	p.Leu2643fs	Delección
PAF	5q22.2	4	c.498ins	p.Tyr159Ter	Inserción
PAF	5q22.2	15	c.3186_3187	p.Gln1062Ter	Delección
PAF	5q22.2	13	c.1957A>C	p.Arg653=	SNV
PAFA	5q22.2	3	c.422+1G>A	-	SNV

Se identificaron 7 (4%) casos de portadoras de variantes patogénicas en homocigosis en el gen MUTYH (tabla 13).

Tabla 13. VP en homocigosis en el gen MUTYH

Paciente	Localización cromosómica	Exón	Cambio de base	Cambio de aa	Tipo de mutación	Alelo
1	1p34.1	13	c.1227_1228dupGG	p.Glu410GlyfsTer43	SNV	Bialélica
2	1p34.1	13	c.1145 G>A	p.Gly382Asp	SNV	Bialélica
3	1p34.1	13	c.1187G>A	p.Gly396Asp	SNV	Bialélica
4	1p34.1	7	c.536 A>G	p.Tyr179Cys	SNV	Heterocigosis
	1p34.1	12	c.1147delC	p.Ala385Profs	Delección	Heterocigosis
5	1p34.1	7	c.494A>G	p.Lys165Arg	SNV	Heterocigosis
	1p34.1	12	c.1103_1104del	p.Ala638fs	Delección	Heterocigosis
6	1p34.1	12	c.1103_1104del	p.Ala638fs	Delección	Heterocigosis
	1p34.1	7	c.494A>G	p.Lys165Arg	SNV	Heterocigosis
7	1p34.1	12	c.1147delC	p.Ala385Profs	Delección	Bialélica

Como se puede observar en la tabla 13, 4 (57%) pacientes presentaron la misma VP del gen MUTYH en homocigosis, mientras que los otros 3 tenían dos VP diferentes en heterocigosis. Los pacientes 1 y 6 presentaron un fenotipo similar a una PAF clásica, con cientos de pólipos colónicos, requiriendo panproctocolectomía total profiláctica. Los pacientes 5 y 6 (estudiados ambos como caso índice al acudir a la UCG de forma paralela y no conocer, ninguno de los dos, el caso del otro. Conocidos estos datos *a posteriori* por las responsables clínicas de la unidad) estaban emparentados en 1º grado (hermanos), sin embargo, uno de ellos presentó un fenotipo más severo a pesar de tener el mismo tipo de VP.

Por otro lado, se encontraron un total de 6 (3,3%) pacientes portadores de 3 VP en heterocigosis en el gen MUTYH (tabla 14).

Tabla 14. Variantes patogénicas en heterocigosis en el gen MUTYH.

Localización cromosómica	Exón	Cambio de base	Cambio de aa	Tipo de mutación	Nº de pacientes
1p34.1	13	c.1187G>A	p.Gly396Asp	SNV	3
1p34.1	13	c.1145 G>A	p.Gly382Asp	SNV	2
1p34.1	7	c.494A>G	p.Lys165Arg	SNV	1

Además, en 16 (9%) pacientes se descubrió una variante de significado desconocido (VSD). 14 pacientes fueron portadores de una VSD en el gen APC (tabla 15) y 2 pacientes en el gen MUTYH (tabla 16).

Tabla 15. VSD en el gen APC

Localización cromosómica	Exón	Cambio de base	Cambio de aa	Tipo de mutación	Nº de pacientes
5q22.2	15	c.3920T>A	p.Ile1307Lys	SNV	1
5q22.2	15	c.3386T>C	p.Leu1129Ser	SNV	1
5q22.2	15	c.3949G>C	p.Glu1317Gln	SNV	4
5q22.2	15	c.3084T>G	p.Ser1028Arg	SNV	2
5q22.2	13	1752A>G	Gln565Gln	SNV	1
5q22.2	15	c.*86C>A	-	SNV	3
5q22.2	15	c.5801C>T	p.Pro1934Leu	SNV	1
5q22.2	15	c.5465T>A	p.Val1822Asp	SNV	1

Tabla 16. VSD en el gen MUTYH

Localización cromosómica	Exón	Cambio de base	Cambio de aa	Tipo de mutación
1p34.1	2	c.43A>G	-	SNV
1p34.1	10	c.841C>T	p.Arg281Cys	SNV

El resto de pacientes (139; 78,5%) no presentaron ninguna VP en línea germinal en los genes APC y MUTYH.

---

## **2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PATOLÓGICAS DE LOS PACIENTES EN FUNCIÓN DE SU ESTADO MUTACIONAL**

A continuación, se realizará un análisis descriptivo de todas las características, clínicas, patológicas y familiares de los pacientes incluidos en el estudio. Se realizará una descripción pormenorizada de cada grupo de pacientes, clasificándolos por su estatus mutacional. Los dos pacientes con VSD en MUTYH no han sido considerados para este análisis por su escaso tamaño muestral.

### **2.1 EDAD, SEXO Y ÉXITUS**

#### **Pacientes con VP en el gen APC**

Los 9 pacientes con mutación patogénica en el gen APC fueron 5 (55,5%) mujeres y 4 (45,5%) hombres (figura 20). Presentaban una edad media de 46 años (DE 14,75) y una mediana de edad de 48 años (24-70) (tabla 17).

En el momento de este análisis ningún paciente había fallecido (figura 21).

#### **Pacientes con VP en homocigosis en el gen MUTYH**

De los 7 pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH 3 (43%) fueron mujeres y 4 (57%) fueron hombres (figura 20). Presentaban una edad media de 65 años (DE 6,8) y una mediana de edad de 62 años (57-76) (tabla 17).

En el momento de este análisis ningún paciente había fallecido (figura 21).

#### **Pacientes con VP en heterocigosis en el gen MUTYH**

De los 6 pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH 4 (66,6%) fueron mujeres y 2 (33,3%) fueron hombres (figura 20). Presentaban una edad media de 64 años (DE 18,14) y una mediana de edad de 70 años (34-80) (tabla 17).

En el momento de este análisis 3 (50%) pacientes habían fallecido (figura 21). Todos ellos secundarios a la evolución de un CCR.

#### **Pacientes con VSD en el gen APC**

De los 14 pacientes con VSD en el gen APC 5 (35,7%) fueron mujeres y 9 (64,3%) fueron hombres (figura 20). Presentaban una edad media de 57 años (DE 16,9) y una mediana de edad de 60 años (24-80) (tabla 17).

En el momento de este análisis solamente había fallecido 1 (7%) paciente (figura 21). Relacionado con la evolución de un CCR.

### Pacientes sin VP en los genes APC y MUTYH

De los 139 pacientes sin mutación en los genes APC y MUTYH, 45 (32,3%) fueron mujeres y 94 (67,7%) fueron hombres (figura 20). Presentaban una edad media de 62 años (DE 12,7) y una mediana de edad de 65 años (26-86) (tabla 17).

En el momento de este análisis 20 (14,38%) pacientes habían fallecido (figura 21).

La causa más frecuente de éxitus fue relacionada con la evolución de un CCR, en 9 (45%), seguida de el carcinoma no microcítico de pulmón en 3 casos (15%), el carcinoma microcítico de pulmón (2, 10%), causa desconocida (2, 10%), ADC de próstata (2, 10%) y cáncer de esófago (2, 10%).

Tabla 17. Distribución de la edad de los pacientes en función de su estatus mutacional

Medida de dispersión	VP en APC	VP homocigótica MUTYH	VP heterocigótica MUTYH	VSD en APC	Sin VP ni VSD
Media $\pm$ DE	46 $\pm$ 14,75	65 $\pm$ 6,8	64 $\pm$ 18,14	57 $\pm$ 16,9	62 $\pm$ 12,7
Mediana	48	62	70	60	65
Edad mínima	24	57	34	24	26
Edad máxima	70	76	80	80	86

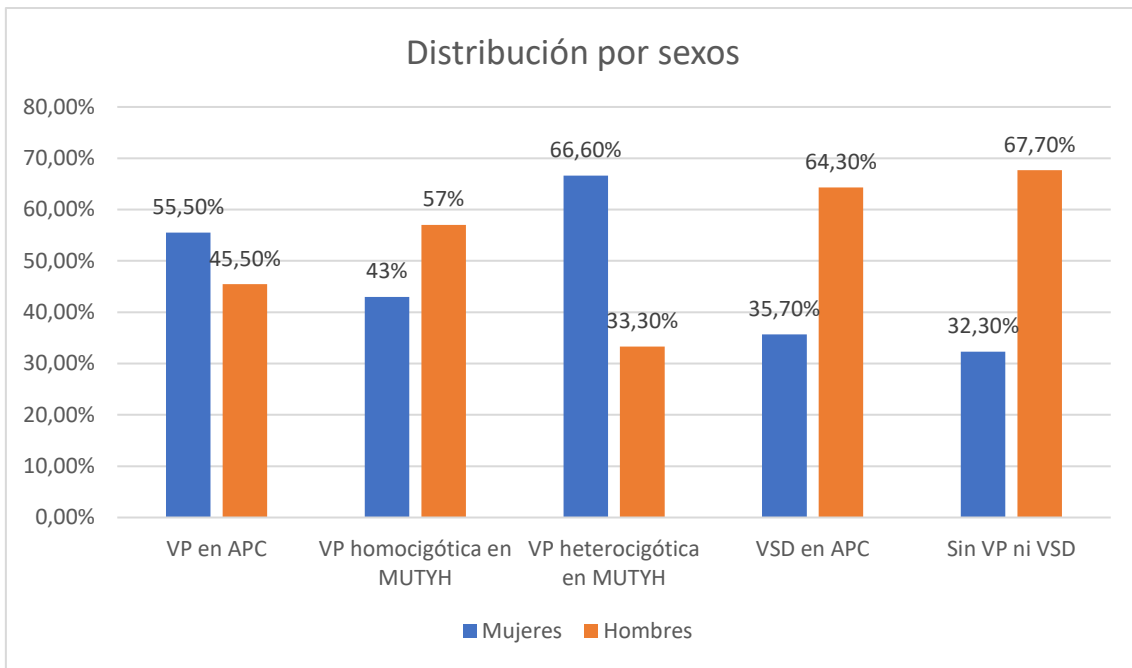


Figura 20. Distribución por sexos

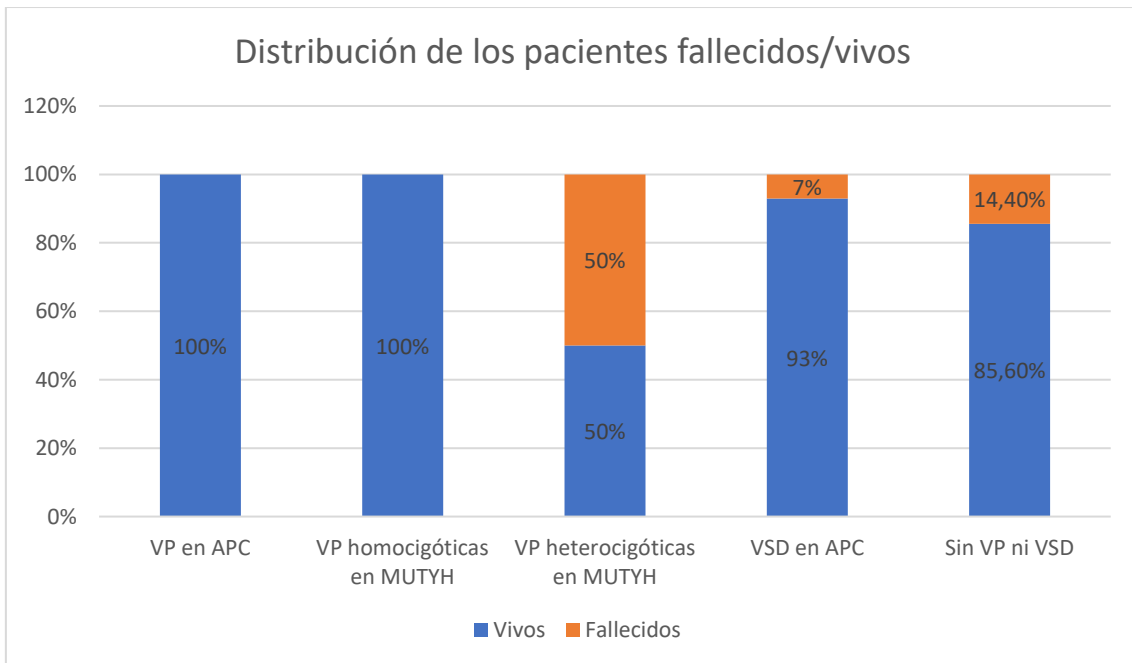


Figura 21. Distribución de los pacientes fallecidos/vivos



## 2. 2 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS E HISTORIA FAMILIAR

A continuación, clasificaremos a los pacientes en función de los criterios diagnósticos por los que se indicó la realización del estudio constitucional de APC y MUTYH (tabla 6). Asimismo, realizaremos una descripción de los antecedentes familiares de cáncer, principalmente asociados a la esfera de la PAF, de los pacientes incluidos en cada grupo. Es importante aclarar que hijo/a, padre, madre y hermano/a se consideraron familiares de primer grado. Se consideraron familiares de segundo grado a abuelos, nietos, tíos, sobrinos en la misma línea materna o paterna.

Antes de realizar el análisis estratificado por grupos cabe destacar que 10 (5,6%) pacientes cumplían criterios de PAF clásica (más de 100 pólipos). De esos 10, 6 (60%) presentaron una VP en el gen APC, 2 (20%) una VP en homocigosis en el gen MUTYH y otros 2 no presentaron VP ni VSD.

### Pacientes con VP en el gen APC

De los 9 pacientes con variante patogénica en el gen APC, 6 (66,6%) cumplían el criterio A (presentar más de 100 pólipos). 4 pacientes (44,4%) cumplían el criterio B (antecedentes familiares de PAF). Todos ellos cumplían el criterio C (>10 adenomas colorrectales) y 5 pacientes (55,5%) cumplían el criterio D (presencia de adenomas colorrectales antes de los 40-45 años). Salvo el caso de un paciente, el resto cumplían una combinación de varios criterios (tabla 18). 4 de las 9 VP encontradas fueron mutaciones *de novo*.

Tabla 18. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP en APC.

Criterio diagnóstico	Nº de pacientes
A+B+C	2
A+B+C+D	1
A+C+D	3
B+C	1
C	1
C+D	1

Atendiendo a los antecedentes familiares de cáncer asociados a los síndromes de poliposis hereditaria, 4 (44,4%) pacientes presentaban antecedentes de CCR en familiares de 1º grado y otros 4 presentaban antecedentes de CCR en familiares de 2º grado (tabla 19).

Tabla 19. Antecedentes familiares de los pacientes con VP en APC

Grado de parentesco	Nº de familiares	Nº de pacientes
Familiares de 1º grado	0	5
	1	4
	2	0
Familiares de 2º grado	0	5
	1	3
	2	1

### Pacientes con VP en homocigosis en el gen MUTYH

Si analizamos los pacientes con VP en homocigosis del gen MUTYH, 2 (28,5%) pacientes cumplían el criterio clínico A, 5 (71%) pacientes cumplían el criterio B, todos cumplía en criterio C y 1 paciente (14%) cumplía el criterio D. Todos ellos salvo uno, cumplían combinaciones de varios criterios (tabla 20).

Tabla 20. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP en homocigosis en MUTYH

Criterio diagnóstico	Nº de pacientes
A+B+C	2
B+C+D	1
B+C	2
C	2

Si analizamos los antecedentes familiares de cáncer asociados a los síndromes de poliposis hereditaria, 3 (42,8%) pacientes presentaban antecedentes de CCR en familiares de 1º grado y uno presentaba antecedentes de CCR en familiares de 2º grado. Asimismo 3 (42,8%) pacientes tenían antecedentes de cáncer de páncreas en familiares de 1º grado (tabla 21).

Tabla 21. Antecedentes familiares de los pacientes con VP en homocigosis en MUTYH

Grado de parentesco	Nº de familiares	Nº de pacientes
Familiares de 1º grado	0	3
	1	2
	2	1
	3	1
Familiares de 2º grado	0	6
	1	1
	2	0

### Pacientes con VP en heterocigosis en el gen MUTYH

Si analizamos los pacientes con VP heterocigótica del gen MUTYH, no había pacientes que cumplieren los criterios A y B, 2 (33,3%) pacientes cumplían el criterio C y 1 paciente (16%) cumplía el criterio D. Tres (50%) no cumplían ninguno de los criterios. 2 pacientes cumplían combinaciones de varios criterios (tabla 22).

Tabla 22. Criterios diagnósticos de los pacientes con VP heterocigótica del gen MUTYH

Criterio diagnóstico	Nº de pacientes
C	2
D	1
No cumplían	3

Ninguno de los pacientes estudiados tenía antecedentes familiares de cáncer en familiares de 1º grado. Por otro lado, 4 (66,6%) presentaban antecedentes de CCR en familiares de 2º grado y 2 (33%) pacientes tenían antecedentes de cáncer gástrico en familiares de 2º grado (tabla 23).

Tabla 23. Antecedentes familiares de pacientes con VP heterocigótica en MUTYH

Grado de parentesco	Nº de familiares	Nº de pacientes
Familiares de 1º grado	0	6
Familiares de 2º grado	0	2
	1	2
	2	1
	3	1

### Pacientes con VSD en el gen APC

Si analizamos los pacientes con VSD del gen APC, no había pacientes que cumplieren los criterios A y B, 8 (57,1%) pacientes cumplían el criterio C y 4 pacientes (28,5%) cumplían el criterio D. Tres (21,4%) no cumplían ninguno de los criterios (tabla 24).

Tabla 24. Criterios diagnósticos pacientes con VSD en el gen APC

Criterio diagnóstico	Nº de pacientes
C	6
C+D	2
D	3
No cumplían	3

Si analizamos los antecedentes familiares de cáncer asociados a los síndromes de poliposis hereditaria, 5 (35,7%) pacientes presentaban antecedentes de CCR en familiares de 1º grado y otros 5 presentaban también antecedentes de CCR en familiares de 2º grado. Asimismo 2 (14,2%) pacientes tenían antecedentes de tumores cerebrales en familiares de 2º grado y un paciente tenía un antecedente de cáncer gástrico en familiar de 1º grado (tabla 25).

Tabla 25. Antecedentes familiares pacientes con VSD en APC.

Grado de parentesco	Nº de familiares	Nº de pacientes
Familiares de 1º grado	0	6
	1	5
	2-3-4	0
	5	1
Familiares de 2º grado	0	9
	1	1
	2	3
	3	3
	4	1

### Pacientes sin VP ni VSD en ambos genes

Si analizamos los pacientes sin VP en APC y MUTYH, 2 (1,4%) cumplían el criterio A. Ninguno de ellos tenía antecedentes familiares de PAF confirmada (por lo que no cumplía el criterio B). En cuanto la presencia de más de 10 adenomas colorrectales en un mismo individuo (criterio C), lo cumplían 75 (53,9%) pacientes. Por último, el criterio D se cumplía en 25 pacientes (18%). Varios presentan combinaciones diferentes de estos criterios. Hubo un total de 46 (33%) pacientes que no cumplían ninguno de los criterios (tabla 26).

Tabla 26. Criterios diagnósticos pacientes sin VP en APC y MUTYH

Criterio diagnóstico	Nº de pacientes
A+C+D	1
A+C	1
C	67
C+D	6
D	18
No cumplían	46

Si analizamos los antecedentes familiares de cáncer asociados a los síndromes de poliposis hereditaria, 60 (43%) pacientes presentaban antecedentes de CCR en familiares de 1º grado y otros 18 (13%) presentaban también antecedentes de CCR en familiares de 2º grado. Asimismo, 7 (5%) pacientes tenían antecedentes de cáncer gástrico en familiares de 1º grado y 3 en familiares de 2º grado. Atendiendo al cáncer de páncreas, 5 (3.5%) de los pacientes tenían antecedentes de 1º grado. Además, existía un paciente con un antecedente de 1º grado de un tumor cutáneo y otro paciente con un antecedente de 1º grado de un tumor cerebral (tabla 27).

Tabla 27. Antecedentes familiares pacientes sin VP en APC y MUTYH

Grado de parentesco	Nº de familiares	Nº de pacientes
Familiares de 1º grado	0	72
	1	50
	2	14
	3	2
	4	1
Familiares de 2º grado	0	119
	1	9
	2	7
	3	2
	4	2

### **Frecuencia de detección de Síndromes de Poliposis Colónica Familiar mediante el uso de criterios clínicos.**

Si analizamos todos los grupos de forma conjunta, podemos observar que, de los 177 sujetos a estudio, no cumplían ningún criterio clínico de estudio 52 (29%) pacientes: 3 pacientes con VP heterocigótica en MUTYH, 3 pacientes con VSD en APC y 46 pacientes sin VP ni VSD.

Todos los pacientes que no cumplían los criterios establecidos por la Junta de Castilla y León (tabla 6) presentaban antecedentes de CCR a edades tempranas, asociado a

antecedentes de poliposis en familiares de 1° grado, así como otros antecedentes familiares de cáncer. Alguno de ellos tenía realizado el estudio no informativo de los MMR.

Analizando los 125 pacientes restantes, que sí cumplían alguno de los criterios clínicos de estudio (tabla 6), podemos observar que en 16 (12%) casos (9 en APC y 7 en MUTYH) se halló una variante patogénica en uno de los dos genes causantes de poliposis hereditaria.

En la siguiente gráfica mostramos la frecuencia de detección de Síndromes de Poliposis Colónica Familiar mediante el uso de los criterios clínicos propuestos (figura 22)

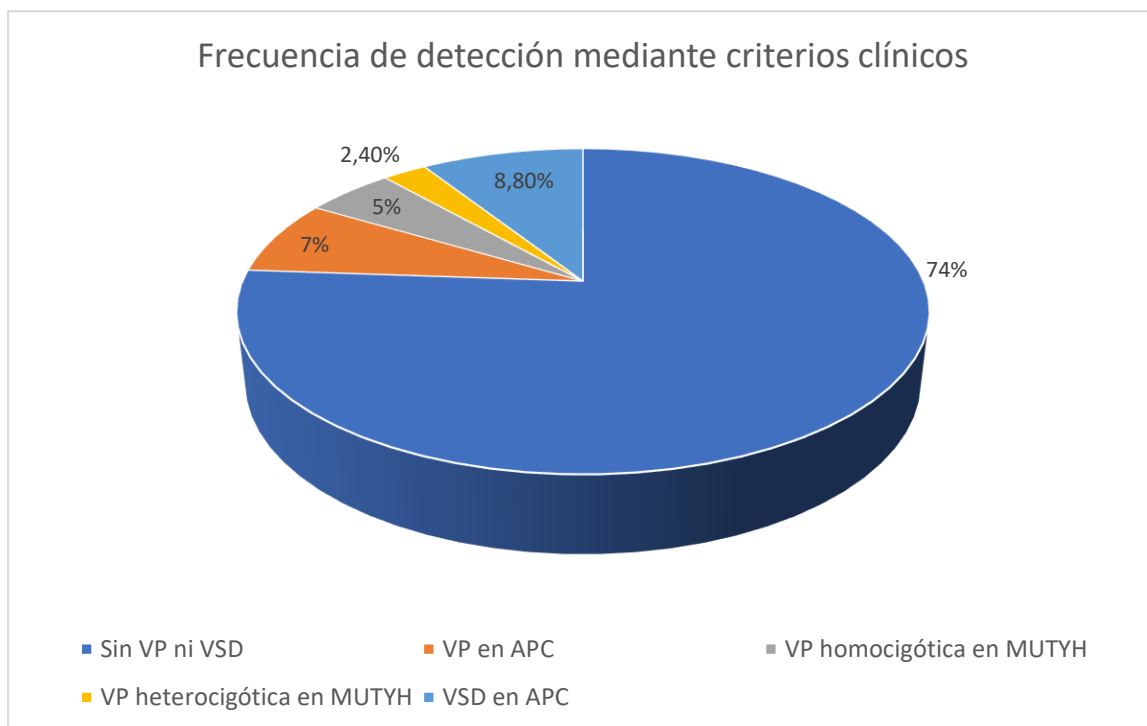


Figura 22. Frecuencia de detección mediante criterios clínicos

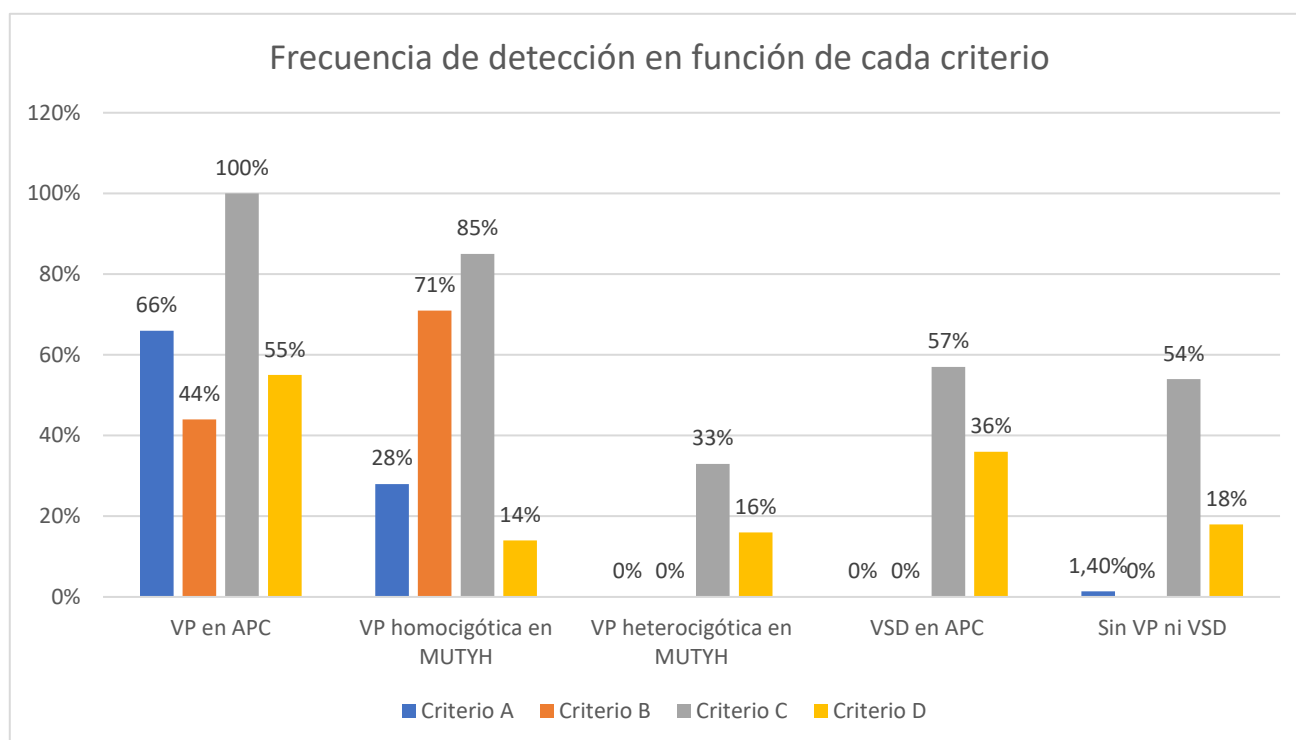


Figura 23. Frecuencia de detección en función de cada criterio clínico.

### 2. 3 ANTECEDENTE PERSONAL DE CCR Y CIRUGÍAS PROFILÁCTICAS

Como se ha explicado durante todo este proyecto de tesis, la PAF es un factor de riesgo muy importante para acabar desarrollando un CCR. Asimismo, se asocia con otros tumores como el cáncer de duodeno, gástrico, hepatoblastoma o tumor desmoide, de los que hablaremos posteriormente.

A continuación, nos centraremos en la frecuencia de detección de CCR en los pacientes de cada grupo de estudio, así como algunas de sus características.

#### **Pacientes con variante patogénica en el gen APC**

De los 9 pacientes incluidos en este grupo, 4 (44.4%) pacientes fueron diagnosticados de un CCR a lo largo de su vida. La edad media de aparición del CCR fue de 43 años. El resto de las características se resumen en la tabla 28.



Tabla 28. Características de los CCR en los pacientes con VP en APC.

Nº total de CCR	4 (44.4%)
Edad de diagnóstico	
Edad media (años)	43
Edad mediana (años)	39
Rango (años)	25-68
Localización del tumor 1º	
Izquierdo	3 (75%)
Derecho	1 (25%)
Tipo histológico	
Entérico	4 (100%)
Grado histológico	
1	0
2	3 (75%)
3	0
Indeterminado	1 (25%)
Estadio	
I	1 (25%)
II	2 (50%)
III	1 (25%)
IV	0
IHQ MMR	
pMMR (expresión conservada)	3 (75%)
dMMR (déficit de expresión)	0
Indeterminado	1 (25%)
Localización de las metástasis	0

### Pacientes con variante patogénica en homocigosis en el gen MUTYH

En el caso de los 7 pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH, se resumen la frecuencia de aparición y características de los CCR en estos pacientes en la tabla 29.

Tabla 29. Características de los CCR en los pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH

<b>Nº total de CCR</b>	4 (57%)
<b>Edad de diagnóstico</b>	
Edad media (años)	56
Edad mediana (años)	55
Rango (años)	44-70
<b>Localización del tumor 1º</b>	
Izquierdo	2 (50%)
Derecho	2 (50%)
<b>Tipo histológico</b>	
Entérico	4 (100%)
<b>Grado histológico</b>	
1	3 (75%)
2	0
3	0
Indeterminado	1 (25%)
<b>Estadio</b>	
I	1 (25%)
II	2 (50%)
III	0
IV	1
<b>IHQ MMR</b>	
pMMR (expresión conservada)	3 (75%)
dMMR (déficit de expresión)	0
Indeterminado	1 (25%)
<b>RAS</b>	
Nativo	0
Mutado	1 (25%)
Indeterminado	3 (75%)
<b>BRAF</b>	
Nativo	1 (25%)
Mutado	0
Indeterminado	3 (75%)

Localización de las metástasis	
Hepáticas	0
Peritoneales	1 (25%)
Pulmonares	0
Óseas	0

### Pacientes con VP en heterocigosis en el gen MUTYH

En el caso de los 6 pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH, se resume la frecuencia de aparición y características de los CCR en estos pacientes en la tabla 30.

Tabla 30. Características de los CCR en los pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH

Nº total de CCR	5 (83%)
Edad de diagnóstico	
Edad media (años)	56
Edad mediana (años)	59
Rango (años)	32-73
Localización del tumor 1º	
Izquierdo	0
Derecho	5 (100%)
Tipo histológico	
Entérico	5 (100%)
Grado histológico	
1	3 (60%)
2	2 (40%)
3	0
Indeterminado	0
Estadio	
I	2 (40%)
II	1 (20%)
III	0
IV	2 (40%)

<b>IHQ MMR</b>	
pMMR (expresión conservada)	5 (83%)
dMMR (déficit de expresión)	0
Indeterminado	1 (17%)
<b>RAS</b>	
Nativo	0
Mutado	1
Indeterminado	5
<b>BRAF</b>	
Nativo	0
Mutado	1 (17%)
Indeterminado	5 (83%)
<b>Localización de las metástasis</b>	
Hepáticas	1 (50%)
Peritoneales	2 (100%)
Pulmonares	1 (50%)
Óseas	0
Otras	Krukenberg 2 (100%)

### Pacientes con VSD en el gen APC

En el caso de los 14 pacientes con VSD en el gen APC, se resume la frecuencia de aparición y características de los CCR en estos pacientes en la tabla 31.

Tabla 31. Características de los CCR de los pacientes con VSD en el gen APC

<b>Nº total de CCR</b>	8 (57%)
<b>Edad de diagnóstico</b>	
Edad media (años)	56
Edad mediana (años)	55
Rango (años)	32-78
<b>Localización del tumor 1º</b>	
Izquierdo	3 (37,5%)
Derecho	5 (62,5%)

<b>Tipo histológico</b>	
Entérico	7 (87.5%)
Mucinoso	1 (12.5%)
<b>Grado histológico</b>	
1	5 (62,5%)
2	3 (37.5%)
3	0
Indeterminado	0
<b>Estadio</b>	
I	2 (25%)
II	5 (62.5%)
III	1 (12.5%)
IV	0
<b>IHQ MMR</b>	
pMMR (expresión conservada)	5 (62.5%)
dMMR (déficit de expresión)	0
Indeterminado	3 (37.5%)
<b>RAS</b>	
Nativo	0
Mutado	0
Indeterminado	8 (100%)
<b>BRAF</b>	
Nativo	0
Mutado	0
Indeterminado	8 (100%)
<b>Localización de las metástasis</b>	0

### **Pacientes sin VP ni VSD en los genes APC y MUTYH**

Por último, vamos a estudiar el comportamiento, frecuencia de aparición y características de los CCR diagnosticados en los 139 pacientes sin VP en los genes APC y MUTYH tabla 32.

Tabla 32. Características de los CCR de los pacientes sin VP ni VSD en los genes APC y MUTYH.

Nº total de CCR	66 (47.4%)
Edad de diagnóstico	
Edad media (años)	62
Edad mediana (años)	64
Rango (años)	27-85
Localización del tumor 1º	
Izquierdo	40 (60%)
Derecho	21 (32%)
Ambos	5 (8%)
Tipo histológico	
Entérico	61 (92%)
Mucinoso	5 (8%)
Grado histológico	
1	34 (51.5%)
2	23 (34.8%)
3	3 (4.5%)
Indeterminado	6 (9%)
Estadio	
I	11 (16.6%)
II	29 (44%)
III	17 (25.7%)
IV	9 (13.6%)
IHQ MMR	
pMMR (expresión conservada)	47 (71.2%)
dMMR (déficit de expresión)	1 (PMS2-)
Indeterminado	18 (27.27%)
RAS	
Nativo	8 (88.8%)
Mutado	1 (12.5%)
Indeterminado	0

<b>BRAF</b>	
Nativo	2 (22.2%)
Mutado	0
Indeterminado	7 (77.8%)
<b>Localización de las metástasis</b>	
Hepáticas	6 (66.6%)
Peritoneales	3 (33.3%)
Pulmonares	4 (44.4%)
Óseas	1 (11.1%)
Otras	3 (33.3%)

### **Cirugías profilácticas para disminución del riesgo de CCR**

Ante individuos con diagnóstico de PAF se considera indicada la cirugía mediante colectomía total o subtotal, ante la presencia de múltiples adenomas que no puedan ser controlados endoscópicamente. La cirugía se intenta realizar a partir de la segunda década de la vida si el manejo endoscópico es suficientemente seguro en niños e individuos jóvenes. Los tipos de cirugía posible de más a menos conservadora son: colectomía total con anastomosis ileorrectal, proctocolectomía con reservorio ileal y anastomosis anal, y proctocolectomía con ileostomía permanente. Se requiere vigilancia del recto (cada 6-12 meses) si no se extirpa y, en caso contrario, del reservorio ileal (cada 1-3 años, en función de la presencia o no de pólipos). En caso de ileostomía también se debe vigilar e inspeccionar el estoma ante el riesgo de presentar pólipos en la zona (87).

En nuestra muestra, a un total de 30 (17%) pacientes se les ha realizado una panproctocolectomía total profiláctica. De esos treinta, 20 (66.6%) eran hombres y 10 (33.3%) mujeres.

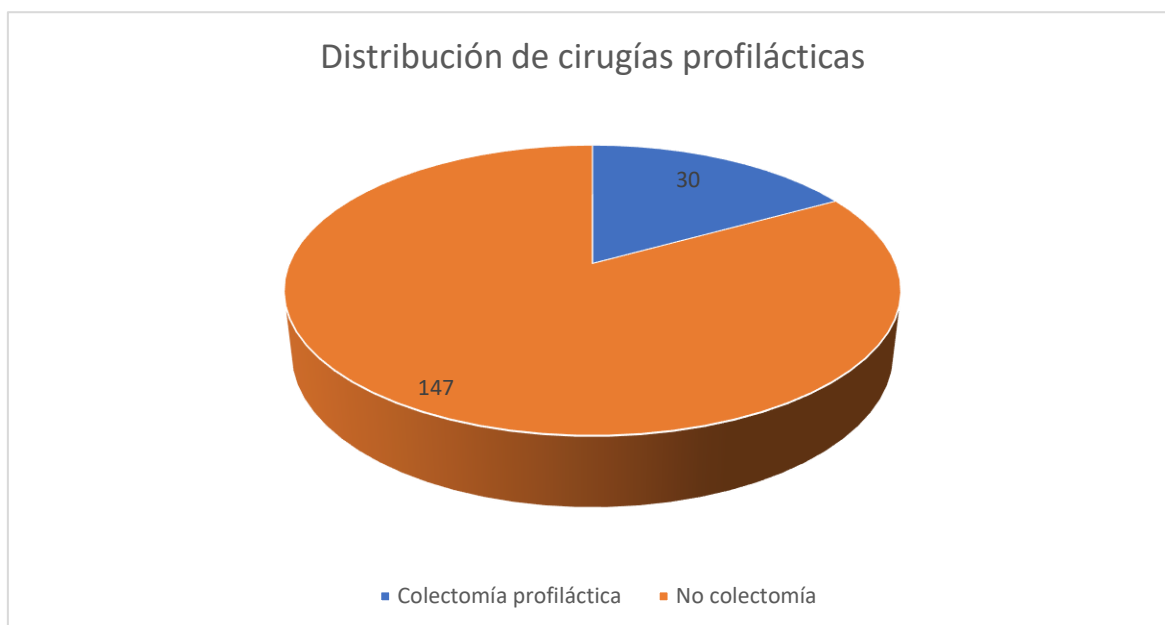


Figura 24. Distribución de cirugías profilácticas en la población total.

Si analizamos únicamente los grupos de pacientes con variante patogénica propiamente dicha (APC y bialélica en MUTYH), de los 16 pacientes, únicamente 2 (12.5%) no han optado por realizar una colectomía total. Uno de ellos tenía una VP en APC con fenotipo atenuado y el otro tenía una VP en cada alelo del gen MUTYH. Por el otro lado 14 (87.5%) sí han sido intervenidos. Por lo tanto, prácticamente la mitad de los pacientes con cirugías profilácticas forman parte de este reducido grupo de 16 pacientes.

Centrándonos en el resto de los grupos sin variante patogénica constitucional, a 16 pacientes de 161 (10%) se les ha realizado una colectomía profiláctica. Cabe destacar que la gran mayoría (12) son hombres (figura 25).

La principal causa por la que se realizó una colectomía total en los pacientes sin VP fue la imposibilidad de control de manera endoscópica de los pólipos colónicos que presentaban. Esto ocurrió en 7 (43%) pacientes. Otras causas fueron la presencia de CCR y numerosos pólipos (3, 19%), el diagnóstico de 2 tumores sincrónicos en colon izquierdo y derecho (3, 19%), la presencia de colitis ulcerosa en un paciente y en 3 (19%) pacientes se desconoce la causa.



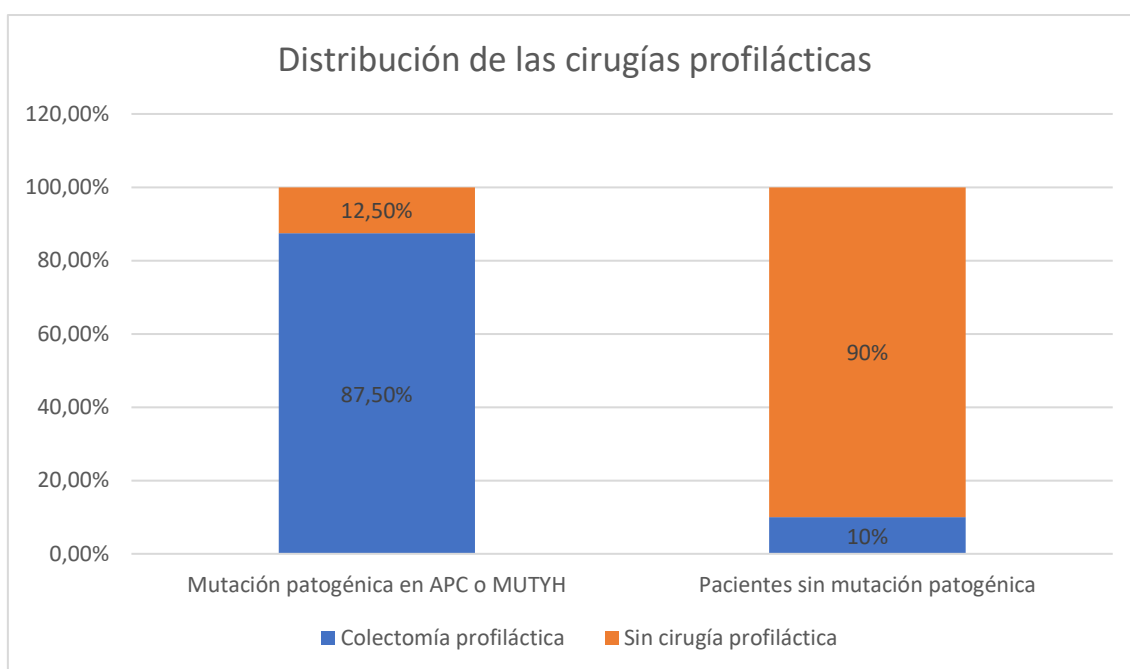


Figura 25. Distribución de las cirugías profilácticas en función del estado mutacional.

## 2.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS POLIPOSIS Y ESTUDIO ENDOSCÓPICO

Hemos realizado una recogida de datos de cada paciente basándonos en:

- Número de colonoscopias previas al estudio genético.
- Número de colonoscopias totales.
- Edad de diagnóstico del primer pólipo identificado.
- Número de pólipos en colon derecho.
- Número de pólipos en colon izquierdo.
- Número de pólipos totales a lo largo de su vida.
- Tipo histológico de los pólipos encontrados.

A continuación, realizaremos un análisis descriptivo detallado de todos y cada uno de estos datos, clasificando a los pacientes conforme a su estado mutacional.

### Pacientes con VP en el gen APC

Los 9 pacientes incluidos en el estudio con variante patogénica en APC, se realizaron una media de 1.2 colonoscopias previas y una mediana de 1 (0-6). Si analizamos el número

de colonoscopias totales realizadas sobre estos pacientes, tendríamos una media de 7.5 y una mediana de 5 (2-22) (tabla 33).

Tabla 33. Colonoscopias realizadas a los pacientes con VP en APC

Nº de colonoscopias previas	
Media	1.2
Mediana	1
Rango	0-6
Nº de colonoscopias totales	
Media	7.5
Mediana	5
Rango	2-22

La edad media de aparición del primer pólipo en estos pacientes fue de 39.4 años (DE 16.56) y una mediana de 36 (15-68) (figura 26).

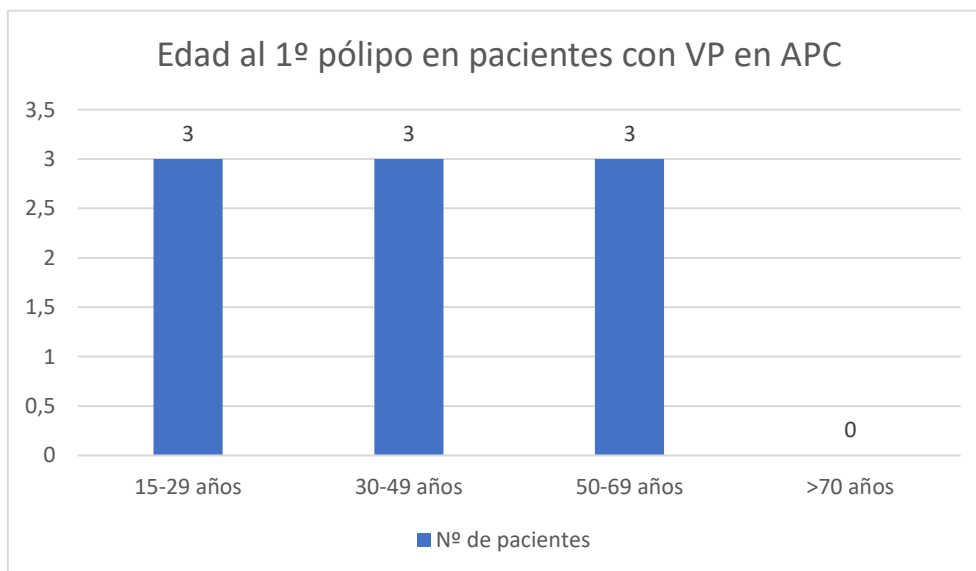


Figura 26. Edad al 1º pólipo de los pacientes con VP en APC.

Cuando analizamos el número total de pólipos (tanto extirpados, como resecaados en cirugías profilácticas o simplemente observados en las diferentes colonoscopias)

observamos que únicamente pudieron ser contados en 3 pacientes, ya que el resto presentaba cientos de pólipos a lo largo del colon, de tal manera que no hemos podido realizar una medición exacta de ellos. Para este tipo de pacientes hemos dado el valor >100.

Lo mismo ocurre cuando analizamos el número total de pólipos en función de su localización (colon izquierdo o colon derecho) (tabla 34).

*Tabla 34. Nº de pólipos totales y en función de la lateralidad en pacientes con VP en APC.*

9 pacientes	Pólipos en colon izquierdo	Pólipos en colon derecho	Total de pólipos
1	45	15	60
2	8	17	25
3	50	24	74
Resto: 6	>100	>100	>100
Totales (anulando datos >100)	103	56	160
Media (anulando >100)	34.3	18.6	53
Mediana (anulando >100)	45	17	60

Además, hemos analizado el tipo histológico de los pólipos que se podían extirpar y recoger, diferenciándolos en adenomatosos, hamartomatosos, serrados e hiperplásicos. Los 9 (100%) pacientes con mutación en APC presentaban pólipos adenomatosos, en ninguno se extirpó un pólipo hamartomatosos, en 1 (9%) paciente se reseco un pólipo serrado que además también contaba con pólipos hiperplásicos y otros 4 (44.7%) también presentaron pólipos hiperplásicos (figura 27).

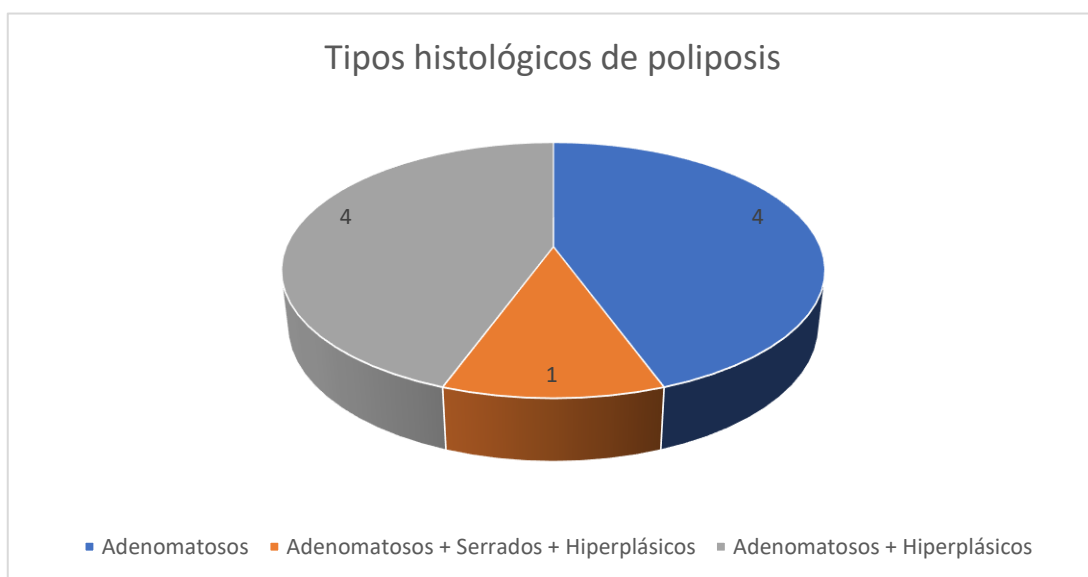


Figura 27. Tipos histológicos de poliposis en los pacientes con VP en APC.

### Pacientes con VP en homocigosis en el gen MUTYH

Los 7 pacientes incluidos en el estudio con variante patogénica homocigótica en el gen MUTYH, se realizaron una media de 2.8 colonoscopias previas y una mediana de 3 (0-5). Si analizamos el número de colonoscopias totales realizadas sobre estos pacientes, tendríamos una media de 7.57 y una mediana de 6 (4-13) (tabla 35).

Tabla 35. Colonoscopias realizadas a la población con VP homocigótica en MUTYH

Nº de colonoscopias previas	
Media	2.8
Mediana	3
Rango	0-5
Nº de colonoscopias totales	
Media	7.57
Mediana	6
Rango	4-13

La edad media de aparición del 1º pólipo en estos pacientes fue de 56.8 años (DE 7.7) y una mediana de 57 (44-69) (figura 28).

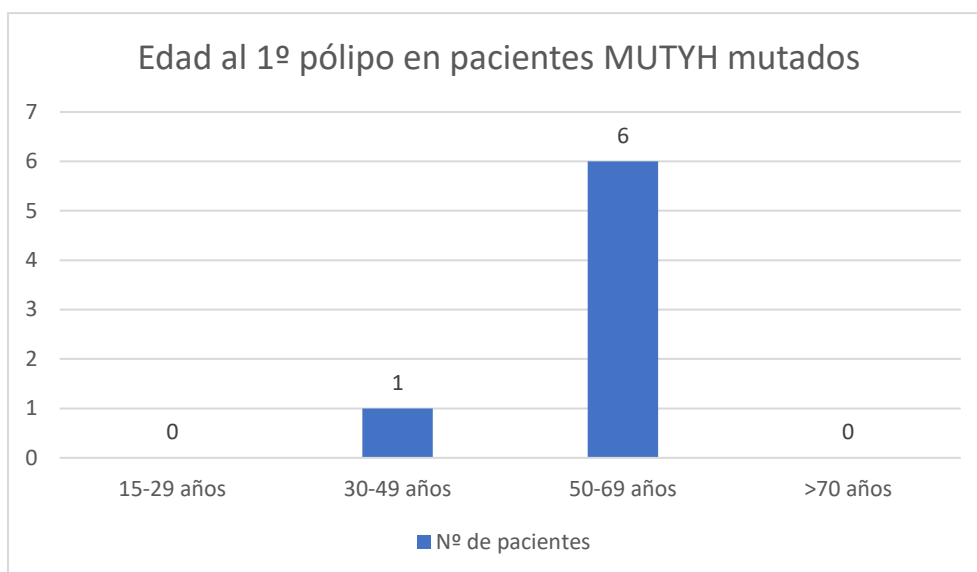


Figura 28. Edad al 1º pólipo de los pacientes con mutación homocigótica en MUTYH

Cuando analizamos el número total de pólipos, nos ocurre una situación similar a la anterior cuando realizamos el análisis de los pacientes con VP en APC. Hay 2 (28.5%) de los 7 pacientes que han tenido cientos de pólipos a lo largo de su vida, por lo tanto, no se puede realizar el conteo total ni en función de la lateralidad colónica.

Sin embargo, sí que realizaremos el análisis descriptivo de los otros 5 pacientes (tabla 36).

Tabla 36. Nº de pólipos totales y en función de la localización en el colon de los pacientes con VP bialélica en MUTYH

7 pacientes	Pólipos en colon izquierdo	Pólipos en colon derecho	Total de pólipos
1	8	29	37
2	9	4	13
3	5	90	95
4	25	74	99
5	34	10	44
Resto: 2	>100	>100	>100
<b>Totales (anulando &gt;100)</b>	<b>81</b>	<b>207</b>	<b>288</b>

Media (anulando >100)	16.2	41.4	57.6
Mediana (anulando >100)	9	29	44

En función de su tipo histológico, los 7 (100%) pacientes con VP bialélica en MUTYH presentaban pólipos adenomatosos, en ninguno se extirpó un pólipo hamartomatosos, en 1 (9%) paciente se resecó un pólipo serrado que además también contaba con pólipos hiperplásicos y otros 5 (55.5%) también presentaron pólipos hiperplásicos (figura 29).

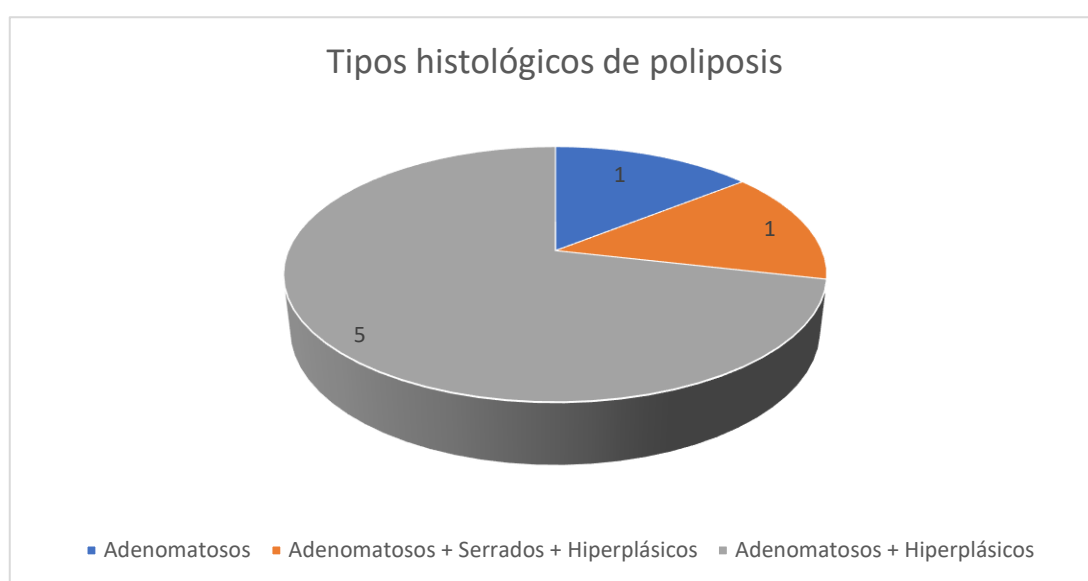


Figura 29. Tipo histológico de las poliposis en pacientes con VP homocigótica en MUTYH

### Pacientes con variante patogénica en heterocigosis en el gen MUTYH

Los 6 pacientes incluidos en el estudio con variante patogénica heterocigótica en el gen MUTYH, se realizaron una media de 2.8 colonoscopias previas y una mediana de 3 (1-4). Si analizamos el número de colonoscopias totales realizadas sobre estos pacientes, tendríamos una media de 3.8 y una mediana de 4 (1-7) (tabla 37).

Tabla 37. Colonoscopias realizadas a la población con VP heterocigótica en MUTYH

N° de colonoscopias previas	
Media	2.8
Mediana	3
Rango	1-4
N° de colonoscopias totales	
Media	3.8
Mediana	4
Rango	1-7

La edad media de aparición del 1º pólipo en estos pacientes fue de 58.3 años (DE 15.78) y una mediana de 63.5 (44-69) (figura 30).

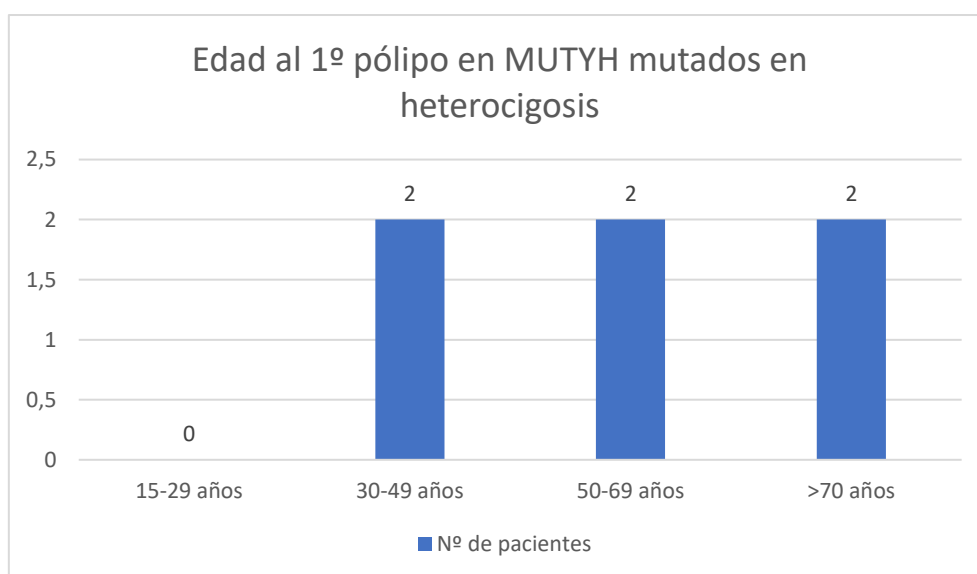


Figura 30. Edad al 1º pólipo de los pacientes con VP heterocigótica en MUTYH

A continuación, analizaremos el número de pólipos total y en función de su localización colónica que han tenido estos 6 pacientes a lo largo de su vida. Ninguno de ellos ha tenido que realizar una colectomía profiláctica y en todos se ha podido realizar un contaje pormenorizado de los pólipos (tabla 38).

Tabla 38. Nº de pólipos totales y en función de la localización en el colon de los pacientes con VP heterocigótica en MUTYH

6 pacientes	Pólipos en colon izquierdo	Pólipos en colon derecho	Total de pólipos
1	10	11	21
2	0	2	2
3	15	33	48
4	1	2	3
5	3	4	7
6	1	0	1
<b>Totales</b>	<b>30</b>	<b>52</b>	<b>82</b>
<b>Media</b>	<b>5</b>	<b>8.6</b>	<b>13.6</b>
<b>Mediana</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>

En función de su tipo histológico, 5 (83.3%) pacientes con mutación heterocigótica en MUTYH presentaban pólipos adenomatosos, en ninguno se extirpó un pólipo hamartomatoso ni serrado y 4 (66.6%) pacientes también presentaron pólipos hiperplásicos (figura 36).

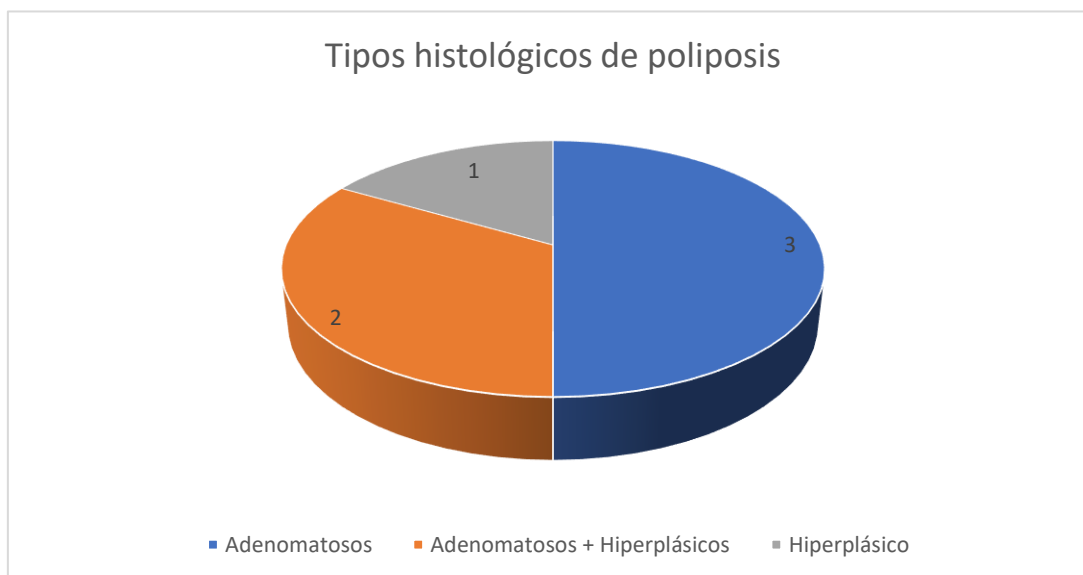


Figura 31. Nº de pacientes con VP heterocigótica en MUTYH en función de la histología de sus pólipos



### Pacientes con VSD en el gen APC

Los 14 pacientes incluidos en el estudio con VSD en el gen APC, se realizaron una media de 4.5 colonoscopias previas y una mediana de 3 (1-20). Si analizamos el número de colonoscopias totales realizadas sobre estos pacientes, tendríamos una media de 6.2 y una mediana de 4 (1-25) (tabla 39).

Tabla 39. Colonoscopias realizadas a la población con VSD en APC

Nº de colonoscopias previas	
Media	4.5
Mediana	3
Rango	1-20
Nº de colonoscopias totales	
Media	6.2
Mediana	4
Rango	1-25

La edad media de aparición del 1º pólipo en estos pacientes fue de 48.4 años (DE 18.8) y una mediana de 50 años (21-76) (figura 32).

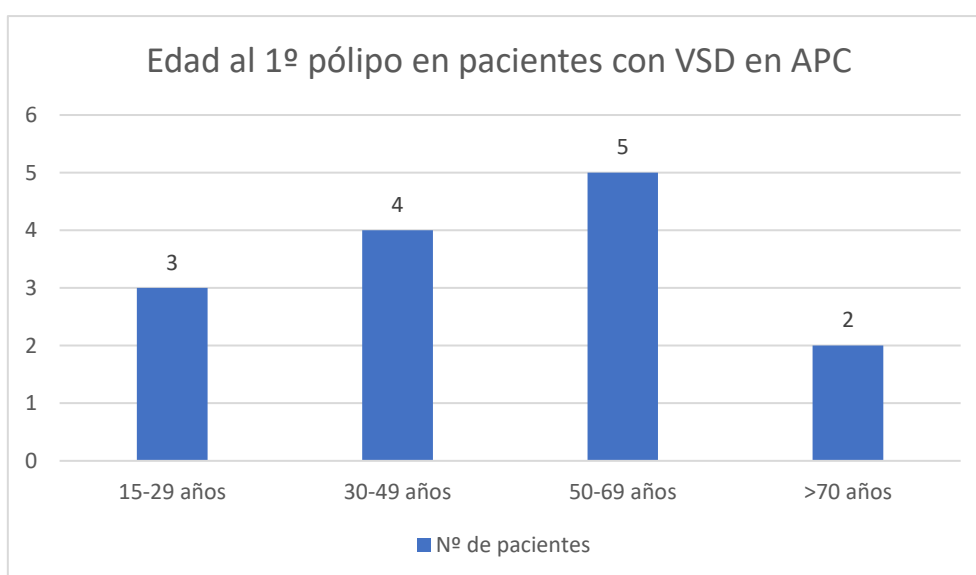


Figura 32. Edad al 1º pólipo en pacientes con VSD en APC

A continuación, analizaremos el número de pólipos total y en función de la localización colónica que han tenido estos 14 pacientes a lo largo de su vida. 1 (7%) de ellos ha tenido que realizar una colectomía total profiláctica por la presencia de colitis ulcerosa grave y en todos se ha podido realizar un contaje pormenorizado de los pólipos (tabla 40).

Tabla 40. Nº de pólipos clasificados en función de su localización de los pacientes con VSD en el gen APC.

14 pacientes	Pólipos en colon izquierdo	Pólipos en colon derecho	Total de pólipos
Totales	123	91	214
Media	8.7	6.5	15.2
Mediana	4	3.5	10

Por último, si analizamos su tipo histológico, 13 (93%) pacientes con VSD en APC presentaban pólipos adenomatosos, en ninguno se extirpó un pólipo hamartomatoso, 2 (22.2%) presentaron pólipos serrados y 6 (43%) pacientes también presentaron pólipos hiperplásicos (figura 33). Un paciente no presentó ningún pólipo en el seguimiento, debutó con un CCR y se realizó el diagnóstico genético por los antecedentes familiares del paciente.

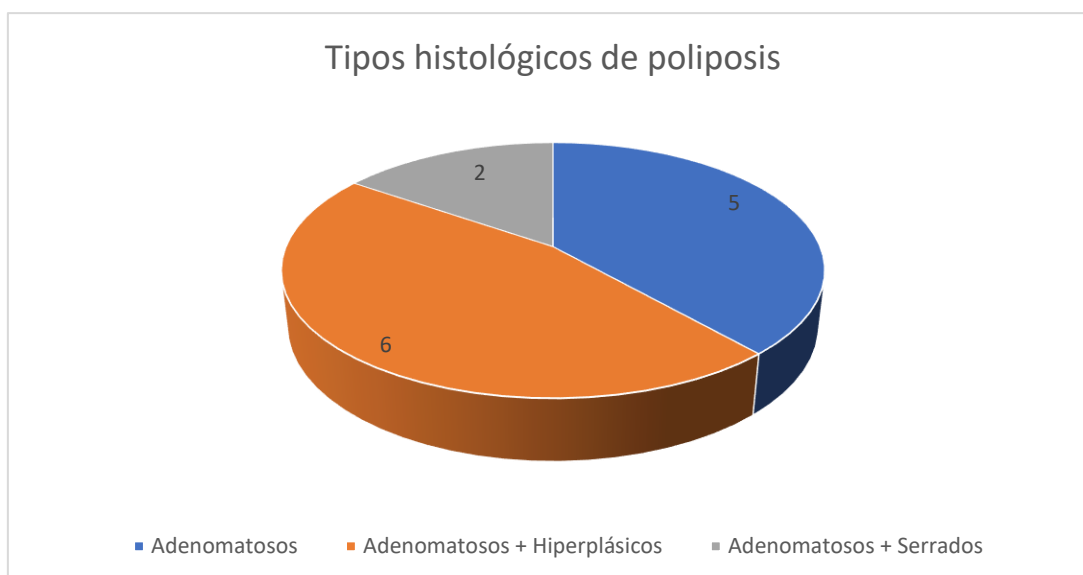


Figura 33. Nº de pacientes con VSD en APC en función de la histología de sus pólipos

### Pacientes sin VP ni VSD en los genes APC y MUTYH

Los 139 pacientes incluidos en el estudio sin mutaciones en los genes APC y MUTYH, se realizaron una media de 2.9 colonoscopias previas y una mediana de 3 (0-9). Si analizamos el número de colonoscopias totales realizadas sobre estos pacientes, tendríamos una media de 4.2 y una mediana de 4 (0-11) (tabla 41).

Tabla 41. Colonoscopias realizadas por los pacientes sin VP ni VSD

Nº de colonoscopias previas	
Media	2.9
Mediana	3
Rango	0-9
Nº de colonoscopias totales	
Media	4.2
Mediana	4
Rango	0-11

La edad media de aparición del 1º pólipo en estos pacientes fue de 57.5 años (DE 13.2) y una mediana de 60 años (21-82) (figura 34).

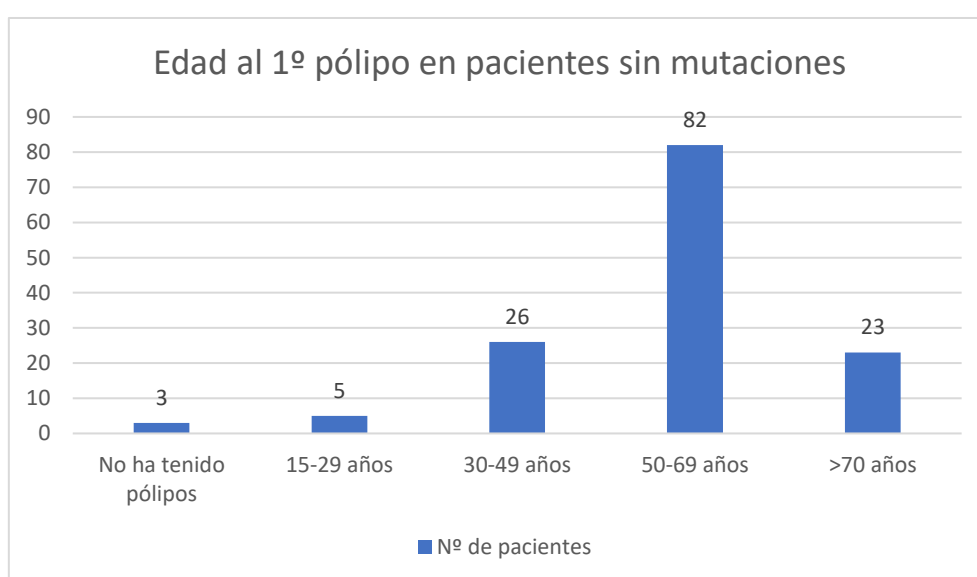


Figura 34. Edad al 1º pólipo en pacientes sin VP ni VSD

Asimismo, analizaremos el número de pólipos total y en función de la localización colónica que han tenido estos 139 pacientes a lo largo de su vida. En 15 (10.7%) de ellos se ha realizado una colectomía total profiláctica a pesar de no tener una variante patogénica en línea germinal (se ha explicado las causas anteriormente) y 3 pacientes no han tenido la presencia de ningún pólipo a lo largo de su vida: en 2 se realizó el estudio por presentar un CCR a edades menores de 50 años con antecedentes familiares de poliposis y en el otro se realizó el estudio por el diagnóstico de un tumor desmoide a los 47 años.

Hemos tenido que extraer a dos pacientes del análisis, al igual que en los pacientes con mutación patogénica porque tenían cientos de pólipos no contables (tabla 42).

Tabla 42. Nº de pólipos clasificados en función de su localización de los pacientes sin VP ni VSD en APC y MUTYH.

139 pacientes	Pólipos en colon izquierdo	Pólipos en colon derecho	Total de pólipos
Totales	1435	1153	2588
Media	10.3	8.3	19.28
Mediana	6	5	12

Para finalizar, si analizamos su tipo histológico, 129 (93%) pacientes sin VP presentaban pólipos adenomatosos, en 1 (1%) paciente se extirpó un pólipo hamartomatoso, 21 (15%) presentaron pólipos serrados y 70 (50%) pacientes también presentaron pólipos hiperplásicos (figura 35). Tres pacientes no presentaron ningún pólipo en el seguimiento.

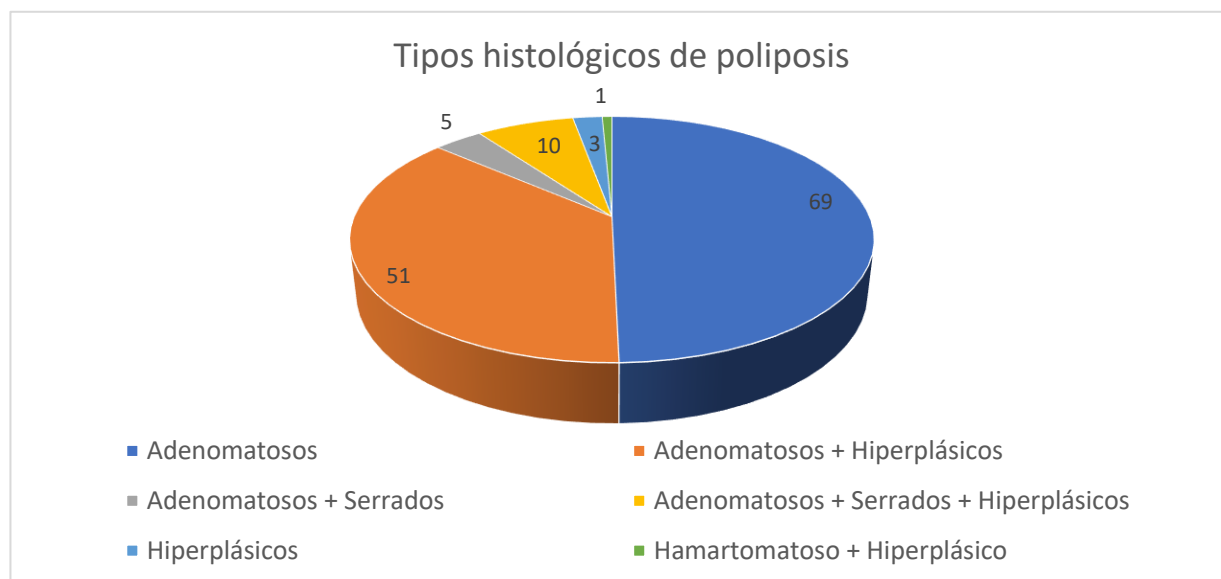


Figura 35. Nº de pacientes sin VP ni VSD en APC y MUTYH en función de la histología de sus pólipos

## **ESTUDIO CONJUNTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS POLIPOSIS**

En el siguiente apartado estableceremos un breve resumen de todas las características que hemos desarrollado en el apartado anterior, para realizar una comparación de una manera más visual.

Comenzaremos en la tabla 43, en la que compararemos el número de colonoscopias realizada a los pacientes de cada grupo.

*Tabla 43. Comparación del número de colonoscopias realizadas en función del estatus mutacional.*

Colonoscopias previas	VP en APC	VP homocigótica en MUTYH	VP heterocigótica en MUTYH	VSD en APC	Sin VP (ni VSD)
Media	1.2	2.8	2.8	4.5	2.9
Mediana	1	3	3	3	3
Rango	0-6	0-5	1-4	1-20	0-9
Colonoscopias totales					
Media	7.5	7.57	3.8	6,2	4.2
Mediana	5	6	6	4	4
Rango	2-22	4-13	1-7	1-25	0-11

A continuación, realizaremos la comparación de la edad que presentaban los pacientes al 1º pólipo, estableciendo la edad media, desviación estándar y mediana (tabla 44).

*Tabla 44. Edad al primer pólipo de toda la población en función de su estatus mutacional.*

Edad al 1º pólipo	VP en APC	VP homocigótica en MUTYH	VP heterocigótica en MUTYH	VSD en APC	Sin VP ni VSD
Media±DE	39.4±16.56	56.8±7.7	58.3±15.78	48.4±18.8	57.5±13.2
Mediana	36	57	63.5	50	60
Rango	15-68	44-69	44-69	21-76	21-82

Por último, realizaremos la tabla de frecuencias comparativa del número de pólipos totales y en función de su localización de cada grupo de pacientes, clasificados por el estatus mutacional (tabla 45). Es importante recordar que en los grupos 1 y 2 (VP en APC y MUTYH) hemos retirado de este análisis a los pacientes con cientos de pólipos, como se detalla en su apartado correspondiente.

*Tabla 45. Nº de pólipos totales y por localización colónica en función del estatus mutacional*

Pólipos en colon izquierdo	VP en APC	VP homocigótica en MUTYH	VP heterocigótica en MUTYH	VSD en APC	Sin VP ni VSD
Totales	103	81	30	123	1435
Media	34.3	16.2	5	8.7	10.3
Mediana	45	9	2	4	6
Pólipos en colon derecho					
Totales	56	207	52	91	1153
Media	18.6	41.4	8.6	6.5	8.3
Mediana	17	29	3	3.5	5
Pólipos totales					
Totales	160	288	82	214	2588
Media	53	57.6	13.6	15.2	19.28
Mediana	60	44	5	10	12

## 2.5 MANIFESTACIONES EXTRACOLÓNICAS

Como se desarrolló durante el apartado de introducción, los pacientes con PAF pueden desarrollar una serie de manifestaciones extracolónicas (ME) (tabla 4).

En el desarrollo de este trabajo recogimos datos de las siguientes ME que pueden presentar estos pacientes:

- Adenomas gastroduodenales
- Osteomas
- Tumores desmoides
- Cáncer de Páncreas
- Cáncer Gástrico
- Cáncer duodenal
- Hepatoblastoma
- Tumor cerebral
- Cáncer de tiroides
- HCEPR
- Quistes dérmicos
- Adenomas adrenocorticales

De los 177 pacientes incluidos en este estudio, 39 (22%) acabaron desarrollando alguna ME, mientras que los 138 (78%) restantes no presentaron ninguna (figura 36).

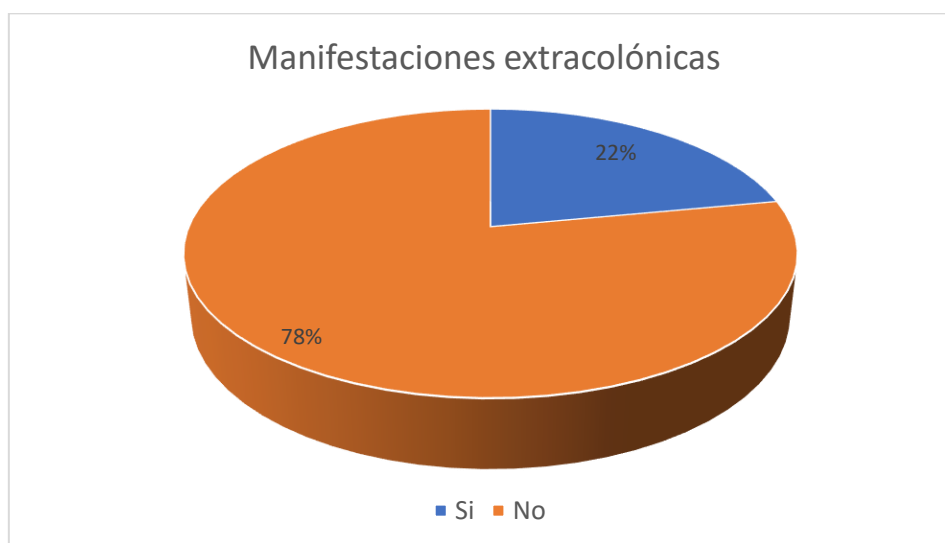


Figura 36. Distribución población total de las ME.

La ME más frecuentemente encontrada fueron los adenomas gastroduodenales, que estuvieron presentes en 21 (12%) pacientes, seguido de los quistes dérmicos en 16 (9%) pacientes y de los tumores desmoides y el cáncer gástrico, objetivados en 4 (2.2%) pacientes cada uno (figura 37).

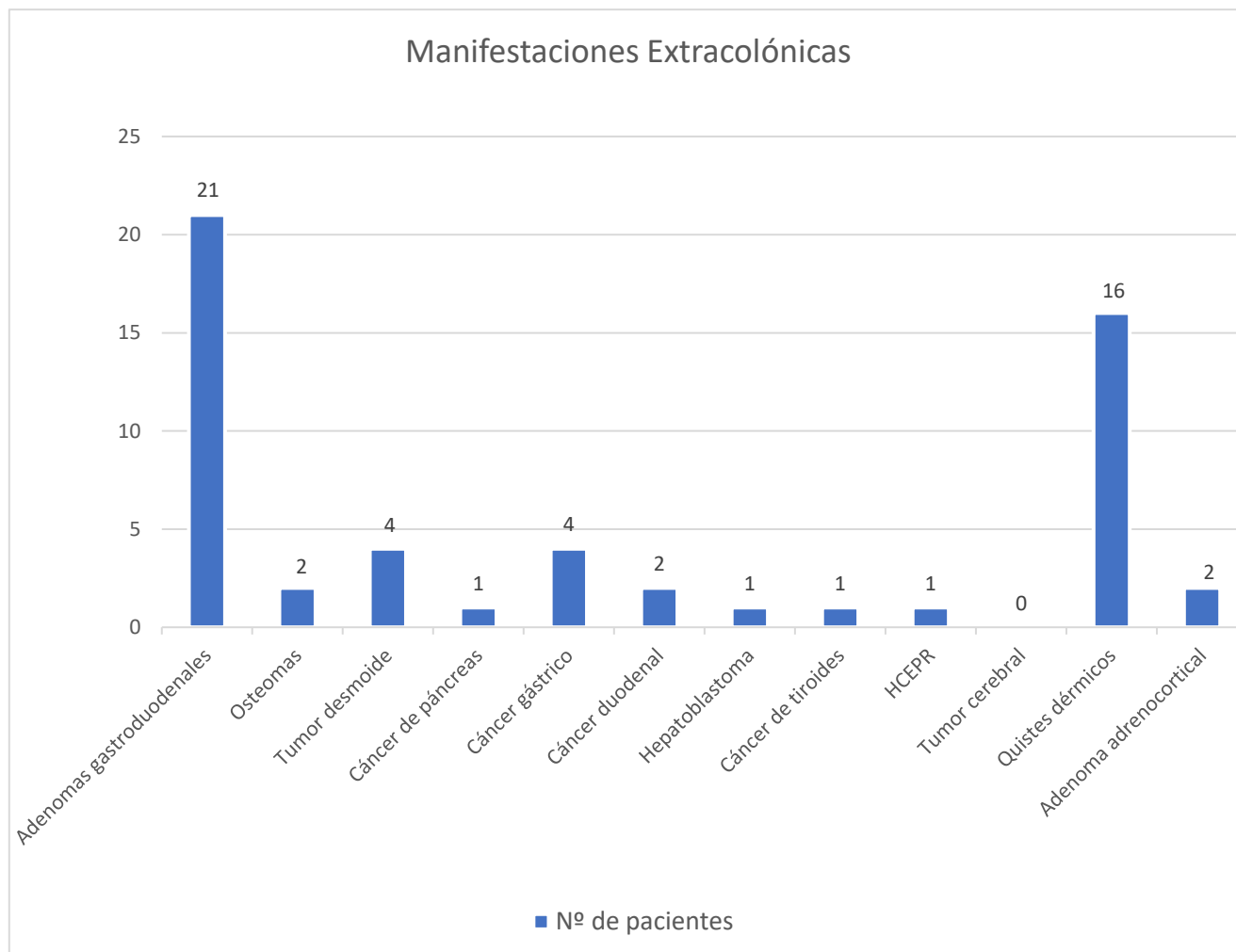


Figura 37. Distribución de los tipos de ME

### Pacientes con VP en el gen APC

Los pacientes con variante patogénica en línea germinal del gen APC son los pacientes de la muestra que mayor porcentaje de ME han presentado. 7 (77.7%) pacientes desarrollaron algún tipo de ME a lo largo de su vida (figura 38).



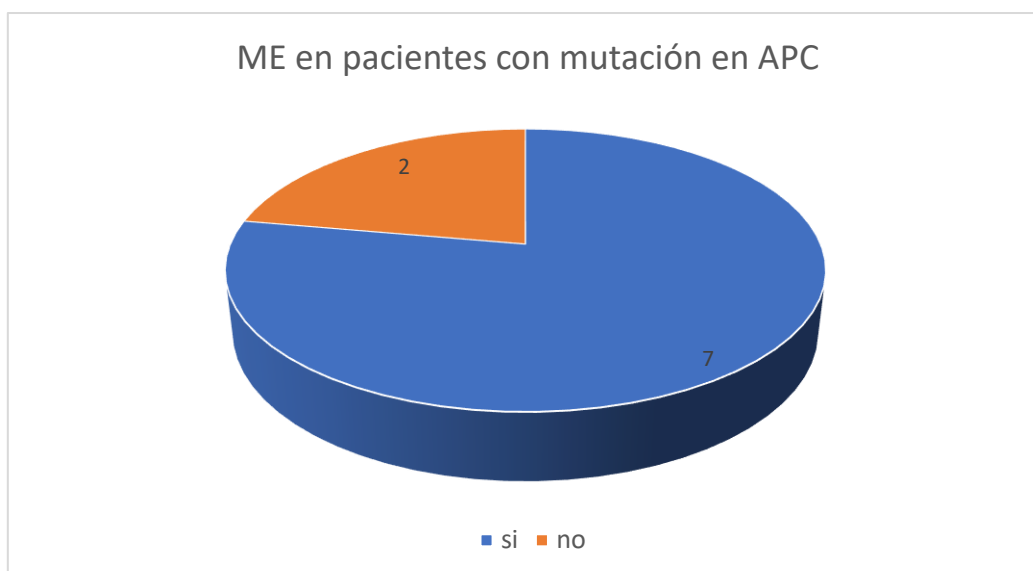


Figura 38. ME en pacientes con VP en APC.

Si analizamos los tipos de ME dentro de este grupo, la más frecuentes fueron los adenomas gastroduodenales (7; 77%), seguido de los tumores desmoides y cáncer de páncreas con 2 pacientes cada uno (22,2%). Además, un paciente presentó un cáncer gástrico y otro paciente un quiste dérmico (tablas 46 y 47).

Tabla 46. Manifestaciones extracolónicas de los pacientes con VP en APC

Manifestación extracolónica	Nº de pacientes totales: 7
Adenomas gastroduodenales	7 (100%)
Osteoma	2 (28%)
Tumor desmoide	2 (28%)
Cáncer gástrico	1 (14%)
Quiste dérmico	1 (14%)

Tabla 47. Distribución de las ME en los pacientes con VP en APC.

Paciente 1	Adenoma gastroduodenal + Tumor desmoide
Paciente 2	Adenoma gastroduodenal + Osteoma + Cáncer gástrico
Paciente 3	Adenoma gastroduodenal + Osteoma + Tumor desmoide + Quiste dérmico
Pacients 4, 5, 6 y 7	Adenomas gastroduodenales

### Pacientes con VP en homocigosis en MUTYH

De los 7 pacientes con variante patogénica homocigótica en MUTYH solamente 1 (14%) ha desarrollado ME, tratándose de un quiste dérmico (figura 39).

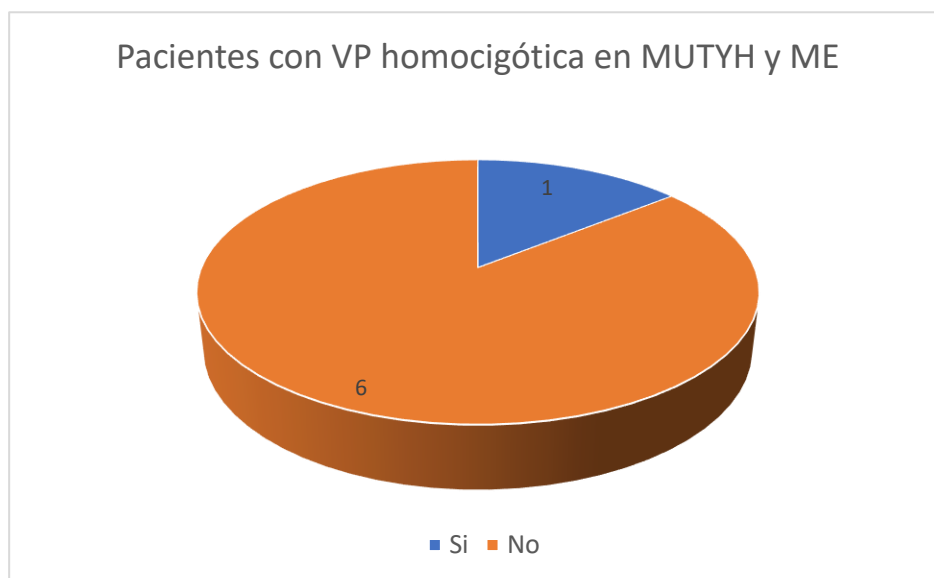


Figura 39. Pacientes con VP homocigótica en MUTYH y ME

### Pacientes con VP en heterocigosis en MUTYH

Si analizamos los 6 pacientes con VP heterocigótica en MUTYH, solamente 1 (16,6%) ha desarrollado algún tipo de ME (figura 40). En este caso, el paciente presentó adenomas gastroduodenales y un cáncer duodenal.

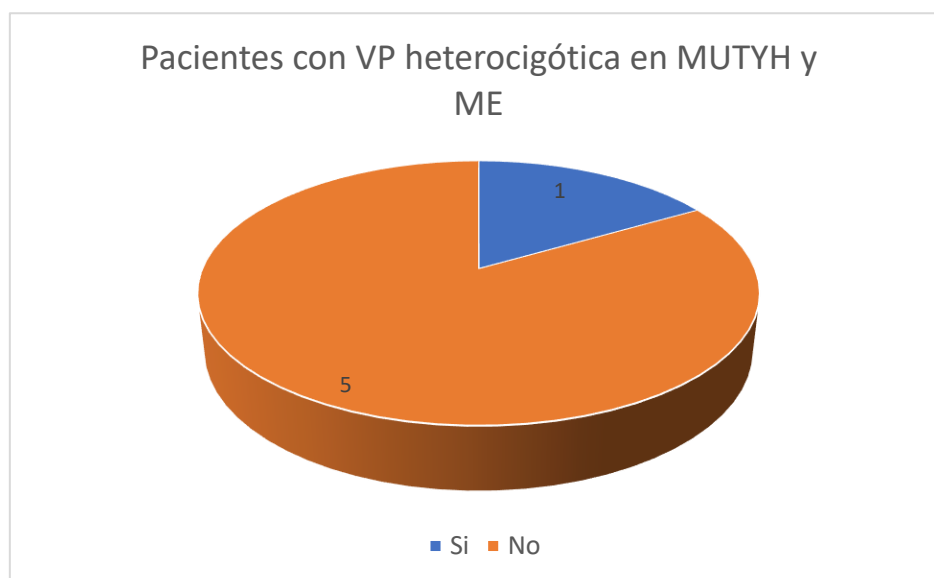


Figura 40. Pacientes con VP heterocigótica en MUTYH y ME

### Pacientes con VSD en el gen APC

En el caso de los 14 pacientes con VSD en APC, 2 (14.2%) pacientes desarrollaron algún tipo de ME (figura 41). Uno de ellos presentó un quiste dérmico y el otro acabó por desarrollar adenomas gastroduodenales y un cáncer papilar de tiroides.

Pacientes con VSD en APC y ME

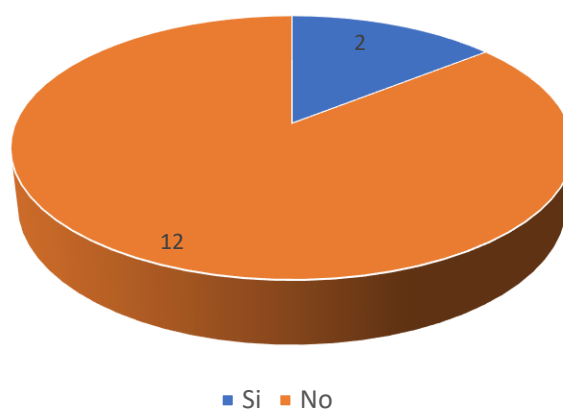


Figura 41. Pacientes con VSD en APC y ME

### Pacientes sin VP en los genes APC y MUTYH

En este grupo sin VP están incluidos 139 pacientes. De todos ellos, 27 (19,4%) desarrollaron algún tipo de ME (figura 42).

Pacientes sin VP ni con ME

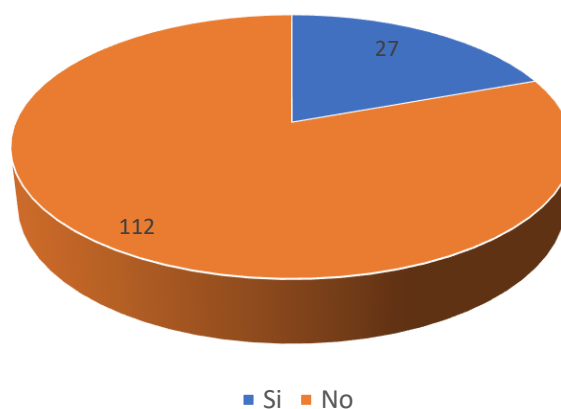


Figura 42. Pacientes sin VP ni VSD con ME

Si analizamos el tipo de ME, la más frecuentemente encontrada fueron los quistes dérmicos, en 13 (48%) pacientes seguido de los adenomas gastroduodenales en 12 (44%). Otras ME que desarrollaron los pacientes fueron tumores desmoides (2; 7%), cáncer de páncreas (1), cáncer gástrico (3; 11.1%), etc (tabla 48).

Tabla 48. manifestaciones extracolónicas de los pacientes sin VP ni VSD

Manifestación extracolónica	Nº de pacientes totales: 27
Quistes dérmicos	13 (48%)
Adenomas gastroduodenales	12 (44%)
Cáncer gástrico	3 (11%)
Tumor desmoide	2 (7%)
Adenoma adrenocortical	2 (7%)
Cáncer de páncreas	1 (3%)
Cáncer duodenal	1 (3%)
Hepatoblastoma	1 (3%)
HCEPR	1 (3%)

La mayoría de los pacientes solamente desarrollaron una ME, pero en alguna ocasión hubo pacientes que acabaron por presentar varias (tabla 49).

Tabla 49. Pacientes sin VP en APC y MUTYH y con varias ME.

Paciente 1	Hepatoblastoma + Quiste dérmico
Paciente 2	Adenoma gastroduodenal + Cáncer gástrico
Paciente 3	Adenoma gastroduodenal + Cáncer gástrico + Cáncer duodenal
Paciente 4	Cáncer de páncreas + Quiste dérmico
Pacientes 5, 6 y 7	Adenoma gastroduodenal + Quiste dérmico

---

### 3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Se ha llevado a cabo un análisis multivariante para describir las diferencias de los grupos genotípicos en relación a las variables, así como, las relaciones entre las variables que mejor discriminan a dichos grupos. Se han elegido las variables que se podían cuantificar porque este análisis requiere de variables cuantitativas. En el caso de CCR y éxitus se han incluido excepcionalmente por su importancia y porque tiene cierto carácter ordinal.

Las medias de las variables estudiadas han sido las siguientes:

- Edad
- CCR (si/no)
- N° de localizaciones metastásicas
- N° de colonoscopias previas
- N° de colonoscopias totales
- Edad al 1° pólipo
- N° de pólipos en colon derecho
- N° de pólipos en colon izquierda
- N° de pólipos totales
- N° de manifestaciones extracolónicas
- Éxitus (si/no)

Por otra parte, se han dividido los pacientes en los 5 grupos diferenciados en función de su estatus mutacional, al igual que se ha realizado durante todo el estudio descriptivo anterior:

- Grupo 1: Pacientes con VP en el gen APC
- Grupo 2: Pacientes con VP homocigótica en el gen MUTYH
- Grupo 3: Pacientes con VSD en el gen APC
- Grupo 4: Pacientes con VP heterocigótica en el gen MUTYH
- Grupo 5: Pacientes sin VP ni VSD en ninguno de los dos genes

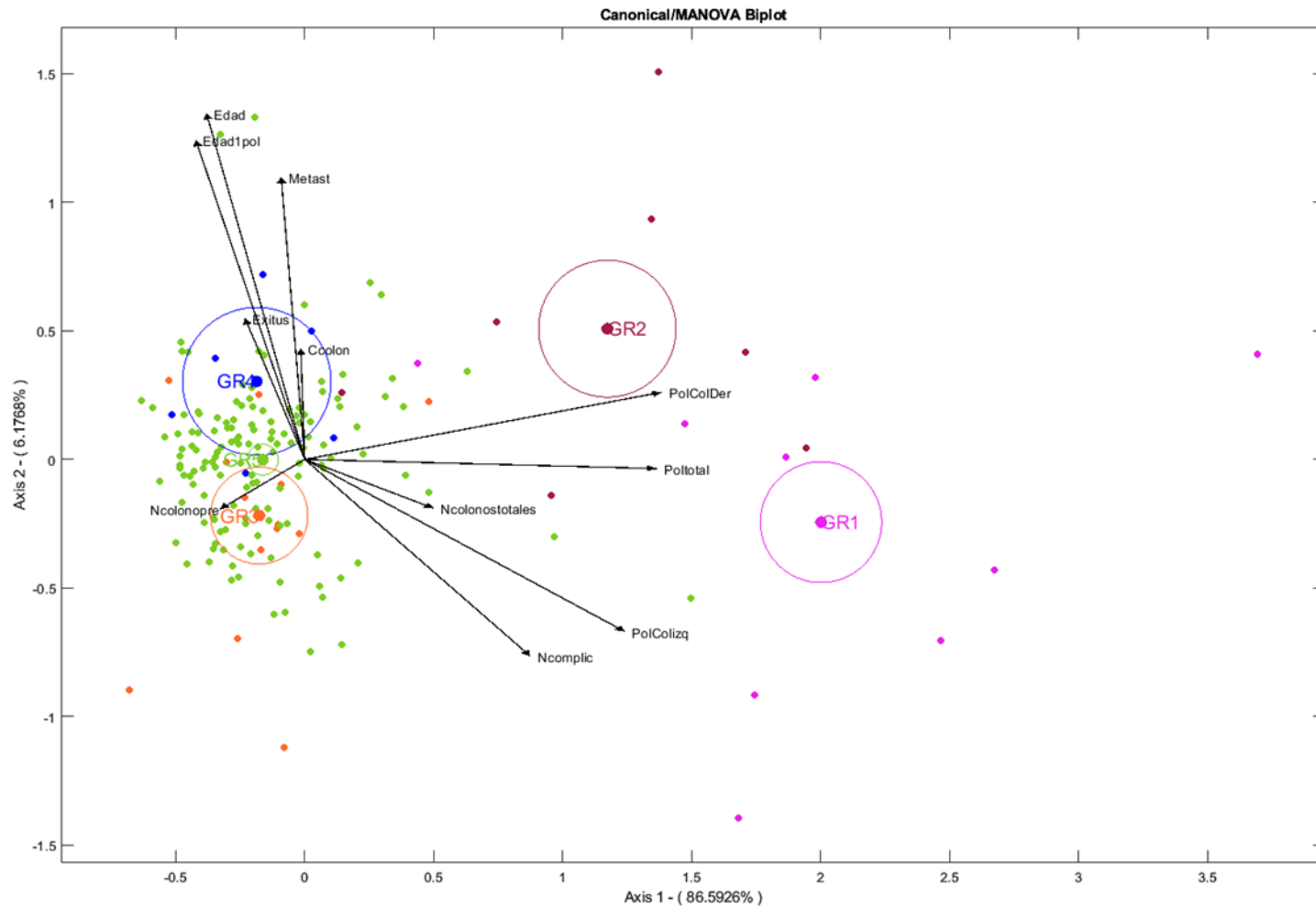


Figura 43. Biplot canónico de los dos primeros ejes donde se han proyectado las observaciones de cada grupo. (Edad; Edad al 1º pólipo: Edad1pol; Nº de metástasis: Metast; Éxitus; CCR: Ccolon; Nº de colonoscopias previas: Ncolonopre; Nº de manifestaciones extraintestinales: Ncomplic; Nº de pólipos en colon izquierdo: PolColizq; Nº de colonoscopias totales: Ncolonostotales; Nº de pólipos totales: Poltotal; Nº de pólipos en colon derecho; PolColDer).

---

En la figura 43 se muestra la representación del biplot canónico donde los dos primeros ejes canónicos adsorben 92,77% de la variabilidad entre las medias de los grupos. El primer eje canónico absorbe gran parte de esa variabilidad (86,59%) mientras que el segundo eje sólo absorbe el 6,18%, lo que indica que las grandes diferencias entre los grupos vienen determinadas por el eje 1.

La interpretación de esta figura proporciona información sobre la relación entre variables, la similitud entre medias y la preponderancia de las medias en las variables. Los ángulos agudos entre variables indican una relación lineal directa mientras que los ángulos obtusos muestran una correlación inversa. Los ángulos rectos entre variables informan sobre la independencia lineal de las variables. La longitud de los vectores indica la variabilidad de los valores medios de las variables.

Si proyectamos perpendicularmente los puntos que representan a los grupos sobre las variables, representan el orden que toman las medias de los grupos sobre dichas variables. Las puntas de los vectores indican la dirección de aumento de los valores de la variable. La proximidad de los puntos que representan a los grupos indica que dichos grupos son similares en media sobre las variables de estudio. Los ángulos de las variables con respecto a los ejes nos indican correlaciones altas y, por lo tanto, se puede reconocer qué variables son las que mejor explican a dichas variables canónicas.

Los círculos de confianza proporcionan información sobre las diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Se detectan diferencias si los círculos no se solapan. Las proyecciones de los círculos de confianza sobre cada una de las variables proporcionan una estimación del intervalo de confianza para la media de los grupos. Aunque estas características inferenciales no serán comentadas debido al incumplimiento de los supuestos de partida de esta técnica como se indicó en la sección de material y métodos.

Las variables que mejor explican la variable canónica 1 (eje 1) son las relacionadas con el número de pólipos y en menor medida con el número de manifestaciones extraintestinales (Ncomplic) y número de colonoscopias totales (Ncolonosto).

Si se proyectan los puntos que representan a las medias de los grupos sobre este eje se observa que existe una clara diferenciación entre los grupos con VP en APC o MUTYH

---

(GR1 y GR2) frente al resto. Esto es debido principalmente al número de pólipos de los pacientes de estos grupos, tanto en el colón derecho, izquierdo y totales. Si se observan las medias de estos grupos en las variables relacionadas con el número de pólipos (tabla 47), las diferencias de estos dos grupos son relevantes frente al resto de grupos, alcanzando valores muy altos en el grupo 1.

Si se proyectan los puntos de los grupos sobre estas variables se puede observar el orden. Los grupos 3, 4 y 5 (VSD en APC, VP heterocigótica en MUTYH y pacientes sin mutación, respectivamente) presentan valores similares aunque el número medio del grupo de no mutados es un poco mayor. También el número medio de manifestaciones extracolónicas por paciente es mayor en los grupos 1 y 2, principalmente en el 1.

La segunda variable canónica estaría definida por las variables edad, edad al primer pólipo y número de localizaciones metastásicas. Las variables de CCR y mortalidad no están muy bien representadas al ser variables binarias y no cuantitativas puras.

Este eje canónico diferencia el grupo 2 frente al 1. Si proyectamos sobre este eje el grupo 2 quedaría en la parte superior del eje seguida del grupo 4, mientras que el grupo 1 estaría en la zona inferior seguido del grupo 3. El grupo de no mutados quedaría en posiciones intermedias. Si se proyecta sobre las variables de eje 2, los valores medios de edad y edad al primer pólipo son más bajos en los grupos 1 y 3, mientras que el grupo 2 presenta la mayor edad media, con valores muy similares a los grupos 4 y 5.

En relación al número de localizaciones metastásicas, los grupos 1 y 3 no han presentado ningún paciente con diagnóstico de CCR en este estadio mientras que es el grupo 4 el que presentan mayor número medio.

Si analizamos la variable CCR, el grupo 4 es el que presenta la proyección más cercana a la punta del vector debido a que el 83% de los individuos ha sido diagnosticado de CCR, al igual en la variable éxitus donde este grupo presenta un 50% de mortalidad. El resto de los grupos toman valores muy similares en estas variables.

Si nos fijamos en el Biplot canónico (figura 43) se puede observar que en los grupos 1 y 2 hay una gran variabilidad, si bien, la mayoría de los valores del grupo 1 se sitúan en la parte derecha inferior y los del grupo 2 en la parte derecha superior.



Si se consideran los ejes canónicos como funciones de discriminación y se clasifican a los individuos mediante estas funciones se observa cómo los grupos 1, 2 y 5 presentan un porcentaje de bien clasificado de casi el 80%, mientras que en los grupos 3 y 4 los porcentajes son menores (tablas 50 y 51). Estos porcentajes tan bajos en estos dos grupos se puede deber al escaso número de observaciones y que con respecto a estas variables no se diferencias mucho del grupo de no mutados como se ha visto en el análisis canónico.

*Tabla 50. Tabla de confusión donde se muestra en la diagonal el número de observaciones que han sido bien clasificadas con las funciones discriminantes canónicas. Los valores fuera de la diagonal indican observaciones mal clasificadas.*

		Grupo predicho				
		1	2	3	4	5
Grupo real	1	<b>7</b>	1	0	0	1
	2	1	<b>5</b>	0	0	1
	3	0	0	<b>8</b>	0	6
	4	0	0	1	<b>2</b>	3
	5	2	1	25	12	<b>99</b>

*Tabla 51. Proporción de bien clasificados por las funciones discriminantes canónicas.*

		Tasa predicha				
		1	2	3	4	5
Grupo real	1	<b>0,778</b>	0,111	0,000	0,000	0,111
	2	0,143	<b>0,714</b>	0,000	0,000	0,143
	3	0,000	0,000	<b>0,571</b>	0,000	0,429
	4	0,000	0,000	0,167	<b>0,333</b>	0,500
	5	0,014	0,007	0,180	0,086	<b>0,712</b>

#### 4. BÚSQUEDA DE OTROS GENES IMPLICADOS

En los últimos años los paneles de secuenciación masiva NGS han supuesto una revolución tanto en el estudio genómico a nivel tumoral, como para el estudio germinal dentro de la Unidades de Consejo Genético.

En la Unidad de Consejo Genético de Salamanca, el laboratorio 14 del CIC encargado del análisis genético, se ha realizado dentro de un proyecto de investigación el panel Hereditary OncoKitDx® de 50 genes (descrito en el apartado de Material y Métodos) para estudiar aquellos pacientes con sospecha de poliposis hereditaria pero con ausencia de mutación en APC y MUTYH. De tal manera que podamos encontrar otros genes implicados en estos síndromes y poder realizar un mejor manejo de los pacientes y sus familiares.

Se ha realizado este estudio a 57 pacientes con ausencia de mutación patogénica en APC y MUTYH. Todos ellos cumplían los criterios clínicos de sospecha de poliposis hereditaria (tabla 6).

No se encontró ninguna variante patogénica o probablemente patogénica.

Se han identificado 54 variantes en diferentes genes de los incluidos en el panel y descritos en material y métodos. Estas variantes se han clasificado como benignas (7; 13%), probablemente benignas (23; 43%) y VSD (24; 44%), estas últimas se recogen en la tabla 52.

*Tabla 52. VSD encontradas mediante el panel de secuenciación masiva OncoKitDx.*

GEN	VARIANTE	TIPO DE VARIANTE
POLD1	c.1666G>A	VSD
MSH6	c.1729C>T	VSD
MSH2	c.2647A>G	VSD
MSH3	c.3350A>G	VSD
MSH3	c.195_203dup	VSD
MLH1	c.1834G>A	VSD
MLH1	c.107T>C	VSD

MLH3	c.3274G>C	VSD
ATM	c.8420A>T	VSD
ATM (ambas en el mismo paciente)	c.1516G>T	VSD. Probablemente benigna
	c.4091A>G	VSD
ATM	c.1229T>C	VSD
ATM	c.2051A>G	VSD
ATM	c.609C>T	VSD
BRCA1	c.3433G>T	VSD
BRCA1	c.1997T>C	VSD
BRCA2	c.7447A>G	VSD
RET	c.2371T>A	VSD
NTHL1	c.658G>A	VSD
SDHA	c.758A>G	VSD
SDHA	c.155C>T en 2 pacientes	VSD
PIK3CA	c.968C>A	VSD
MET	c.762A>C	VSD
FH	c.1462G>A	VSD
NBN	c.37G>A	VSD

Se destaca la presencia más frecuente de VSD en el gen ATM (6; 25%), incluyendo un paciente en el que se encontraron dos variantes diferentes. Otros genes importantes en los que se identificaron fueron los genes reparadores del sistema MMR (MSH2, MLH1) y genes relacionados con la reparación mediante recombinación homóloga como BRCA1, BRCA2 y POLD1.



# DISCUSIÓN

---

## **DISCUSIÓN**

Profundizar en el conocimiento de las características clínico-patológicas y moleculares de los pacientes con sospecha de poliposis colónica hereditaria permitirá avanzar en su manejo, contribuyendo al conocimiento científico con el fin de mejorar el diagnóstico y asesoramiento genético de estos pacientes con predisposición hereditaria a desarrollar CCR.

Sabemos que, el 75-80% de los CCR son de tipo esporádico, mientras que en el 20-25% restante aparece un componente familiar (familiares de primer y/o segundo grado afectos de CCR). Sin embargo, solamente el 5-7% presentan una predisposición hereditaria mediante un patrón mendeliano (1, 5 y 6). Entre estos últimos destaca el CCHNP (Síndrome de Lynch) y los síndromes polipósicos, compuestos principalmente por la PAF, la PAFA y la PAM. La PAF es responsable del 0,5-1% de los CCR (14 y 16).

Durante el desarrollo de este proyecto nos hemos centrado en el estudio de las características clínicas y moleculares principales de pacientes con sospecha de padecer un síndrome de poliposis adenomatosa hereditaria.

Tal y como viene expuesto anteriormente, se incluyeron en el proyecto todos aquellos pacientes estudiados en la Unidad de Consejo Genético del CAUSA en los que fue indicado un estudio genético en línea germinal de los genes APC y MUTYH, hasta 2021. Fueron un total de 221 pacientes, de los cuales tuvimos que excluir finalmente a 44 por incumplir el principal criterio de exclusión: la ausencia de datos clínicos relevantes de su historia clínica personal y familiar. Por tanto, son 177 pacientes los evaluables.

La Unidad de Consejo Genético del CAUSA es la unidad de referencia en asesoramiento genético en cáncer familiar para las áreas de salud de Salamanca, Zamora, Ávila y León (incluido El Bierzo), por lo que muchos de los pacientes incluidos en este proyecto provenían de otros centros y la recogida de datos clínicos (principalmente estudios endoscópicos e histológicos) fue más complicada.

---

De estos 177 pacientes estudiados había un porcentaje mayor de hombres (65,5%) que de mujeres (35,5%) con una edad mediana de 63 años. Si analizamos los rangos de edad, el 35% tenían una edad entre 50-69 años al momento del estudio genético y únicamente el 19% tenían menos de 49 años.

Los datos son concordantes con la literatura (18, 60, 62) y además son lógicos pensando en el inicio de las colonoscopias de cribado, así como la edad media de aparición del CCR en la población general (1, 7).

Tras el estudio genético de MUTYH y APC, se identificaron 16 (9%) pacientes con variantes patogénicas, 9 en el gen APC y 7 variantes patogénicas bialélicas en el gen MUTYH. Parecen porcentajes bajos, sobre todo si analizamos otras series españolas como el caso de Rivera et al (63). La principal diferencia con esa serie es que, en ese estudio, incluían 136 familias con diagnóstico clínico de PAF clásica. Sin embargo, en nuestro caso se han incluido todos los pacientes a los que se les ha realizado el estudio genético de APC y MUTYH en nuestro centro. Eso incluye a 52 (29%) pacientes que ni siquiera cumplían los criterios clínicos de CyL (tabla 6). Todos estos pacientes presentaban antecedentes de CCR a edades tempranas, asociado a antecedentes de poliposis en familiares de 1º grado, así como otros antecedentes familiares de cáncer. Alguno de ellos tenía realizado el estudio no informativo de los MMR. Por ello se completó el estudio con los genes APC y MUTYH. Además, es destacable que en ninguno de los 52 pacientes que no cumplían criterios clínicos se encontró una VP en APC o bialélica en MUTYH. Mientras que 3 de ellos presentaron VSD en APC y otros 3 una VP heterocigótica en MUTYH.

Asimismo, de todos los pacientes estudiados, solamente 10 (5,6%) presentaban cientos de pólipos en el colon, es decir, cumplían criterios clínicos de PAF clásica. De estos, 6 presentaron VP en APC, 2 presentaron VP bialélica en MUTYH y 2 no presentaron ninguna VP o VSD. Por lo tanto, si analizamos únicamente estos 10 pacientes que cumplían criterios de PAF clásica, el 80% presentaron una variante patogénica, datos concordantes con otras series (63).

La mayoría de las variantes patogénicas del gen APC fueron deleciones, mientras que en el caso de las variantes bialélicas de MUTYH hubo un mayor porcentaje de SNVs.

---

Está ampliamente aceptada la relación entre las mutaciones en la región MCR, en concreto en el codón 1.309, con los fenotipos más severos, caracterizados por la presencia de más de un millar de pólipos, y con un debut más temprano de la enfermedad, en torno a diez años antes de lo usual. Otra de las asociaciones clásicas es la que relaciona mutaciones en los extremos 5' y 3' del gen, con el desarrollo de un fenotipo atenuado, concretamente aquellas mutaciones anteriores al codón 157 y posteriores al 1.680 (73).

Por lo tanto, todos los pacientes de nuestra serie con fenotipo de PAF clásica y VP en el gen APC presentan mutaciones entre los codones 157 y 1680, descritos en la literatura como principalmente asociados a fenotipo clásico (137, 138 y 139).

Uno de nuestros pacientes con fenotipo de PAFA presentaba una VP que ve afectado el codón 2643. Esta VP en el extremo 3' está asociada en otras publicaciones a este fenotipo atenuado (140).

En el extremo 5' este efecto se explicaría por la presencia de un segundo sitio de inicio de transcripción en el codón 184 que en parte solventaría el efecto de una mutación anterior a esa zona. La región de procesamiento alternativo del exón 9 se ha asociado también a fenotipos PAFA. Algunos estudios (140) asocian también mutaciones en el exón 3 con la forma atenuada de la PAF, al igual que uno de nuestros pacientes.

Ningún paciente contaba con mutaciones en el codón 1309, el más ampliamente descrito como causante del fenotipo más severo.

Cabe destacar que en la poliposis asociada a MUTYH, las variantes Y165C y G382D, que reducen sustancialmente la función proteica, representan el 80% del total de mutaciones (93). Sin embargo, si analizamos los 7 pacientes de nuestro estudio con VP bialélicas, solamente 2 presentan la primera de ellas, siendo ambos familiares de 1º grado (hermanos). Además, un paciente la presentaba en heterocigosis. En el caso de la variante G382D, un paciente la tenía en homocigosis y dos pacientes en heterocigosis.

Por lo tanto ambas variantes se encuentran en nuestra serie en frecuencias inferiores a lo descrito en otros estudios (93).

Al igual que se ha explicado en los apartados anteriores, dada la pequeña muestra de pacientes con variantes patogénicas en dichos genes, decidimos clasificar a los pacientes en otros 3 grupos en función de su estado mutacional.



- 1- Pacientes con VP heterocigótica en MUTYH (6 pacientes), que aparecen en la población general con una incidencia de un 2-3% (91), siendo muy similar a la de nuestro estudio. Hay cierta controversia en el riesgo de cáncer en portadores heterocigotos, pero parece que hay un aumento del riesgo de CCR y otros tumores como el cáncer gástrico o cáncer de mama, aunque la magnitud no está claramente establecida.
- 2- Pacientes con VSD en el gen APC (14 pacientes). Como ya sabemos, las VSD son mutaciones donde se desconoce el efecto del cambio de la secuencia del nucleótido sobre la función de la proteína. Es importante la reclasificación de estas variables a través de estudios funcionales del gen y análisis de segregación (133).
- 3- Pacientes sin variantes patogénicas ni VSD en los genes MUTYH y APC (139 pacientes). En esta situación, se realizó un estudio más amplio mediante un panel de múltiples genes de predisposición hereditaria a cáncer a 57 pacientes que cumplían criterios clínicos de estudio de poliposis adenomatosa hereditaria.

Posteriormente, iremos desglosando el análisis de las características de todos estos pacientes, diferenciados por su estado mutacional. Se ha realizado un estudio eminentemente descriptivo, con un análisis multivariante mediante MANOVA BIPLLOT al final. La razón de considerar simplemente el análisis descriptivo es por el escaso número de observaciones en la mayoría de los grupos y la tipología de alguna de las variables. Estas limitaciones producen el incumplimiento de los supuestos de partida de esta técnica para que se pueda considerar su validez inferencial.

Como hemos dicho anteriormente, no todos los pacientes cumplían los criterios propuestos por el Sistema de Salud de Castilla y León para el estudio genético en línea germinal de sospecha de síndromes polipósicos (tabla 6). Las principales razones para indicar el estudio genético constitucional en estos 52 pacientes se han descrito anteriormente y se pueden resumir en: la presencia antecedentes personales de CCR pMMR, junto con antecedentes familiares de CCR y poliposis y presencia de varios pólipos sin llegar a 10 en la misma persona. Por ello se realizó el despistaje genético.

---

El criterio clínico de estudio que, más ampliamente, cumplían los sujetos incluidos fue el criterio C (más de 10 pólipos adenomatosos). Aunque una gran parte de la muestra cumplía combinaciones con otros criterios. Si analizamos el grupo de pacientes con mutación patogénica en APC, el 66% cumplían el criterio A (más de 100 pólipos), mientras que, en el resto de grupos, este criterio, fue anecdótico. Por lo tanto, la mayoría de pacientes, con criterio clínico de PAF clásica, tenían variante patogénica en APC, como describe la literatura (18, 60).

A nivel global, si realizamos el análisis de los 125 pacientes que cumplían alguno de los criterios del Programa de Cáncer Hereditario de Castilla y León, podemos observar que en un 74% de los pacientes no se encontró ninguna mutación, por un 12% en el que se encontró una variante patogénica en APC o MUTYH. El resto de pacientes presentaba alguna variante heterocigótica en MUTYH o VSD en APC.

En el caso de los antecedentes familiares de tumores relacionados con la PAF o PAM pasa un fenómeno curioso. Tanto los pacientes con variante patogénica en APC y MUTYH, así como aquellos sin variantes, presentaban antecedentes familiares de 1º grado en un 40-45% de los casos. Por lo tanto, el estado mutacional en este caso no ha influido para la existencia de antecedentes familiares de CCR y otros tumores de la esfera como el cáncer de páncreas o el cáncer gástrico. Posiblemente porque muchos de estos pacientes sean el caso índice o haya sido una mutación de novo. Por otro lado, los pacientes con mutación heterocigótica en MUTYH no presentaron antecedentes familiares de 1º grado, probablemente por el escaso tamaño muestral.

Si analizamos detenidamente la distribución de cada grupo en función del sexo, cabe destacar porcentajes muy similares en el caso de los dos grupos de variantes patogénicas, mientras que el grupo sin variantes presenta un 67,7% de hombres por un 32,3% de mujeres.

El caso de la edad al estudio genético es paradigmático. Los pacientes con variante patogénica en APC presentaban una edad media de 46 años, por una edad muy similar en el resto de grupos alrededor de los 65 años. Esta diferencia de 20 años más precoz en el primer grupo se describe en la literatura (58 y 61). Los pacientes con PAF clásica, debutan de manera muy precoz con cientos de pólipos, antes de los 40 años. De hecho, si un

---

paciente no ha desarrollado pólipos antes de los 40 años es muy improbable que padezca PAF. La edad mínima de estudio genético en nuestra muestra fue de 24 años.

Sin embargo, si segregamos en función de criterios de PAF clásica y PAFA, los tres pacientes con fenotipo atenuado fueron diagnosticados a una edad más tardía (media de 55 años) de manera similar que aquellos con PAM.

Estas diferencias hacen que el riesgo de acabar desarrollando un CCR en los pacientes con PAF es mayor que en aquellos con PAFA/PAM. El tiempo de secuencia adenoma-carcinoma es de unos 10-15 años, por lo que la temprana aparición de múltiples pólipos en la PAF hace que estos pacientes acaben desarrollando tumores de manera muy precoz, a diferencia de aquellos con PAFA o PAM en los que el debut es más tardío.

La mayor parte de la población continuaba viva en el momento de este análisis. Cabe destacar un 50% de mortalidad en los 6 pacientes con mutación heterocigótica en el gen MUTYH. Esto se debe probablemente a que este grupo de pacientes presentaron CCR más avanzados, como comentaremos posteriormente.

A continuación, analizaremos el diagnóstico de CCR entre los diferentes grupos.

No hubo grandes diferencias en cuanto incidencia de CCR entre los 5 grupos estudiados. Todos ellos presentaban incidencias alrededor del 50% (tablas 28-32), salvo en el caso de los 6 pacientes con VP heterocigótica en MUTYH, de los cuales 5 (83%) fueron diagnosticados de CCR.

La edad media de aparición fue de 56 años en la mayoría de los grupos (variantes homo y heterocigóticas en MUTYH y VSD en APC) siendo un poco más mayores (62 años) en los 139 pacientes sin VP. Por el contrario, los pacientes con VP en APC presentaron tumores a una edad media más precoz (43 años). Al igual que se describe en la literatura (18) y como hemos explicado anteriormente.

La localización del tumor primario es poco extrapolable debido al escaso número de casos en cada grupo. Si analizamos el grupo mayoritario (pacientes sin VP), de los 66 casos, 40 (60%) fueron diagnosticados en colon izquierdo, 21 (32%) en colon derecho y el resto bilaterales. Datos muy similares a la población general (7). Es importante destacar que el

---

100% de pacientes con VP heterocigótica en MUTYH presentaron CCR en colon derecho. Aunque no he encontrado referencias a este hecho en la literatura, si que está descrita la mayor frecuencia de aparición de poliposis en el colon derecho en aquellos pacientes afectos de PAM (140, 141), hecho que relaciona nuestros resultados.

En el caso de los 4 tumores en pacientes con VP en APC, 3 fueron izquierdos y 1 derecho. Si consideramos los datos del Consenso Molecular (142, 143), el subtipo 2 del consenso molecular (CMS2) o tipo canónico, está asociado a la vía supresora de APC y wnt-beta catenina, siendo, estos tumores, más frecuentes en colon izquierdo.

Prácticamente todos los tumores fueron adenocarcinomas de tipo entérico, salvo 7 casos de adenocarcinomas mucinosos, la mayoría (6; 85%) del grupo sin VP ni VSD. En el caso del grado histológico, también destaca que la mayoría de los tumores fueron bien o moderadamente diferenciados (grado 1 y 2), con únicamente 3 casos de grado histológico 3. Como la mayoría de los tumores fueron diagnosticados en estadios precoces, como discutiremos posteriormente, muy pocos pacientes tenían realizado el estudio de RAS y BRAF por lo que no se puede realizar un análisis de esos datos. En el caso de la IHQ de los MMR, estuvo siempre presente la tinción en todos los genes, salvo un caso de pérdida de expresión de PMS2 en un paciente sin mutación en APC o MUTYH. Este paciente tiene realizado estudio en línea germinal de los genes reparadores del sistema MMR (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2), no se encontró ninguna VP o VSD en ninguno de ellos.

Para finalizar con la discusión de los CCR en nuestra población, analizaremos el estadio tumoral. Los 8 pacientes con variante patogénica en APC u homocigótica en MUTYH que presentaron casos de CCR fueron diagnosticados en estadio precoces (I, II o III) salvo un caso en un paciente con mutación bialélica en MUTYH, que presentó metástasis hepáticas. Los 8 pacientes con VSD en APC y presencia de CCR fueron también diagnosticados todos ellos en estadios precoces. Por el contrario, y como comentamos brevemente antes, a parte de tener una alta incidencia de CCR, el 40% de la población con mutación heterocigótica en MUTYH fue diagnosticada en estadio IV. Cabe destacar que todos los pacientes presentaron metástasis ováricas y peritoneales y, en un 50% de los casos hepáticas y pulmonares. Las dos primeras localizaciones típicas de los CCR derechos (1, 7).

---

En el caso del grupo sin mutaciones en APC y MUTYH, con un mayor tamaño muestral, los datos se pueden extrapolar a la población general. Un 60% de los casos fueron diagnosticados en estadio II o menor, un 25% en estadio III y un 13,6% en estadio IV. El estudio molecular de KRAS y NRAS fue nativo en todos los casos salvo uno. La localización metastásica más frecuente fue la hepática (66,6%), seguida de la pulmonar (44%) y peritoneal (33%).

Ante individuos con diagnóstico de PAF se considera indicada la cirugía mediante colectomía total o subtotal, ante la presencia de múltiples adenomas que no puedan ser controlados endoscópicamente (18). La cirugía se intenta realizar a partir de la segunda década de la vida si el manejo endoscópico es suficientemente seguro en niños e individuos jóvenes. En nuestra muestra, a un total de 30 (17%) pacientes se les ha realizado una colectomía total profiláctica.

Si analizamos únicamente los grupos de pacientes con variante patogénica propiamente dicha (APC y bialélica en MUTYH), de los 16 pacientes, únicamente 2 (12.5%) no han optado por realizar una colectomía total o subtotal. Siendo 14 (87.5%) los que sí han sido intervenidos. Por lo tanto, prácticamente la mitad de los pacientes con cirugías profilácticas forman parte de este reducido grupo de 16 pacientes.

Estos datos son acordes con lo descrito en otros estudios (65, 74). Es indicación absoluta de colectomía profiláctica el diagnóstico genético de PAF, asimismo la presencia de cientos de pólipos no controlables con estudio endoscópico. Por lo tanto, es lógico que la mayoría de los pacientes de nuestra muestra a los que se les ha practicado este tipo de intervenciones formen parte de estos dos grupos. En el caso de los pacientes sin mutación patogénica todos ellos cumplían alguno de los siguientes criterios: más de 100 pólipos en colonoscopias seriadas, tumores sincrónicos o metacrónicos o enfermedad inflamatoria intestinal (Crohn o Colitis Ulcerosa).

El siguiente punto a discutir, hace referencia a las características de las poliposis y el número de colonoscopias realizadas a los pacientes de cada grupo.

El principal problema para llevar a cabo la recopilación de estos datos fue la gran cantidad de endoscopias realizadas a cada paciente, teniendo que contabilizar los pólipos observados y extirpados en cada colonoscopia, así como su localización. Muchos de los

---

pólipos extirpados no se podían recoger con las pinzas endoscópicas, de tal manera que no se podía realizar el análisis histológico posterior.

Hemos querido realizar un análisis del número de colonoscopias realizadas antes del estudio genético y finalmente el número de colonoscopias totales que se han realizado en cada paciente a lo largo de su vida y hasta el momento de este estudio.

El número de colonoscopias previas es muy similar en todos los grupos (mediana de 3) salvo en el grupo de variantes patogénicas en APC. En este grupo, la media de colonoscopias realizadas previas al estudio genético es de 1. Esto es debido a dos factores principalmente: la presencia de cientos de pólipos tras la primera colonoscopia realizada y la realización posterior de una colectomía profiláctica, lo que conllevó la derivación precoz de los pacientes a la Unidad de Consejo Genético.

En el caso de los pacientes con mutación bialélica en MUTYH, como presentan normalmente <100 pólipos y una clínica más tardía que la PAF clásica, los datos son muy similares a los pacientes sin mutación. En el caso de las colonoscopias totales, los pacientes a los que se le ha diagnosticado una de las dos variantes patogénicas presentan una mayor cantidad de colonoscopias realizadas (medias de 7,5) que los otros 3 grupos, con una media de colonoscopias realizadas en su vida alrededor de 4. Probablemente esto se deba a la realización de un seguimiento más estrecho en aquellos pacientes con variantes patogénicas.

La edad de diagnóstico del primer pólipo es otro dato importante a analizar en estos pacientes. Los pacientes con VP en APC presentan una edad media de aparición del 1º pólipo mucho más precoz que el resto de grupos (39,4 años), tal y como describe la literatura (76, 77). Por su parte, en el resto de grupos, se presentan a edades similares, todos ellos a finales de la quinta década de la vida (56-58 años). Aunque cabe destacar que el grupo de los 14 pacientes con VSD en el gen APC tienen edades de aparición del 1º pólipo más precoces, con una media de 48 años. Esto probablemente se deba a que algunos de los pacientes presenten variantes que en un futuro se puedan reclasificar en patogénicas o probablemente patogénicas y estén tirando de la media hacia edades más tempranas.

---

A continuación, vamos a analizar el número de pólipos que presentaban los pacientes de cada grupo y su localización en el colon.

Existe una gran limitación en este análisis para los pacientes principalmente del grupo con VP en APC y algunos con VP bialélica en MUTYH. Muchos de ellos presentaban colonoscopias y colectomías totales con cientos de pólipos que no han podido ser contabilizados. Por lo tanto, la localización no ha podido ser estudiada correctamente en estos pacientes, aunque podemos presuponer que los pólipos afectan a todo el colon. Si analizamos únicamente aquellos en los que si se pudo realizar la contabilización (aunque, como he dicho anteriormente, presenta un sesgo importante) los pacientes con VP en APC presentan el doble de pólipos en colon izquierdo que en el colon derecho. Por su parte en los pacientes con mutaciones bialélicas en MUTYH ocurre lo contrario, una mayor proporción de pólipos en colon derecho, al igual que se describe en la literatura (140, 141).

En el resto de grupos y, al contrario de lo que se pudiera pensar, existe una media de pólipos totales mayor en los pacientes sin VP ni VSD que en aquellos con mutación heterocigótica en MUTYH o VSD en APC (19,28 pólipos de media por 13,6 y 15,2, respectivamente).

En el caso de la localización de los pólipos, aunque no existen grandes diferencias por lateralidad, si que se mantiene la tendencia similar a los grupos de variantes patogénicas: los pacientes con mutación heterocigótica en MUTYH presentaron mayor número de pólipos en colon derecho, mientras que, aquellos pacientes con VSD en APC, ocurrió lo contrario.

Para terminar con este apartado, los tipos histológicos de los pólipos no han arrojado datos relevantes. La inmensa mayoría de los pacientes presentaron pólipos adenomatosos a lo largo de su vida (74%), seguidos por la presencia de pólipos hiperplásicos en el 37% de los pacientes. Solamente a un paciente se le extirpó un pólipo hamartomatoso. Por su parte, en 15 (8,4%) pacientes se describieron pólipos serrados, todos esos pacientes además presentaban pólipos adenomatosos. Probablemente se trate de pacientes en la esfera de algún síndrome de poliposis mixta (115, 125), ya que la mayoría de ellos (11; 66%) pertenecen al grupo sin VP ni VSD.

---

En los pacientes con PAF clásica pueden aparecer manifestaciones extracolónicas que incluyen: pólipos del fundus gástrico y duodeno (presentes hasta en un 50% de individuos con PAF, con un riesgo de malignidad de los pólipos duodenales de hasta un 12%, cientos de veces aumentado con respecto al riesgo de la población general) (80), osteomas, anomalías dentales, hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina (HCEPR), tumores desmoides (hasta en el 10-30% de los individuos con PAF, aproximadamente el 65% de los tumores desmoides se localizan en la pared/ cavidad abdominal), y cáncer, como el duodenal (4-12%), hepatoblastoma (1-2%, generalmente antes de los 5 años), de tiroides (<2%), páncreas (<2%) y gástrico (<1%) (81). La PAFA y la PAM también incluyen manifestaciones extracolónicas, aunque en un porcentaje menor.

Se recogieron todos los tipos de ME que presentaron los pacientes incluidos en el estudio a lo largo de su vida.

De los 177 pacientes incluidos en este estudio, 39 (22%) acabaron desarrollando alguna ME, mientras que los 138 (78%) restantes no presentaron ninguna. Siendo los pacientes con VP en APC el grupo que presentó un mayor número de ME, presentes en el 77% de los casos; concordante con lo descrito en la literatura (81). El segundo grupo en incidencia fue el de los pacientes sin VP en APC y MUTYH. Al ser el de mayor tamaño muestral, se encontraron ME en 27 (19,4%) pacientes. En el resto de grupos la incidencia de ME fue muy escasa, con uno o dos casos por grupo.

La ME más frecuentemente encontrada fueron los adenomas gastroduodenales, que estuvieron presentes en 21 (12%) pacientes. Sin embargo, si analizamos únicamente la población con mutación en APC, el 77% de los pacientes presentaron este tipo de ME. El riesgo en la población general es menor del 1%, mientras que en aquellos pacientes afectados de PAF es de alrededor del 50%, por lo tanto, en nuestra población este porcentaje es un poco mayor probablemente debido al pequeño tamaño muestral y a la muestra estudiada, dado que presentan características fenotípicas de sospecha de poliposis hereditaria y no podemos descartar la presencia de otros actores genéticos implicados en su patogenia.



---

La segunda ME que se encontró de manera más frecuente fueron los quistes dérmicos en 16 (9%) pacientes, de los cuales 13 eran del grupo de los pacientes no mutados. Es el tipo de ME que puede aparecer más frecuentemente en la población general.

Los osteomas, a pesar de ser una ME que algunas series describen que pueden estar hasta en el 90% de los casos de PAF (incidencias entre 14-90%), solamente se encontraron en 2 pacientes en toda la población. Eso sí, los dos en pacientes con variante patogénica en el gen APC. Uno de ellos se asocia además a un tumor desmoide, características ambas de PAF (134 y 135).

La frecuencia de osteomas mandibulares y tumores desmoides se ven asociados con frecuencia con mutaciones germinales entre los codones 1395 y 1560 (138). Ninguno de los pacientes de nuestra muestra tiene VP en dicha localización. De ahí, probablemente, la baja incidencia.

Lo mismo ocurre con los tumores desmoides, encontrados en la PAF en un 10-30% y únicamente en 4 pacientes de nuestra muestra. Sin embargo, 2 de ellos se encuentran en pacientes con VP en APC, por lo que se trata del 28% de ellos; concordante con los datos de la literatura (18, 81).

Otro de las ME más típicas de la PAF es la HCEPR. Algunas series describen que puede aparecer hasta en el 50% de los casos de PAF clásica (136). En nuestra serie únicamente la presenta un paciente, que además no presentaba mutación en ninguno de los dos genes. Las mutaciones localizadas entre los codones 457 y 1444 se asocian con mayor incidencia de HCEPR, según lo descrito en otros trabajos (139). 5 (55%) VP en APC se encuentran en dichos codones, sin embargo, ninguno de ellos tiene antecedentes de HCEPR.

La probable causa de este hecho sea que la inmensa mayoría de los pacientes incluidos en este estudio carecían de revisión oftalmológica dirigida, produciendo un sesgo importante en la recogida de los datos.

El tumor (a parte del CCR) que más frecuentemente apareció en nuestros pacientes fue el cáncer gástrico (4 pacientes), seguido del cáncer duodenal y del cáncer de páncreas.

---

Se llevó a cabo un análisis multivariante para describir las diferencias de los grupos genotípicos en relación a las variables, así como, las relaciones entre las variables que mejor discriminan a dichos grupos. Se han elegido las variables que se podían cuantificar porque este análisis requiere de variables cuantitativas. Las variables están descritas en el apartado correspondiente.

En la figura 43 se muestra la representación del biplot canónico donde los dos primeros ejes canónicos adsorben 92,77% de la variabilidad entre las medias de los grupos. El primer eje canónico absorbe gran parte de esa variabilidad (86,59%) mientras que el segundo eje sólo absorbe el 6,18%, lo que indica que las grandes diferencias entre los grupos vienen determinadas por el eje 1. Los círculos de confianza proporcionan información sobre las diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Se detectan diferencias si los círculos no se solapan. Aunque estas características inferenciales no serán comentadas debido al incumplimiento de los supuestos de partida de esta técnica como se indicó en la sección de material y métodos.

El primer dato importante que nos da este análisis multivariante es que las medias de los números de pólipos son clave para diferenciar los dos grupos con mutaciones patogénicas frente al resto. Aunque no se puede realizar un análisis inferencial, al no estar solapados los círculos de confianza, habría diferencias estadísticamente significativas respecto a los otros tres grupos. Lo mismo ocurre con el número de manifestaciones extracolónicas, siendo una variable diferencial para el grupo 1 (mutación patogénica en APC) respecto al resto.

Si analizamos el resto de variables, nos confirma los datos del estudio descriptivo exploratorio. La edad al diagnóstico y edad al primer pólipo es significativamente menor en el grupo 1, respecto al resto. Mientras que el grupo 3 (VSD en APC) también destaca con medias menores.

Las variables CCR, localizaciones metastásicas y éxitus nos discriminan claramente el grupo 4 (mutación heterocigótica en MUTYH) respecto al resto, ya que presenta una mayor incidencia de CCR, diagnóstico en estadios más avanzados y mayor mortalidad. En este caso los círculos de confianza se solapan debido al pequeño tamaño muestral.

---

Si se consideran los ejes canónicos con funciones de discriminación y se clasifican a los individuos mediante estas funciones se observa cómo tanto los grupos 1, 2 y 5 presentan un porcentaje de bien clasificado de casi el 80%, mientras que en los grupos 3 y 4 los porcentajes son menores (tablas 52 y 53). Estos porcentajes tan bajos en estos dos grupos se puede deber al escaso número de observaciones y que con respecto a estas variables no se diferencian mucho del grupo de no mutados como se ha visto en el análisis canónico. Estos datos nos indican que los grupos con mutación patogénica y sin mutación son muy homogéneos en todas las variables estudiadas, a diferencia de los otros dos grupos.

En los últimos años los paneles de secuenciación masiva NGS han supuesto una revolución tanto en el estudio genómico a nivel tumoral, como para el estudio germinal dentro de la Unidades de Consejo Genético.

Sería clave realizar este tipo de paneles en aquellos pacientes con sospecha de síndrome de poliposis hereditaria, pero con ausencia de mutación en los genes APC y MUTYH, de cara a intentar descubrir otros genes que pudieran estar implicados.

En un primer momento, hemos realizado un estudio más amplio con un panel de múltiples genes (descrito en resultados) en 57 pacientes seleccionados sin VP en APC y MUTYH y con criterios clínicos de poliposis adenomatosa familiar. Los resultados obtenidos muestran un estudio no informativo, ya que no podemos establecer ninguna como patogénica o probablemente patogénica, causante de algún síndrome de predisposición hereditaria a cáncer.

Serán necesarios nuevos estudios con mayor tamaño muestral y seleccionando aquellos genes potencialmente implicados en la presencia de pólipos adenomatosos colónicos. En este momento, en la Unidad de Consejo Genético del CAUSA, se cuenta de manera asistencial con el estudio mediante panel de múltiples genes de predisposición a cáncer de colon hereditario/poliposis y, en casos de historia familiar compleja o con fenotipos no claros, se emplea un panel de genes más amplio de predisposición hereditaria a cáncer. El análisis y seguimiento de los individuos estudiados en este contexto permitirá, en un futuro, completar los datos aquí presentados.

---

**Limitaciones del estudio:**

En primer lugar, se han elegido aquellos pacientes con estudio germinal en MUTYH y APC, pero el principal criterio de exclusión (ausencia de acceso a la historia oncológica personal y familiar del paciente) nos hizo perder a 44 pacientes de inicio, dos de ellos con mutación patogénica en el gen APC que nos hubieran enriquecido enormemente la muestra.

Posteriormente, y como principal limitación de este estudio es el pequeño tamaño muestral de pacientes con mutación patogénica. Aunque el grupo de no mutados si presenta un tamaño muestral nada despreciable y del cual se pueden extrapolar datos importantes, la presencia de únicamente 9 pacientes con mutación en APC y 7 con mutación bialélica en MUTYH ha hecho muy complicado el análisis de los resultados. De hecho, la limitación del tamaño muestral de los grupos con mutación ha sido la principal causa de no haber podido realizar un análisis inferencia propiamente dicho, y hayamos tenido que utilizar al BILOT canónico para enriquecer el análisis descriptivo, aunque sin poder establecer una comparación con datos inferenciales.

Otra limitación importante para el análisis ha sido la dificultad para la recogida datos. Cabe mencionar, en primer lugar, que los pacientes con mutación patogénica presentaban cientos de pólipos que eran incontables y no nos permitía establecer su localización colónica. En segundo lugar, tuvimos que analizar una a una todas las colonoscopias realizadas en su vida a todos y cada uno de los 177 pacientes, realizando una contabilización de los pólipos en colon derecho, izquierdo y total. Aquí nos encontramos que muchos no se extirpaban y que en ocasiones los informes endoscópicos eran muy escuetos y no nos aportaban información de la localización del pólipo. Por otro lado, una gran parte de los pólipos que se extirpan en las colonoscopias no se acaban por recoger para estudio histológico, por lo que el análisis de los tipos histológicos se ha visto limitado.

La recogida de manifestaciones extracolónicas (ME) se vio limitada por la ausencia de informes de algunos servicios clínicos, principalmente de pacientes de otras provincias, en los que no registraban ME importantes como quistes dérmicos, osteomas o la ausencia de acceso a los informes oftalmológicos de los pacientes en aquellos en los que estaba

---

realizada dicha revisión. Este hecho hace que, probablemente, se hayan perdido datos de ME.

En el caso de los eventos oncológicos, ya que muchos de los pacientes se encuentran diagnosticados hace más de 10 años, es difícil acceder a su historia oncológica y datos histológicos relacionados. Muchos de los pacientes al estar diagnosticados en estadios precoces no tenían realizado el estudio IHQ de los MMR, ni el estudio molecular de RAS y BRAF.

Por otro lado, un estudio que, sin duda, hubiera enriquecido el análisis y que será una línea de investigación futura de nuestro grupo, es el análisis pormenorizado de los familiares estudiados, el estudio de los familiares no estudiados, conocer la penetrancia y expresividad de las diferentes VP, así como los estudios de segregación tanto de VP como de VSD. Estudios funcionales de estas VSD permitirían optimizar el manejo de los individuos portadores.

Respecto del estudio genético que se ha realizado es importante destacar que, se ha llevado a cabo mediante secuenciación genética, técnica que no permite descartar la presencia de grandes reordenamientos; sería conveniente realizar otras técnicas como el MLPA (*Multiplex Ligation dependent Probe Amplification*) para identificar estas causas, menos frecuentes pero posibles, de poliposis adenomatosa hereditaria. Además, como se ha comentado en la introducción, recientemente, se han incorporado otros actores genéticos como responsables de poliposis colónicas hereditarias que tendrán que incorporarse al estudio en los cuadros de sospecha. Ambas estrategias en las que ya está trabajando nuestro grupo.

Por último, mencionar la exclusión de otras poliposis de nuestro estudio. Nuestro proyecto está centrado en poliposis adenomatosa, porque son los sujetos incluidos en el programa de Consejo Genético de Castilla y León.

Este estudio es, sin duda, importante por estar centrado en una situación común y frecuente en las UCG, la presencia de múltiples pólipos adenomatosos en colon y/o su aparición en edad temprana; sin embargo, la heterogeneidad en las formas de presentación, la variabilidad entre las causas genéticas conocidas y la presencia de formas

---

menos estudiadas como los mosaicismos, hace difícil su análisis y, posterior, asesoramiento de los individuos y sus familiares en las Unidades de Consejo Genético. Estudios futuros en este sentido, multicéntricos y atendiendo a muchas de estas consideraciones serán clave para avanzar en el conocimiento y optimizar el manejo de los individuos con poliposis adenomatosa colónica.

---

---

# **CONCLUSIONES**



---

**CONCLUSIONES:**

1. Los pacientes que cumplen criterios de estudio de poliposis adenomatosa dentro del programa de consejo genético de Castilla y León presentan una frecuencia de variantes patogénicas en los genes APC y MUTYH del 12%. Sin embargo, en pacientes con criterio de PAF clásica, la frecuencia de VP fue del 80%. Podemos concluir que, las poliposis adenomatosas hereditarias, siguen siendo entidades eminentemente clínicas.
2. Las formas de poliposis hereditaria atenuada son más heterogéneas y la sensibilidad de detección de VP en los principales genes implicados, es menor. Cumplir los criterios de sospecha y elegir al probando adecuado son claves para optimizar el diagnóstico de las formas hereditarias de poliposis colónica.
3. Las variantes patogénicas en heterocigosis en el gen MUTYH se describen en el 3.3% de nuestra muestra y se asocian a CCR en el 83% de los casos, estando todos ellos localizados en el colon derecho. Aunque existe sesgo de selección de la muestra, nuestros datos apoyan que las variantes patogénicas heterocigóticas en el gen MUTYH confieren aumento de riesgo de CCR.
4. Los pacientes con VSD en el gen APC de nuestro estudio presentaban unas características muy similares a los pacientes sin mutación. Destacando una edad de identificación del primer pólipo 10 años más precoz y una localización de los pólipos mayoritaria en colon izquierdo. Es importante la reclasificación futura de estas variables a través de estudios funcionales del gen y análisis de segregación.
5. El estudio mediante paneles de múltiples genes en pacientes con criterios clínicos de poliposis adenomatosa hereditaria sin variantes patogénicas en APC y MUTYH no ha identificado nuevos genes implicados en el desarrollo de las poliposis, en nuestra muestra. Sin embargo, la incorporación de genes recientemente descritos asociados al riesgo de poliposis adenomatosas, como POLD1, POLE o mutaciones bialélicas en NTLH1 o MSH3 pensamos que permitirá optimizar el diagnóstico y manejo de estos individuos y sus familias. Serán necesarios estudios prospectivos y con mayor tamaño muestral.



# **BIBLIOGRAFÍA**

1. Fonseca Sánchez E y Vidal Tocino R: Cáncer de Colon y Recto. En: Cruz Hernández J, Rodríguez Sánchez C, Barco Morillo E, Fonseca Sánchez E. Oncología clínica. 6th ed. Elsevier; 2018.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249.
3. Las Cifras Del Cáncer En España 2023. 3rd ed. [ebook] Madrid. Disponible en: [https://seom.org/images/Las\\_cifras\\_del\\_Cancer\\_en\\_Espana\\_2023.pdf](https://seom.org/images/Las_cifras_del_Cancer_en_Espana_2023.pdf) [Acceso el 03 April 2023].
4. Instituto Nacional de Estadística (INE). Defunciones según la causa de muerte 2020. [último acceso el 30/03/2023]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?path=/t15/p417/a2018/10/&file=01001.px>
5. Gómez-España, M.A., Gallego, J., González-Flores, E. *et al.* SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer (2018). *Clin Transl Oncol* 21, 46–54 (2019).
6. Cervantes A, Adam R, Roselló S, Arnold D, Normanno N, Taïeb J, Seligmann J, De Baere T, Osterlund P, Yoshino T, Martinelli E; ESMO Guidelines Committee. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023 Jan;34(1):10-32.
7. Figuero-Pérez L, Vidal MR, Fonseca E, Cigarral B, Casado D, Barrios B, Claros J, Escalera E, Olivares A, Terán E, López A, Cruz JJ. Cáncer colorrectal. *Medicine*. 2021; 13(24): 1335-44.
8. Fedirko V, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol*. 2011;22:1958–72.
9. Botteri E, et al. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2008;300:2765–78.
10. Scott A, Alexander J, Merrifield C, Cunningham D, Jobin C, Brown R, et al. International Cancer Microbiome Consortium consensus statement on the role of the human microbiome in carcinogenesis. *Gut*. 2019;68(9):1624-32.
11. Scott A, Alexander J, Merrifield C, Cunningham D, Jobin C, Brown R, et al. International Cancer Microbiome Consortium consensus statement on the role of the human microbiome in carcinogenesis. *Gut*. 2019;68(9):1624-32.

12. Castillejo A, Hernández-Illán E, Rodríguez-Soler M, Pérez-Carbonell L, Egoavil C, Barberá VM, et al. Prevalence of MLH1 constitutional epimutations as a cause of Lynch syndrome in unselected versus selected consecutive series of patients with colorectal cancer. *J Med Genet* 2015;52(7):498-502.
13. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, Giles GG, et al. Prevalence and penetrance of major genes and polygenes for colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2017;26(3):404–412.
14. Yurgelun MB, Kulke MH, Fuchs CS, Allen BA, Uno H, Hornick JL, et al. Cancer susceptibility gene mutations in individuals with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2017;35(10):1086–1095.
15. Stoffel EM, Yurgelun MB, Boland CR. Lynch Syndrome. En: Valle L, Gruber SB, Capellá G, eds. *Hereditary Colorectal Cancer: Genetic Basis and Clinical Implications*. Springer. Nature, 2018 (ISBN 978-3-319-74259-5): 3-20.
16. Cohen SA, Leininger A. The genetic basis of Lynch syndrome and its implications for clinical practice and risk management. *Appl Clin Genet*. 2014 Jul 22;7:147-58.
17. Li J, Woods SL, Healey S, Beesley J, Chen X, Lee JS, et al. Point mutations in exon 1B of APC reveal gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach as a familial adenomatous polyposis variant. *Am J Hum Genet*. 2016;98:830-42.
18. Libro de Cáncer Hereditario SEOM. 3ª edición. ISBN: 978-84-09-10462-8
19. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487:330-7.
20. Castaño-Milla C, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic review with meta-analysis: the declining risk of colorectal cancer in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:645–59.
21. Areses Manrique MC, Iglesias Rey L, Cubiella J. El largo camino de la biología molecular a la práctica clínica en el cáncer colorrectal [The long road from molecular biology to clinical practice in colorectal cancer]. *Gastroenterol Hepatol*. 2016 Aug-Sep;39(7):429-32.
22. Libutti SK, Saltz LB, Willet CG and Levine RA. Cancer of the colon. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, *Cancer: Principles and Practice Oncology*. 11th ed. Wolter Kluwer Health. Philadelphia 2019; 768-812.

23. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487:330-7.
24. Argilés G, Taberero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, Laurent-Puig P, Quirke P, Yoshino T, Taieb J, Martinelli E, Arnold D; ESMO Guidelines Committee. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020 Oct;31(10):1291-1305.
25. A.C. Ford, S.J. Veldhuyzen van Zanten, C.C. Rodgers, et al. Diagnostic utility of alarm features for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut*, 57 (2008), 1545-1553.
26. S. Lin, M.A. Piper, L.A. Perdue, et al. Screening for colorectal cancer: updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force *JAMA*, 315 (2016), 2576-2594
27. T. Konishi, Y. Shimada, M. Hsu, et al. Association of preoperative and postoperative serum carcinoembryonic antigen and colon cancer outcome *JAMA Oncol*, 4 (3) (2018), 309-315.
28. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregional sequencing. *N Engl J Med*. 2012 366(10): 883-92.
29. Kleppe M, Levine RL. Tumor heterogeneity confounds and illuminates: assessing the implications. *Nat Med*. 2014; 20(4):342-4
30. Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014, 20;32(6):579-86.
31. Esposito A, Bardelli A, Criscitiello C, et al. Monitoring tumor-derived cell-free DNA in patients with solid tumors: Clinical perspectives and research opportunities. *Cancer Treat Rev*. 2014;40:648-55.
32. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014 19;6(224):224ra24.
33. García JL, Matos I, Lozano Mejorada R, et al. Mutational analysis of circulating DNA and cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2014, 25 (suppl 4):iv560.
34. Matos I, Lozano R, Fonseca E, et al. Isolation of circulating tumor cells in colon cancer patients by size and chromosomal abnormalities. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr e22058).

35. Fernández-Lázaro D, García Hernández JL, García AC, Córdova Martínez A, Mielgo-Ayuso J, Cruz-Hernández JJ. Liquid Biopsy as Novel Tool in Precision Medicine: Origins, Properties, Identification and Clinical Perspective of Cancer's Biomarkers. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Apr 13;10(4):215.
36. Tsai WS, You JF, Hung HY, Hsieh PS, Hsieh B, Lenz HJ, Idos G, Friedland S, Yi-Jiun Pan J, Shao HJ, Wu JC, Lai JM, Chang SE, Mei R, Watson D, Javey M, Nimgaonkar A. Novel Circulating Tumor Cell Assay for Detection of Colorectal Adenomas and Cancer. *Clin Transl Gastroenterol*. 2019 Oct;10(10):e00088.
37. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, Picus J, Morse M, Mitchell E, Miller MC, Doyle GV, Tissing H, Terstappen LW, Meropol NJ. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 1;26(19):3213-21.
38. Flamini E, Mercatali L, Nanni O, Calistri D, Nunziatini R, Zoli W, Rosetti P, Gardini N, Lattuneddu A, Verdecchia GM, Amadori D. Free DNA and carcinoembryonic antigen serum levels: an important combination for diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2006 Dec 1;12(23):6985-8.
39. Classification TNM. American Joint Committee on Cancer: AJCC cancer staging manual. 8th ed. New York: Springer; 2017.
40. T.E.L. Voyer, E.R. Sigurdson, A.L. Hanlon, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analysed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol*, 21 (2003), 2912-2919.
41. Clinical practice guidelines for the surgical management of colon cancer: a consensus statement of the Hellenic and Cypriot Colorectal Cancer Study Group by the HeSMO. *Ann Gastroenterol*, 29 (2016), 3-17.
42. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Colon cancer. Version 2.2022
43. H. Nelson, D.J. Sargent, H.S. Wieand, et al. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med*, 350 (2004), 2050-2059.
44. J. Hewett, R.A. Allardyce, P.F. Bagshaw, et al. Short-term outcomes of the Australasian randomized clinical study comparing laparoscopic and conventional open surgical treatments for colon cancer: the ALCCaS trial.
45. I.B. Ribeiro, W.M. Bernardo, B.D.C. Martins, et al. Colonic stent versus emergency surgery as treatment of malignant colonic obstruction in the palliative

- setting: a systematic review and meta-analysis. *Endosc Int Open*, 6 (2018), E558-E567.
46. J.E. van Hooft, J.V. Veld, D. Arnold, et al. Self-expandable metal stents for obstructing colonic and extracolonic cancer: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline – Update 2020. *Endoscopy*, 52 (2020), 389-407.
47. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, Langeberg WJ, Kelsh MA, Mowat FS, et al. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin Epidemiol*. 2012;4:283-301
48. Boudjema K, Locher C, Sabbagh C, Ortega-Deballon P, Heyd B, Bachellier P, Métairie S, Paye F, Bourlier P, Adam R, Merdrignac A, Tual C, Le Pabic E, Sulpice L, Meunier B, Regimbeau JM, Bellissant E; METASYNC Study group. Simultaneous Versus Delayed Resection for Initially Resectable Synchronous Colorectal Cancer Liver Metastases: A Prospective, Open-label, Randomized, Controlled Trial. *Ann Surg*. 2021 Jan 1;273(1):49-56.
49. Serrano PE, Parpia S, Karanicolas P, Gallinger S, Wei AC, Simunovic M, Bhandari M, Levine M. Simultaneous resection for synchronous colorectal cancer liver metastases: A feasibility clinical trial. *J Surg Oncol*. 2022 Mar;125(4):671-677.
50. Vendrely V, Rivin Del Campo E, Modesto A, Jolnerowski M, Meillan N, Chiavassa S, Serre AA, Gérard JP, Créhanges G, Huguet F, Lemanski C, Peiffert D. Rectal cancer radiotherapy. *Cancer Radiother*. 2022 Feb-Apr;26(1-2):272-278.
51. Wo JY, Anker CJ, Ashman JB, Bhadkamkar NA, Bradfield L, Chang DT, Dorth J, Garcia-Aguilar J, Goff D, Jacqmin D, Kelly P, Newman NB, Olsen J, Raldow AC, Ruiz-Garcia E, Stitzenberg KB, Thomas CR Jr, Wu QJ, Das P. Radiation Therapy for Rectal Cancer: Executive Summary of an ASTRO Clinical Practice Guideline. *Pract Radiat Oncol*. 2021 Jan-Feb;11(1):13-25.
52. Koukourakis MI, Kavazis C, Giagtzidis A, Mamalis P, Tsaroucha A, Botaitis S, Giatromanolaki A, Pitiakoudis M. Postoperative hypofractionated-accelerated radiotherapy (HypoAR) for locally advanced rectal cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2022 May 5;52(5):493-498.
53. Lam SW, Guchelaar HJ, Boven E. The role of pharmacogenetics in capecitabine efficacy and toxicity. *Cancer Treat Rev*. 2016 Nov;50:9-22.
54. Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pintér T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C,



- Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009 Apr 2;360(14):1408-17.
55. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Taberero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Tian Y, Xu F, Sidhu R. Final results from PRIME: randomized phase III study of panitumumab with FOLFOX4 for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2014 Jul;25(7):1346-1355.
56. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, Lu S, Kemberling H, Wilt C, Luber BS, Wong F, Azad NS, Rucki AA, Laheru D, Donehower R, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Greten TF, Duffy AG, Ciombor KK, Eyring AD, Lam BH, Joe A, Kang SP, Holdhoff M, Danilova L, Cope L, Meyer C, Zhou S, Goldberg RM, Armstrong DK, Bever KM, Fader AN, Taube J, Housseau F, Spetzler D, Xiao N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Eshleman JR, Vogelstein B, Anders RA, Diaz LA Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017 Jul 28;357(6349):409-413.
57. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Dec 3;383(23):2207-2218.
58. Valle L. Recent Discoveries in the Genetics of Familial Colorectal Cancer and Polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 809–819.
59. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(6):2044-58.
60. Talseth-Palmer BA. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract* 2017; 15:5. doi: 10.1186/s13053-017-0065-x.
61. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Version 1.2022. [Internet]. 2022. Accesible en [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/default.aspx#genetics\\_colon](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#genetics_colon)

62. Cubiella J, Marzo-Castillejo M, Mascort-Roca JJ, Amador-Romero FJ, Bellas-Beceiro B, Clofent-Vilaplana J, Carballal S, Ferrándiz-Santos J, Gimeno-García AZ, Jover R, Mangas-Sanjuán C, Moreira L, Pellisè M, Quintero E, Rodríguez-Camacho E, Vega-Villaamil P; Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria y Asociación Española de Gastroenterología. Clinical practice guideline. Diagnosis and prevention of colorectal cancer. 2018 Update. *Gastroenterol Hepatol*. 2018 Nov;41(9):585-596.
63. Rivera B, González S, Sánchez-Tomé E, Blanco I, Mercadillo F, Letón R, et al. Clinical and genetic characterization of classical forms of familial adenomatous polyposis: a Spanish population study. *Ann Oncol* 2011; 22: 903–909.
64. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocaña T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. *Appl Clin Genet* 2015; 8: 95–107.
65. Dinarvand P, Davaro EP, Doan JV, Ising ME, Evans NR, Phillips NJ, Lai J, Guzman MA. Familial Adenomatous Polyposis Syndrome: An Update and Review of Extraintestinal Manifestations. *Arch Pathol Lab Med*. 2019 Nov;143(11):1382-1398.
66. Hankey W, Frankel WL, Groden J. Functions of the APC tumor suppressor protein dependent and independent of canonical WNT signaling: implications for therapeutic targeting. *Cancer Metastasis Rev* 2018; 37:159–172.
67. Zhang L, Shay JW. Multiple roles of APC and its therapeutic implications in colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109(8). doi: 10.1093/jnci/djw332
68. Jeong WJ, Ro EJ, Choi KY. Interaction between Wnt/b-catenin and RAS-ERK pathways and an anti-cancer strategy via degradations of b-catenin and RAS by targeting the Wnt/b-catenin pathway. *NPJ Precis Oncol* 2018; 2(1):5. doi: 10.1038/s41698-018-0049-y.
69. Kanth P, Grimmatt J, Champine M, Burt R, Samadder NJ. Hereditary Colorectal Polyposis and Cancer Syndromes: A Primer on Diagnosis and Management. *Am J Gastroenterol*. 2017 Oct;112(10):1509-1525.
70. Desai TK, Barkel D. Syndromic colon cancer: lynch syndrome and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2008 Mar;37(1):47-72.
71. Fodde R. The APC gene in colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2002 May;38(7):867-71.

- 
72. Taketo MM. Apc gene knockout mice as a model for familial adenomatous polyposis. *Prog Exp Tumor Res.* 1999;35:109-19.
  73. Nieuwenhuis MH, Vasen HF. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61: 153–161.
  74. Lorca V, Rueda D, Martín-Morales L, Fernández-Aceñero MJ, Grolleman J, Poves C, Llovet P, Tapial S, García-Barberán V, Sanz J, Pérez-Segura P, de Voer RM, Díaz-Rubio E, de la Hoya M, Caldés T, Garre P. Contribution of New Adenomatous Polyposis Predisposition Genes in an Unexplained Attenuated Spanish Cohort by Multigene Panel Testing. *Sci Rep.* 2019 Jul 8;9(1):9814.
  75. Li J, Woods SL, Healey S, Beesley J, Chen X, Lee JS et al. Point Mutations in Exon 1B of APC Reveal Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach as a Familial Adenomatous Polyposis Variant. *Am J Hum Genet* 2016; 98: 830–842.
  76. Vasen HF, Möslein G, Alonso A, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut.* 2008 May;57(5):704-13. doi: 10.1136/gut.2007.136127. Epub 2008 Jan 14.
  77. Campbell W. J., Spence RA, Parks TG. Familial adenomatous polyposis. *Br.J Surg.* 1994;81:1722-1733.
  78. Aretz S, Uhlhaas S, Caspari R, Mangold E, Pagenstecher C, Propping P, et al. Frequency and parental origin of de novo APC mutations in familial adenomatous polyposis. *Eur J Hum Genet.* 2004 Jan;12(1):52-8.
  79. Grover S, Kastrinos F, Steyerberg EW, Cook EF, Dewanwala A, Burbidge LA, et al. Prevalence and phenotypes of APC and MUTYH mutations in patients with multiple colorectal adenomas. *JAMA.* 2012 Aug 1;308(5):485-492.
  80. Groves CJ, Saunders BP, Spigelman AD, Phillips RK. Duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis (FAP): results of a 10 year prospective study. *Gut.* 2002 May;50(5):636-41.
  81. Groen EJ, Roos A, Muntinghe FL, Enting RH, de Vries J, Kleibeuker JH, et al.. Extra-intestinal manifestations of familial adenomatous polyposis. *Ann Surg Oncol.*2008;15:2439-50.
  82. Maga T, Balay L, Jung B. Advantages and Some Remaining Challenges in Hereditary Gastrointestinal Cancer Panel Testing. *Clin Transl Gastroenterol.* 2017 May 11;8(5):e92.

83. Trobaugh-Lotrario AD, López-Terrada D, Li P, Feusner JH. Hepatoblastoma in patients with molecularly proven familial adenomatous polyposis: Clinical characteristics and rationale for surveillance screening. *Pediatr Blood Cancer*. 2018 Aug;65(8):e27103.
84. Kastrinos F, Stoffel EM, Balmaña J, Syngal S. Attitudes toward prenatal genetic testing in patients with familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol*. 2007 Jun;102(6):1284-90.
85. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol*. 2015 Feb;110(2):223-62; quiz 263.
86. Stoffel EM, Mangu PB, Gruber SB; American Society of Clinical Oncology; European Society of Clinical Oncology. Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline endorsement of the familial risk-colorectal cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J Clin Oncol*. 2015 Jan 10;33(2):209-17.
87. Solomon SD, McMurray JJ, Pfeffer MA, Wittes J, Fowler R, Finn P, et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention. *N Engl J Med*. 2005 Mar 17;352(11):1071-80.
88. Giardiello FM, Yang VW, Hylind LM, Krush AJ, Petersen GM, Trimbath JD, et al. Primary chemoprevention of familial adenomatous polyposis with sulindac. *N Engl J Med*. 2002 Apr 4;346(14):1054-9.
89. West NJ, Clark SK, Phillips RK, Hutchinson JM, Leicester RJ, Belluzzi A, et al. Eicosapentaenoic acid reduces rectal polyp number and size in familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2010 Jul;59(7):918-25.
90. Cruz-Correa M, Hylind LM, Romans KE, Booker SV, Giardiello FM. Long-term treatment with sulindac in familial adenomatous polyposis: a prospective cohort study. *Gastroenterology*. 2002 Mar;122(3):641-5.
91. Win AK, Reece JC, Dowty JG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, et al. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH. *Int J Cancer* 2016; 139: 1557–1563.
92. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, et al. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet* 2002; 30: 227–232.

- 
93. Weren RDA, Ligtenberg MJL, van Kessel AG, De Voer RM, Hoogerbrugge N, Kuiper RP. NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? *J Pathol* 2018; 4: 135–142.
  94. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocaña T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. *Appl Clin Genet* 2015; 8: 95–107.
  95. Gómez-Fernández N, Castellví-Bel S, Fernández-Rozadilla C, Balaguer F, Muñoz J, Madrigal I, et al. Molecular analysis of the APC and MUTYH genes in Galician and Catalanian FAP families: a different spectrum of mutations? *BMC Med Genet* 2009; 10: 57.
  96. Kantor M, Sobrado J, Patel S, Eiseler S, Ochner C. Hereditary Colorectal Tumors: A Literature Review on MUTYH-Associated Polyposis. *Gastroenterol Res Pract.*;2017:8693182.
  97. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, et al. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet.* 2002 Feb;30(2):227-32.
  98. Win AK, Dowty JG, Cleary SP, Kim H, Buchanan DD, Young JP, et al. Risk of colorectal cancer for carriers of mutations in MUTYH, with and without a family history of cancer. *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):1208-11.e1-5.
  99. Lorans M, Dow E, Macrae FA, Winship IM, Buchanan DD. Update on Hereditary Colorectal Cancer: Improving the Clinical Utility of Multigene Panel Testing. *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17(2):e293-e305. doi: 10.1016/j.clcc.2018.01.001.
  100. Weren RD, Ligtenberg MJ, Kets CM, de Voer RM, Verwiel ET, Spruijt L, et al. A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer. *Nat Genet* 2015; 47: 668–671.
  101. Rivera B, Castellsague E, Bah I, van Kempen LC3, Foulkes WD. Biallelic NTHL1 mutations in a woman with multiple primary tumors. *N Engl J Med* 2015; 373: 1985–1986.
  102. Palles C, Cazier JB, Howarth KM, Domingo E, Jones AM, Broderick P, et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet.* 2013; 45: 136–144.

- 
103. Bellido F, Pineda M, Aiza G, Valdés-Mas R, Navarro M, Puente DA, et al. POLE and POLD1 mutations in 529 kindred with familial colorectal cancer and/or polyposis: review of reported cases and recommendations for genetic testing and surveillance. *Genet Med* 2016; 18: 325–332.
  104. Lorans M, Dow E, Macrae FA, Winship IM, Buchanan DD. Update on Hereditary Colorectal Cancer: Improving the Clinical Utility of Multigene Panel Testing. *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17(2):e293-e305. doi: 10.1016/j.clcc.2018.01.001.
  105. Rivera B, Perea J, Sánchez E, Villapún M, Sánchez-Tomé E, Mercadillo F, et al. A novel AXIN2 germline variant associated with attenuated FAP without signs of oligodontia or ectodermal dysplasia. *Eur J Hum Genet* 2014; 22: 423–426.
  106. Adam R, Spier I, Zhao B, Kloth M, Marquez J, Hinrichsen I, et al. Exome Sequencing Identifies Biallelic MSH3 Germline Mutations as a Recessive Subtype of Colorectal Adenomatous Polyposis. *Am J Hum Genet* 2016; 99: 337–351.
  107. Kinzler KW, Vogelstein B. Landscaping the cancer terrain. *Science* 1998; 280: 1036–1037.
  108. Chalhoub N, Baker SJ. PTEN and the PI3-Kinase Pathway in Cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 127–150.
  109. Kanth P, Grimmett J, Champine M, Burt R, Samadder NJ. Hereditary Colorectal Polyposis and Cancer Syndromes: A Primer on Diagnosis and Management. *Am J Gastroenterol* 2017; 112:1509–1525.
  110. Pilarski R, Burt R, Kohlman W, Pho L, Shannon KM, Swisher E. Cowden Syndrome and the PTEN hamartoma tumor syndrome: systematic review and revised diagnostic criteria. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(21): 1607-16. doi: 10.1093/jnci/djt277.
  111. Luo S, Chen J, Mo X. The association of PTEN hypermethylation and breast cancer: a metaanalysis. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 5643-50
  112. Yehia L, Ni Y, Sesock K, Niazi F, Fletcher B, Chen HJL, LaFramboise T, Eng C. Unexpected cancer-predisposition gene variants in Cowden syndrome and Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome patients without underlying germline PTEN mutations. *PLoS Genet*. 2018 Apr 23;14(4):e1007352.

- 
113. Gorlin RJ, Cohen MM Jr, Condon LM, Burke BA. Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome. *Am J Med Genet.* 1992 Oct 1;44(3):307-14.
  114. Ma H, Brosens LAA, Offerhaus GJA, Giardiello FM, de Leng WWJ, Montgomery EA. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology* 2018; 50: 49–59.
  115. Gala MK, Mizukami Y, Le LP, Moriichi K, Austin T, Yamamoto, et al. Germline mutations in oncogene-induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. *Gastroenterology* 2014; 146: 520–529.
  116. Zhao M, Mishra L, Deng CX. The role of TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling in cancer. *Int J Biol Sci.* 2018 Jan 12;14(2):111-123.
  117. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Version 1.2022. Genetic/Familial high-risk assessment colorectal.
  118. Thakkar K, Fishman SD and Gilger MA. Colorectal polyps in childhood. *Curr Opin Pediatr* 2012; 24(5): 632-7. Doi:10.1097/MOP.Ob013e328357419f.
  119. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S et al. Peutz-Jeghers síndrome: a sistematic review and recommendations for management. *Gut* 2010; 59: 975-86.
  120. Young RH. Sex cord stromal tumors of the ovary and testis: their similarities and differences with consideration of selected problems. *Mod Pathol* 2005; 2: 81-98.
  121. Borun P, DeRosa M, Nedoszytko B, Walkowiak J, Plawski A. Specific Alu element involved in a significant percentage of copy number variations of the STK11 gene in patients with Peutz-Jeghers syndrome. *Familial Cancer* 2015; 14:455-61
  122. Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, Goodman SN, Petersen GM et al. Very high risk of cáncer in familial Peutz-Jeghers síndrome. *Gastroenterology* 2000; 119: 1447-53
  123. Yan HH, Lai JCW, Ho SL, Leung WK, Law WL, Lee JFY, et al. RNF43 germline and somatic mutation in serrated neoplasia pathway and its association with BRAF mutation. *Gut* 2017; 66: 1645–1656.
  124. Jaeger E, Leedham S, Lewis A, Segditsas S, Becker M, Cuadrado PR, et al. Hereditary mixed polyposis syndrome is caused by a 40-kb upstream duplication that leads to increased and ectopic expression of the BMP antagonist GREM1. *Nat Genet* 2012; 44: 699–703.

- 
125. McKenna DB, Van Den Akker J, Zhou AY, Ryan L, Leon A, O'Connor R, et al. Identification of a novel GREM1 duplication in a patient with multiple colon polyps. *Fam Cancer* 2018; doi: 10.1007/s10689-018-0090-6.
  126. Sambrook, J., E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
  127. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Apr;86(8):2766-70.
  128. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*. 2002 Jun 15;30(12):e57.
  129. Amaro, I. R., Vicente-Villardón, J. L., & Galindo-Villardón, M. P. (2004). Manova Biplot para arreglos de tratamientos con dos factores basado en modelos lineales generales multivariantes. *Interciencia*, 29(1), 26-32.
  130. Vicente-Villardón, J. L. (1992). Una alternativa a las técnicas factoriales clásicas basada en una generalización de los métodos Biplot (Doctoral dissertation, Tesis. Universidad de Salamanca. España. 248 pp.[Links]).
  131. Gower J, Hand D (1996) *Biplots*. Monographs on statistics and applied probability. 54. London: Chapman and Hall., 277 pp.
  132. Vicente Villardón, J.L. (2015). *MULTBILOT: A package for Multivariate Analysis using Biplots*. Departamento de Estadística. Universidad de Salamanca. (<http://biplot.usal.es/ClassicalBiplot/index.html>)
  133. Moghadasi S, Eccles DM, Devilee P, Vreeswijk M, van Asperen CJ. Classification and Clinical Management of Variants of Uncertain Significance in High Penetrance Cancer Predisposition Genes. *Hum Mutat* 2016; 37: 331-336.
  134. Maimone S, Lewis JT. Gardner Syndrome With Breast Desmoid Tumors. *Mayo Clin Proc*. 2022 Oct;97(10):1894-1896.
  135. Seehra J, Patel S, Bryant C. Gardner's Syndrome revisited: a clinical case and overview of the literature. *J Orthod*. 2016 Mar;43(1):59-64.
  136. Bonnet LA, Conway RM, Lim LA. Congenital Hypertrophy of the Retinal Pigment Epithelium (CHRPE) as a Screening Marker for Familial Adenomatous



- 
- Polyposis (FAP): Systematic Literature Review and Screening Recommendations. *Clin Ophthalmol*. 2022 Mar 15;16:765-774.
137. Aretz S, Uhlhaas S, Sun Y, Pagenstecher C, Mangold E, Caspari R, et al. Familial adenomatous polyposis: aberrant splicing due to missense or silent mutations in the APC gene. *Hum Mutat*. 2004;24:370-80.
138. Miyoshi Y, Ando H, Nagase H, Nishisho I, Horii A, Miki Y, et al. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:4452-6
139. Caspari R, Olschwang S, Friedl W, Mandl M, Boisson C, Böker T, et al. Familial adenomatous polyposis: desmoid tumours and lack of ophthalmic lesions (CHRPE) associated with APC mutations beyond codon 1444. *Hum Mol Genet*. 1995;4:337-40
140. Nagase H., Miyoshi Y., Horii A., et. al.: Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1992; 52: pp. 4055-4057.
141. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinimann K, Fidalgo P, Phillips RK, et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germline mutations in MYH. *N Engl J Med*. 2003;348:791-9.
142. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, Eccles D, Ellis A, Evans DG, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet*. 2003;362:39-41.
143. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, Bot BM, Morris JS, Simon IM, Gerster S, Fessler E, De Sousa E Melo F, Missiaglia E, Ramay H, Barras D, Homicsko K, Maru D, Manyam GC, Broom B, Boige V, Perez-Villamil B, Laderas T, Salazar R, Gray JW, Hanahan D, Tabernero J, Bernards R, Friend SH, Laurent-Puig P, Medema JP, Sadanandam A, Wessels L, Delorenzi M, Kopetz S, Vermeulen L, Tejpar S. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015 Nov;21(11):1350-6.
144. Martini G, Dienstmann R, Ros J, Baraibar I, Cuadra-Urteaga JL, Salva F, Ciardiello D, Mulet N, Argiles G, Tabernero J, Elez E. Molecular subtypes and the evolution of treatment management in metastatic colorectal cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2020 Jul 24;12:1758835920936089.



# **ANEXOS**

Anexo 1. Consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas en cáncer hereditario del CAUSA.

## COMPLEJO HOSPITALARIO DE SALAMANCA

Unidad de CONSEJO GÉNÉTICO. SERVICIO DE ONCOLOGÍA MÉDICA

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REALIZACIÓN DE PRUEBAS GENÉTICAS EN CÁNCER HEREDITARIO.

MÉDICO QUE INFORMA: R. VIDAL, DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA MÉDICA

PERSONA A QUIEN INFORMA

**DECLARO** HABER ATENDIDO A LA INFORMACIÓN QUE SE ME HA PROPORCIONADO. HE PODIDO HACER PREGUNTAS Y ACLARAR TODAS LAS DUDAS. HE RECIBIDO SUFICIENTE INFORMACIÓN, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS, LOS BENEFICIOS Y PROBLEMAS QUE PLANTEA EL ESTUDIO GENÉTICO DEL CÁNCER.

COMPRENDO QUE MI PARTICIPACIÓN ES VOLUNTARIA.

**DOY CONSENTIMIENTO** AL EQUIPO MÉDICO DEL HOSPITAL PARA UTILIZAR ESTAS MUESTRAS PARA EL PROCESO DIAGNÓSTICO, EN EL PROPIO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA, Y/O EN CENTROS DESIGNADOS POR ÉSTE, SIEMPRE DE ACUERDO CON LAS REGULACIONES Y NORMAS ÉTICAS Y LEGALES VIGENTES.

SI

NO

**DOY CONSENTIMIENTO** PARA EL ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS, PARA POSIBLES INVESTIGACIONES FUTURAS SOBRE LA ENFERMEDAD GENÉTICA, SIEMPRE DE ACUERDO CON LAS REGULACIONES Y NORMAS ÉTICAS Y LEGALES VIGENTES.

SI

NO

SE ME HA INFORMADO Y HE COMPRENDIDO QUE PUEDO RETIRARME DEL ESTUDIO:

CUANDO QUIERA  
SIN TENER QUE DAR EXPLICACIONES  
SIN QUE ESTO REPERCUTA EN MI ATENCIÓN MÉDICA

SE ME HA INFORMADO DE QUE TENGO DERECHO A DECIDIR SI QUIERO SABER O NO EL RESULTADO DE LAS PRUEBAS REALIZADAS Y TENGO DERECHO A CAMBIAR DE OPINIÓN EN EL FUTURO.

**ACTUALMENTE:**

- SI DESEO CONOCER EL RESULTADO EN RELACIÓN A LA PATOLOGÍA DE ESTUDIO  
 NO DESEO CONOCER EL RESULTADO EN RELACIÓN A LA PATOLOGÍA DE ESTUDIO
- SI DESEO CONOCER EL RESULTADO EN RELACIÓN A OTRAS PATOLOGÍAS  
 NO DESEO CONOCER EL RESULTADO EN RELACIÓN A OTRAS PATOLOGÍAS.

Salamanca a        de        de 2022

Firma del participante -----

Salamanca a        de        de 2022

Firma del médico -----

**AUTORIZO** para que las personas abajo indicadas puedan ser informadas sobre los resultados y las implicaciones del estudio.

Nombre:

DNI:

Fecha:

Teléfono:

**REVOCACIÓN:** en el ejercicio del derecho que tengo de anular el consentimiento prestado, manifiesto mi voluntad de revocarlo y solicito la destrucción de las muestras de sangre obtenidas y de la información que haya derivado de las mismas.

Nombre:

Firma

Fecha

Anexo 2. Experiencia clínica de una unidad de consejo genético: Análisis de familias con sospecha de síndrome de poliposis hereditaria. Póster destacado - Congreso SEOM 2021.

El asesoramiento genético y el uso de nuevas plataformas genómicas son clave para poder realizar un diagnóstico más preciso de estos pacientes.



## Experiencia Clínica de una Unidad de Consejo Genético: Análisis de Familias con Sospecha de Síndrome de Poliposis Hereditario



### 1 Introducción

Los síndromes de poliposis familiar son entidades poco frecuentes y heterogéneas, siendo la Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF) el paradigma del cáncer colorectal hereditario, con una penetrancia del 100%, originada por mutaciones en el gen APC (5q21) con patrón de herencia autosómico dominante. Se han descrito formas atenuadas secundarias, principalmente, a mutaciones en otras regiones de APC y a mutaciones bialélicas del gen MYH.

### 2 Objetivo

El objetivo de este estudio es analizar la frecuencia de poliposis con diagnóstico genético en personas con sospecha clínica estudiadas en la Unidad de Consejo Genético del Hospital Universitario de Salamanca.

### 3 Métodos

Estudio retrospectivo, de carácter descriptivo de una cohorte de 221 pacientes con sospecha de síndrome polipósico hereditario estudiados en la Unidad de Consejo Genético del Hospital Universitario de Salamanca entre los años 2006 y 2021.

### Conclusiones

Solo el 9% de los pacientes con sospecha de síndrome de poliposis familiar presentaban mutación patogénica en los genes APC y MYH. El asesoramiento genético, así como el análisis clínico-molecular y el uso de nuevas plataformas genómicas que analicen otros genes implicados en las poliposis hereditarias, son clave para poder realizar un diagnóstico más preciso de estos pacientes.

### 5

### Agradecimientos

Al Dr. Juan Jesús Cruz, por su inmensa calidad asistencial, docente y, sobre todo, humana.

### 7 Referencias

1. Valle L. Recent Discoveries in the Genetics of Familial Colorectal Cancer and Polyposis. Clin Gastroenterol Hepatol 2017; 15: 809-819.
2. Zhang L, Shay JW. Multiple roles of APC and its therapeutic implications in colorectal cancer. J Natl Cancer Inst 2017; 109(8). doi: 10.1093/jnci/djw332.
3. alseth-Palmer BA. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. Hered Cancer Clin Pract 2017; 15:5. doi: 10.1186/s13053-017-0065-x.

### 8 Información de contacto

email: figuero44@gmail.com  
figueroa@saludcastillayleon.es

### 4

**Autores:** L. Figueroa<sup>1,2</sup>, A. Olivares<sup>1,2</sup>, P. García<sup>2</sup>, J. Pérez<sup>2</sup>, E. Sánchez<sup>2</sup>, T. Martín<sup>1,2</sup>, R. Seijas<sup>1,2</sup>, R. González<sup>2</sup>, E. Escalera<sup>1,2</sup>, J. Claros<sup>1,2</sup>, A. López<sup>1,2</sup>, E. Terán<sup>1,2</sup>, B. Barrios<sup>1,2</sup>, JJ. Cruz<sup>1,2</sup>, R. Vidal<sup>1,2</sup>

1 Servicio de Oncología médica. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca  
2 Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

### Resultados

Se incluyeron 221 pacientes, 134 (60%) hombres y 87 (40%) mujeres. Todos los pacientes presentaban criterios de riesgo para descartar síndrome polipósico según las guías de la NCCN (> 10 pólipos adenomatosos ó >2 pólipos hamartomatosos ó >5 pólipos serrados en colon proximal ó >1 familiar afecto de poliposis). A todos los pacientes se les realizó estudio en línea germinal de los genes APC y MYH. En 19 pacientes se objetivó una mutación patogénica: 11 (5%) pacientes presentaban mutación patogénica en el gen APC y 8 (3.6%) presentaban mutación en el gen MYH. En 27 (12.2%) pacientes se halló una variante de significado desconocido. La variante patogénica c.494 A>G p.165 Tyr>Cys del gen MYH es la que más frecuentemente se observa, apareciendo en 3 familias no emparentadas.

Tabla 1. Características clínico-moleculares de los 19 pacientes con mutación patogénica en los genes APC y MYH.

Sexo	Nº Pólipos + CRC + Antecedentes Familiares	Genes Estudiados	Resultado
M	Pólipos (55 años). Hermana Ca. Colon (50 años).	APC/MYH	MYH: 1057insC5175TSP APC: Mutación patogénica en el exón 15.3 (c.2985 C>A p.995 Cys>TGP).
F	No hay dirbol.	APC / MYH	MYH: Negativo.
M	No hay información	APC / SMAD4	Mutación patogénica en el exón 4 del gen SMAD4 c.538C>T p.Q1805TGP
M	ADC recto (25 años)	APC	Mutación patogénica en el exón 15 del gen APC c.2127_2128delCC (exón 15 de APC
F	> 100 pólipos. Otitomas en mama. Gardner (14 años). Abuela materna Ca. Epidermoide (79 años).	APC y MYH	Mutación patogénica en el exón 15 del gen APC c.4721_4722delT/p.11574fsX. MYH: Negativo.
M	Poliposis (18 años). Hermana con Poliposis (22 años). Madre con Ca. Colon (46 años). Tío paterno con Ca. Colon (49 años). Tío materno con poliposis. Tía materna con poliposis. Primo con poliposis (41 años). Abuelo materno con Ca. Colon (62 años).	APC y MYH	Mutación patogénica en el exón 15 del gen APC c.3782_3784delTT (1309). MYH: negativo.
M	Poliposis (55 años). Hermano con poliposis (45 años). Padre CCR (73 años). Hermano del abuelo paterno 12 de Ca. Colon.	APC y MYH	Mutación patogénica en el exón 4 del gen APC c.496insA/p.1595TGP. MYH: Negativo.
F	Poliposis múltiple (>100 pólipos) + ADC en ciego (52 años). Hermana con poliposis múltiple (50 años). Hermano con 2-3 pólipos (43 años). Tío materno con poliposis. Tía materna con poliposis + Ca. Colon.	APC y MYH	MYH: Mutación homocigota patogénica en el exón 13 (c.1227_1228dupGG/p.Glu410GlyfsTer43). APC: Negativo.
M	PAF (40 años). Abuela materna Ca. Colon (76 años).	APC y MYH	APC: Mutación patogénica en el exón 15 c.3183_3187delACAAA/p.Gln1062Ter. MYH: Negativo.
F	Poliposis (46 años). Hermano con pólipos (46 años). Madre con Ca. Colon (68 años).	APC y MYH	APC: c.1957A>C (exón 13). MYH: Negativo.
F	Ca. Colon a los 54 años. Poliposis atenuada (27 pólipos). Hermana con 4 pólipos. Hermano con 3 pólipos. Madre con LNH (64 años). Hermana con cCa. mama uterino (No pólipos).	APC y MYH	La mutación c.422+1G>A (exón 3) presente en el gen APC. MYH: negativo.
F	Pólipos (59 años). Hermana con pólipos (61 años).	APC y MYH	APC: Negativo. MYH: c.1145 G>A/p.G382D en homocigosis (exón 13).
M	ADC colon (febrero de 2016)+ Pólipos vellosos múltiples. Hermano con Ca. Vejiga.	APC y MYH	APC: Negativo. MYH: Mutación patogénica c.1187G>A/p.Gly396Asp (homocigosis) (exón 13).
F	Más de 12 pólipos (68 años). Hermana con Ca. Colon (58 años).	MYH	APC: Mutación patogénica en exón 15 (c.7927_7928insT/p.10264A>GfsTer18). MYH: Negativo.
F	Poliposis (> 2 y <15 pólipos). Hermano con Ca. Colon (57 años y 60 años). Hermano con Ca. Colon. Padre con Ca. Páncreas (77 años).	MYH	MYH: c.538 A>G/p.179Cys en heterocigosis exón 7 y c.1147delC/p.Ala385PfsTer23 en heterocigosis exón 12). Se han detectado dos mutaciones que justifican el desarrollo de neoplasia en colon: c.494A>G/p.165Y>C (heterocigosis) (exón 7) y c.1103_1104delCC/p.A368fsX (heterocigosis) (exón 12).
M	Ca. colon (57 años) + poliposis. Hermana pólipos. Hermano pólipos. Padre Ca. Páncreas (77 años).	MYH	APC: Mutación patogénica en el exón 15 c.3340C>T/p.(Arg1114Ter). MYH: Negativo.
F	Ca. Colon (25 años). Abuela paterna Ca. Colon (54 años). Abuelo paterno Ca. Pulmón (>70 años).	APC MYH	c.494A>G/p.165Y>Cys (exón 7) se ha detectado en heterocigosis.
M	Ca. Colon. Hermano con Ca. Colon (<50 años). Hermana con pólipos = 3 y <= 10. Padre con Ca. Páncreas (77 años).	MYH	c.1103_1104delC/p.A638fsX (exón 12) se ha detectado en heterocigosis.
M	Ca colon + 17 pólipos	MYH	Mutación patogénica en el exón 7 del gen MYH: c.494 A>G p.165 Tyr>Cys (heterocigosis).

