



ESCUELA DE DOCTORADO  
INTERNACIONAL DE LA USC

Soledad  
Cameselle García

Tesis doctoral

Uso de proteómica para la  
determinación de biomarcadores  
en cáncer colorrectal precoz

Santiago de Compostela, 2025





ESCOLA DE DOUTORAMENTO  
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

**USO DE PROTEÓMICA PARA  
LA DETERMINACIÓN DE  
BIOMARCADORES EN CÁNCER  
COLORRECTAL PRECOZ**

Autora:

Soledad Cameselle García

Directores:

Dra. Susana Belen Bravo López

Dr. Jesús García Mata

Dr. Ihab Abdulkader Nallib

**PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN INVESTIGACIÓN MEDICINA MOLECULAR**

SANTIAGO DE COMPOSTELA  
2025







## DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

La doctoranda **Soledad Cameselle García**

Declara no tener ningún conflicto de interés en relación con su tesis doctoral titulada “**Uso de proteómica para la determinación de biomarcadores en de cáncer colorrectal precoz**”

En Santiago de Compostela, 4 de Marzo de 2025



## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no habría sido posible sin la inestimable ayuda de mis directores la Dra. Susana Belén Bravo López, el Dr. Ihab Abdulkader Nallib y el Dr. Jesús García Mata.

La Dra. Susana Bravo ha sido fundamental de este trabajo. Gracias por ser mi guía en un campo desconocido y por su disponibilidad absoluta en todo este tiempo.

Al Dr. Ihab Abdulkader le agradezco su gran ayuda en el desarrollo de esta tesis. Gracias por su trabajo diario que permite mejorar la asistencia de multitud de pacientes en nuestra comunidad.

Al Dr. Jesús García Mata querría agradecerle su apoyo incondicional desde el día que di mis primeros pasos en la oncología. Gracias por aportar siempre tranquilidad y cariño en todo lo que desarrollamos.

A la Dra. Mercedes Salgado Fernández y la Dra. Ana Fernández Montes por la ilusión que derrocháis en vuestro trabajo y que me habéis transmitido desde el primer día. Merce y Ana son el motivo y la causa de que esta tesis sea sobre cáncer de colon. Gracias por impulsarme y apoyarme siempre.

Al Profesor Tomás García-Caballero por su apoyo desinteresado y su entusiasmo contagioso desde mis tiempos en la Facultad.

Al Profesor Francisco Gude, por hacer sencillas las ecuaciones más complejas, asesorando el análisis estadístico sin el que esta tesis no sería posible.

A la Dra. Carmen Penín del Servicio de Anatomía Patológica del CHUO y al Dr. Rodríguez López del Hospital del Barco de Valdeorras, por su disponibilidad para facilitarnos las muestras que hicieron posible este estudio.

A Magalí Piso Neira y Ángel Vázquez Boquete del CHUS, por su ayuda con las técnicas del laboratorio.

A mis compañeros del Servicio de Oncología Médica del CHUO con los que he aprendido y disfrutado de cada momento trabajando a su lado. En especial, al Dr. Jose Luis Fírvida y a la Dra. Karmele Areses, por acogerme y enseñarme. No puedo estar más que agradecida con vosotros por hacerme un hueco en vuestro equipo.

A mis padres, vosotros sois mis mentores. Sois ejemplo de motivación y constancia. Todo lo que hago y soy es gracias a vosotros.

A Dani, él ya sabe porqué.

A mi familia, a los que ya no están porque la enfermedad se los llevó demasiado pronto. Abuelo Manuel y Mari, vosotros estáis en cada uno de mis pasos en esta profesión.

Al comité científico de la IV Jornada de Investigación Biomédica Ourense del Área Sanitaria de Ourense por apostar con su premio por este proyecto y potenciar la investigación en nuestra Área Sanitaria.

A los pacientes, que me impulsan cada día a ser mejor. A los servicios públicos, que desde mis primeros años me han dado la educación y formación necesaria para llegar hasta aquí.

A todos, gracias.

*La ilusión no se come- dijo ella. No  
se come, pero alimenta - replicó el  
coronel.*

*Gabriel García Márquez*



# Resumen

---



**RESUMEN:**

**USO DE PROTEÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN  
DE BIOMARCADORES EN CÁNCER  
COLORRECTAL PRECOZ**

El cáncer colorrectal (CCR) es el cuarto más frecuente a nivel mundial y la tercera causa de muerte relacionada con cáncer. En las últimas décadas su incidencia está en aumento, aunque acompañada de un descenso de la mortalidad. Este descenso en la mortalidad se debe a la implementación de los programas de cribado, la mejora en los tratamientos antineoplásicos, el desarrollo de biomarcadores y a las terapias dirigidas.

El 80% de los pacientes con cáncer de colon (CC) se diagnostican en estadios localizados o localmente avanzados (estadios I, II y III) donde la cirugía es el tratamiento de elección. A pesar de los avances en el conocimiento de la biología del cáncer y del CC específicamente, la supervivencia a los 5 años tras la cirugía de los pacientes con CC en estadios II y III se sitúa en torno al 45-83% y la administración de un tratamiento adyuvante tras la cirugía ha demostrado un aumento de la supervivencia de apenas un 8% a los 8 años. La quimioterapia adyuvante ha demostrado una reducción del riesgo de recaída en un 30% en los estadios III, pero su beneficio en estadios más precoces no está tan claro. La indicación de un tratamiento adyuvante en los CC estadio II se basa de manera exclusiva en la presencia de factores de riesgo clínicos como: a) menos de 12 ganglios linfáticos regionales analizados, b) presencia de invasión linfovascular o perineural, c) histología de adenocarcinoma probablemente diferenciado, d) diagnóstico inicial en forma de obstrucción o perforación y/o e) un estadiaje patológico T4. Por ello, es necesario poder seleccionar aquellos pacientes con estadios precoces de la enfermedad que se podrían beneficiar más de un tratamiento adyuvante, así como, determinar también si existe algún marcador predictor de mal pronóstico en pacientes con estadios más avanzados.

Con el fin de realizar un tratamiento más preciso, es necesario poder seleccionar aquellos pacientes con estadios precoces de la enfermedad que se podrían beneficiar más de un tratamiento adyuvante, así como, determinar también si existe algún marcador predictor de mal pronóstico (biomarcadores), más allá de la anatomía patológica y de los factores de riesgo clásicos en los que se apoyan las indicaciones actuales, que pueda ser útil también en pacientes con estadios más avanzados.



En este trabajo se partió de la hipótesis de que el estudio retrospectivo mediante técnicas de proteómica diferencial de muestras de cáncer de colon (CC) incluidas en parafina

de pacientes en distintos estadios, permitirá identificar algún/as proteína/s asociada/s a un curso clínico particularmente agresivo. Esta/s proteína/s podría considerarse un biomarcador para los pacientes con CC en estadio localizado y localmente avanzado que podrían beneficiarse de un tratamiento complementario a la cirugía.

Como objetivo principal se estableció la identificación mediante técnicas de proteómica de un/os biomarcador/es de mal pronóstico que permitan seleccionar pacientes con CC en estadios I, II y III de alto riesgo. Los objetivos secundarios fueron: a) Definir las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía (se consideró recaída a la reaparición de la neoplasia localizada o a distancia en  $\leq 5$  años desde la cirugía); b) Definir las características patológicas de los tumores de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía; c) Determinar las alteraciones moleculares (inestabilidad de microsatélites [MSI], mutaciones de genes *RAS* y del gen *BRAF*) en los tumores de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía; y d) Evaluar mediante proteómica la expresión diferencial de proteínas en función de la lateralidad del CC.

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de una serie de pacientes mayores de 18 años, intervenidos en el Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO) entre 2010 y 2020, que tenían en el momento de la cirugía un diagnóstico de CC en estadios I, II y III y un seguimiento clínico de al menos 60 meses tras el diagnóstico. En una primera fase se evaluaron los factores clínicos de riesgo clásicos como el tipo de cirugía, localización del tumor, tamaño tumoral, invasión vascular, invasión perineural, tipo y subtipo tumoral, grado de diferenciación, número de ganglios evaluados, número de ganglios metastásicos, depósitos tumorales, metástasis a distancia, obstrucción o perforación al diagnóstico, estado de los márgenes quirúrgicos, estadio tumoral, si ha recibido o no tratamiento complementario, así como los niveles séricos prequirúrgicos de antígeno carcinoembrionario (CEA) en el momento del diagnóstico. En los tumores de los pacientes se investigó la expresión inmunohistoquímica de las proteínas de genes reparadores del apareamiento (MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6), la proteína p53 y de los factores de transcripción CDX2 y SATB2. También se investigó el estado mutacional de los genes *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* y el promotor de *TERT*. En una segunda fase se realizó un análisis de proteómica diferencial, tanto cuantitativa (SWATH-MS) como cualitativa (DDA), para evaluar el riesgo de recaída en pacientes con CC localizado. Para analizar el impacto en la supervivencia se compararon estadísticamente las muestras de tumores de pacientes intervenidos de un CC localizado, libres de enfermedad a los 5 años, frente a las muestras de pacientes que habían presentado recaída durante los 5 primeros años tras la cirugía.

Al evaluar los resultados en relación con los factores clínicos se evidenció que la realización de una cirugía urgente, el debut del tumor como una obstrucción o perforación y la presencia de invasión linfovascular o perineural se asociaron significativamente a una menor supervivencia, confirmándose como factores clínicos de mal pronóstico. De acuerdo con la literatura, también la recaída a nivel hepático y peritoneal implicó un peor pronóstico

en nuestra serie frente a la recaída pulmonar o ganglionar exclusiva. Aunque el estudio tiene algunas limitaciones relativas como su carácter retrospectivo y el número de casos, la concordancia de los datos clínico-patológicos de nuestra serie con los datos de la literatura avaló la representatividad para el estudio proteómico.

La evaluación del CEA sérico, la expresión inmunohistoquímica de p53, los marcadores de diferenciación CDX2 y SATB2, así como el índice de proliferación (Ki-67) no permitió discriminar entre los grupos de pacientes con y sin recaída. Tampoco la presencia de mutaciones en *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* y *TERT* evidenció implicaciones pronósticas.

Por el contrario, el análisis proteómico cuantitativo ha identificado como posibles biomarcadores de riesgo de recaída el aumento de la expresión de las proteínas integrina B1, FBN1, CACYBP, TUFM, SLC25A5 y la disminución de las proteínas EEF1D, EEF1G, A2M, APOH, ATP5F1B, CTGS, CYCS, DDOST, EEF2, FAU, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, H4C6, SERPING1, XRCC5 en el tumor primario.

Además, se ha detectado que existe una expresión diferencial de las proteínas en función de la localización anatómica del tumor en el colon. Las proteínas EEF1D, EEF1G, RPL14, TKT, LDHA, GSTO1, ENO1, EIF4A1, A2M, APOH, CTSG, DDOST, EEF2, FAU, HSPA5, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, KNG1, ACAA2; MPO, AZU1, COPA, COPB1, H4C6, XRCC5, DHX9, ALDH2, CRB1, SERPINC1, SERPING1, SLC25A5 se encontraron más expresadas en los tumores localizados en el lado derecho, mientras que las proteínas FBN1, ATP5F1B, EIF2S1, TUFM, ALDOC, HMGCS2, PARP1, CACYBP se encontraron más expresadas en los tumores localizados en el lado izquierdo.

La evaluación de los datos obtenidos teniendo en cuenta tanto la recaída como la localización del tumor, ha permitido identificar una serie de proteínas que podrían considerarse marcadores de riesgo de manera exclusiva en los tumores localizados en el lado derecho y en el izquierdo. La infraexpresión de RACK1, RPL14, GSTO1, HMGCS2, ACAA2, ACADVL, DHX9, ALDH2, CRB1, KNG1, AKR1A1, HPX, SERPINC1 se postula como posibles biomarcadores de riesgo de recaída en los tumores localizados en el lado derecho, mientras que la infraexpresión de COPA sería un posible biomarcador de riesgo en los tumores localizados en el lado izquierdo.

El análisis cualitativo identificó 48 proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Sin Recaída* y 302 proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Recaída*. Se han identificado como posibles biomarcadores de mal pronóstico la presencia de las proteínas EIF3B, EIF3D, EIF3F, EIF4G1, EIF4H, EIF5, COX5B, COX6B1, NDUFA4, LARS1, EPRS1, SF3B1, SNRPA1, GBE1, UGP2, GYS1, SAR1A, PDCD6, TRRAP, RUVBL1/2, LAMA5, ITGA6, NT5, HK3, C1S, CES2, CST1, CST2, PLG, S100A10, SSRP1, ECHS1, MCCC2, MMP9, SUPT6H, THBS2, S100A14, GPX2, GPX3, PPP2R1A, RPL32, TST, CES1, AP2M1, PSMC1, PSMD11, HEXB, PSMB4, DSG3, PREP, APEH. También postulamos como posibles biomarcadores de buen pronóstico la detección de las

proteínas M3K9, AKR7A, SLPI, GSTM1, Galectina-7, ABAT, LSAMP, RTN1, LYPD8, CADM2, FBXO30, GGH, ATP6V0A1, CYRIB, DUX4, NDRG2.

Puede concluirse que el estudio clínico-patológico, inmunohistoquímico y molecular de los tumores de los pacientes con CC confirmó la perforación intestinal, la obstrucción, la invasión linfo-vascular y la invasión perineural como marcadores independientes de peor pronóstico, validando la representatividad de esta serie. Además, el análisis proteómico evidenció biomarcadores de riesgo de recaída tanto independientes como dependientes de la lateralidad del tumor, así como biomarcadores de buen pronóstico.

Los resultados del presente estudio permiten ampliar el conocimiento sobre los mecanismos implicados en los procesos de diseminación del cáncer de colon, mejorar la selección de los pacientes candidatos a tratamiento adyuvante tras la cirugía, así como establecer nuevas estrategias terapéuticas.

Palabras clave: cáncer de colon, proteómica, biomarcadores.

**RESUMO:**

**USO DA PROTEÓMICA PARA A DETERMINACIÓN  
DE BIOMARCADORES EN CANCRO  
COLORRECTAL PRECOZ**

O cancro colorrectal (CCR) é o cuarto cancro máis común no mundo e a terceira causa de morte relacionada co cancro. Nas últimas décadas, a súa incidencia foi aumentando, aínda que acompañada dunha diminución da mortalidade. Este descenso da mortalidade débese á implantación de programas de cribado, mellora dos tratamentos antineoplásicos, desenvolvemento de biomarcadores e terapias dirixidas.

O 80% dos pacientes con cancro de colon (CC) son diagnosticados en estadios localizados ou localmente avanzados (estadios I, II e III) onde a cirurxía é o tratamento de elección. A pesar dos avances na nosa comprensión da bioloxía do cancro, e especificamente do CC, a taxa de supervivencia a 5 anos despois da cirurxía para pacientes con CC en estadio II e III é de arredor do 45-83%, e demostrouse que a terapia adxuvante despois da cirurxía aumenta a supervivencia só nun 8% aos 8 anos. Demostrouse que a quimioterapia adxuvante reduce o risco de recaída nun 30% no estadio III, pero o seu beneficio en estadios anteriores é menos claro. A indicación de tratamento adxuvante no CC estadio II baséase exclusivamente na presenza de factores de risco clínico como: a) menos de 12 ganglios rexionais analizados, b) presenza de invasión linfovascular ou perineural, c) histoloxía de adenocarcinoma pouco diferenciado, d) diagnóstico inicial en forma de obstrución ou perforación e/ou estadificación patolóxica e/ou T44. Polo tanto, é necesario poder seleccionar aqueles pacientes con estadios iniciais da enfermidade que máis poderían beneficiarse do tratamento adxuvante, así como determinar se existen marcadores predictivos de mal pronóstico en pacientes con estadios máis avanzados.

Para ofrecer un tratamento máis preciso é necesario poder seleccionar aqueles pacientes con estadios precoces da enfermidade que máis poderían beneficiarse do tratamento adxuvante, así como determinar se existen marcadores predictivos de mal pronóstico (biomarcadores), máis aló da anatomía patolóxica e dos clásicos factores de risco nos que se basean as indicacións actuais, que tamén poderían ser útiles en pacientes con estadios máis avanzados.

Este traballo baseouse na hipótese de que o estudo retrospectivo mediante técnicas proteómicas diferenciais de mostras de cancro de colon (CC) incluídas en parafina procedentes de pacientes en diferentes estadios, permitirá a identificación dalgunha/s proteína/ asociada/s a un curso clínico especialmente agresivo. Esta/s proteína/s poderían

considerarse un biomarcador para pacientes con CC localizado e localmente avanzado que poderían beneficiarse dun tratamento complementario á cirurxía.

O obxectivo principal foi identificar, mediante técnicas proteómicas, un ou varios biomarcadores de mal pronóstico que permitan seleccionar pacientes con CC nos estadios I, II e III alto risco. Os obxectivos secundarios foron: a) Definir as características clínicas dos pacientes incluídos no estudo que se asocian ou non con recaída en  $\leq 5$  anos desde a cirurxía (considerouse recaída a reaparición da neoplasia localizada ou a distancia en  $\leq 5$  anos desde a cirurxía); b) Definir as características patolóxicas dos tumores dos pacientes incluídos no estudo que se asocian ou non con recaídas en  $\leq 5$  anos despois da cirurxía; c) Determinar as alteracións moleculares (inestabilidade microsatélite [MSI], mutacións do xene RAS e do xene BRAF) nos tumores dos pacientes incluídos no estudo que se asocian ou non con recaída en  $\leq 5$  anos desde a cirurxía; e d) Avaliar mediante proteómica a expresión diferencial das proteínas en función da lateralidade do CC.

Realizouse un estudo descritivo retrospectivo sobre unha serie de pacientes maiores de 18 anos, operados no Complexo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO) entre os anos 2010 e 2020, que tiñan un diagnóstico de CC en estadios I, II e III no momento da intervención e un seguimento clínico de polo menos 60 meses despois do diagnóstico. Nunha primeira fase, avaliáronse os factores de risco clínicos clásicos, como o tipo de cirurxía, localización do tumor, tamaño do tumor, invasión vascular, invasión perineural, tipo e subtipo de tumor, grao de diferenciación, número de ganglios avaliados, número de ganglios metastásicos, depósitos tumorais, metástases distantes, obstrución ou perforación no diagnóstico, estado dos marxes cirúrxico, estadio tumoral, se recibiu ou non un tratamento complementario, así como os niveis séricos precirúrxicos de antígeno carcinoembrionario (CEA) no momento do diagnóstico. Nos tumores dos pacientes, investigouse a expresión inmunohistoquímica das proteínas de xenes de reparación do apareamento (MLH1, PMS2, MSH2 e MSH6), a proteína p53 e os factores de transcrición CDX2 e SATB2. Tamén se investigou o estado mutacional dos xenes BRAF, NRAS, KRAS e do promotor TERT. Nunha segunda fase, realizouse unha análise proteómica diferencial, tanto cuantitativa (SWATH-MS) como cualitativa (DDA), para avaliar o risco de recaída en pacientes con CC localizada. Para analizar o impacto na supervivencia, comparáronse estatisticamente mostras de tumores de pacientes que se someteron a cirurxía por CC localizada e que estaban libres de enfermidade aos 5 anos con mostras de pacientes que recaían durante os primeiros 5 anos despois da cirurxía.

Á hora de avaliar os resultados en relación cos factores clínicos, foi evidente que a realización de cirurxía urxente, a aparición do tumor como obstrución ou perforación e a presenza de invasión linfovascular ou perineural se asociaron significativamente cunha menor supervivencia, confirmándo istos como factores clínicos de mal pronóstico. Segundo a bibliografía, as recaídas hepáticas e peritoneais tamén provocaron un peor pronóstico na nosa serie en comparación coa recaída pulmonar ou dos ganglios linfáticos só. Aínda que o estudo presenta algunhas limitacións relativas como o seu carácter retrospectivo e o número

de casos, a concordancia dos datos clínico-patolóxicos da nosa serie cos datos da literatura avalou a súa representatividade para o estudo proteómico.

A avaliación do CEA sérico, a expresión inmunohistoquímica de p53, os marcadores de diferenciación CDX2 e SATB2, así como o índice de proliferación (Ki-67) non permitiu discriminar entre os grupos de pacientes con e sen recaída. A presenza de mutacións en BRAF, NRAS, KRAS e TERT tampouco mostrou implicacións prognósticas.

Pola contra, a análise proteómica cuantitativa identificou como biomarcadores potenciais de risco de recaída o aumento da expresión das proteínas integrina B1, FBN1, CACYBP, TUFM, SLC25A5 e a diminución das proteínas EEF1D, EEF1G, A2M, APOH, ATP5F1B, CTGS, CYCS, DDOST, KEF25A1, EEFSPPAHS, DDOST, EEFSPPAHS1, H4C6, SERPING1, XRCC5 no tumor primario.

Ademais, detectouse unha expresión diferencial de proteínas dependendo da localización anatómica do tumor no colon. As proteínas EEF1D, EEF1G, RPL14, TKT, LDHA, GSTO1, ENO1, EIF4A1, A2M, APOH, CTSG, DDOST, EEF2, FAU, HSPA5, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, KNG1, ACAA2; Atopouse que MPO, AZU1, COPA, COPB1, H4C6, XRCC5, DHX9, ALDH2, CRB1, SERPINC1, SERPING1, SLC25A5 estaban máis expresados en tumores situados no lado dereito, mentres que FBN1, ATP5F1B, EIF2S1, TUMG, ALDCY, PARPCS atopáronse máis expresadas en tumores situados no lado esquerdo.

A avaliación dos datos obtidos, tendo en conta tanto a recaída como a localización do tumor, permitiu identificar unha serie de proteínas que poderían considerarse marcadores de risco exclusivamente en tumores localizados no lado dereito e esquerdo. A subexpressión de RACK1, RPL14, GSTO1, HMGCS2, ACAA2, ACADVL, DHX9, ALDH2, CRB1, KNG1, AKR1A1, HPX, SERPINC1 postulase como posibles biomarcadores de risco de recaída en tumores situados no lado dereito, mentres que a subexpressión de COPA sería un posible biomarcador de risco de tumores no lado esquerdo.

A análise cualitativa identificou 48 proteínas expresadas exclusivamente no grupo Sen Recaída e 302 proteínas expresadas exclusivamente no grupo Recaída. A presenza das proteínas EIF3B, EIF3D, EIF3F, EIF4G1, EIF4H, EIF5, COX5B, COX6B1, NDUFA4, LARS1, EPRS1, SF3B1, SNRPA1, GBE1, UGP2 identificouse como posibles biomarcadores de mal prognóstico. GYS1, SAR1A, PDCD6, TRRAP, RUVBL1/2, LAMA5, ITGA6, NT5, HK3, C1S, CES2, CST1, CST2, PLG, S100A10, SSRP1, ECHS1, MCCC2, MMP9, SUPT6H, THBSAX2, SGP10X2, SGP10X3 PPP2R1A, RPL32, TST, CES1, AP2M1, PSMC1, PSMD11, HEXB, PSMB4, DSG3, PREP, APEH. Tamén propoñemos como posibles biomarcadores de bo prognóstico a detección das proteínas M3K9, AKR7A, SLPI, GSTM1, Galectina-7, ABAT, LSAMP, RTN1, LYPD8, CADM2, FBXO30, GGH, ATP6V0A1, CYRIB, DUX4, NDRG2.

Pódese concluír que o estudo clinicopatolóxico, inmunohistoquímico e molecular dos tumores de pacientes con CC confirmou a perforación intestinal, a obstrución, a invasión linfovascular e a invasión perineural como marcadores independentes de peor pronóstico, validando a representatividade desta serie. Ademais, a análise proteómica revelou biomarcadores de risco de recaída, tanto independentes como dependentes da lateralidade do tumor, así como biomarcadores de bo pronóstico.

Os resultados deste estudo permítenos ampliar a nosa comprensión dos mecanismos implicados na diseminación do cancro de colon, mellorar a selección de pacientes aptos para o tratamento adyuvante despois da cirurxía e establecer novas estratexias terapéuticas.

Palabras clave: cancro de colon, proteómica, biomarcadores.

**ABSTRACT:**

**USE OF PROTEOMICS FOR THE DETERMINATION OF  
BIOMARKERS IN EARLY COLORECTAL CANCER**

Colorectal cancer (CRC) is the fourth most common cancer worldwide and the third leading cause of cancer-related death. In recent decades, its incidence has increased, although it has been accompanied by a decrease in mortality. This decrease in mortality is due to the implementation of screening programs, improved antineoplastic treatments, the development of biomarkers and targeted therapies.

Eighty percent of patients with colon cancer (CC) are diagnosed at localized or locally advanced stages (stages I, II, and III), where surgery is the treatment of choice. Despite advances in our understanding of cancer biology, and specifically of CC, the 5-year survival rate after surgery for patients with stage II and III CC is around 45%–83%, and adjuvant therapy after surgery has been shown to increase survival by only 8% at 8 years. Adjuvant chemotherapy has been shown to reduce the risk of relapse by 30% in stage III, but its benefit in earlier stages is less clear. The indication for adjuvant treatment in stage II CC is based exclusively on the presence of clinical risk factors such as: a) fewer than 12 regional lymph nodes analyzed, b) presence of lymphovascular or perineural invasion, c) poorly differentiated adenocarcinoma histology, d) initial diagnosis in the form of obstruction or perforation and/or e) a pathological T4 staging. Therefore, it is necessary to be able to select those patients with early stages of the disease who could benefit more from adjuvant treatment, as well as to determine whether there are any predictive markers of poor prognosis in patients with more advanced stages.

In order to provide more precise treatment, it is necessary to be able to select those patients with early stages of the disease who could benefit most from adjuvant treatment, as well as to determine whether there are any predictive markers of poor prognosis (biomarkers), beyond the pathological features and the classic risk factors on which current indications are based, which could also be useful in patients with more advanced stages.

This study hypothesized that retrospective study of paraffin-embedded CC samples from patients at different stages using differential proteomic techniques will identify protein(s) associated with a particularly aggressive clinical course. These proteins could be considered a biomarker for patients with localized and locally advanced CC who might benefit from adjunctive treatment to surgery.

The primary objective was to identify, using proteomic techniques, one or more poor prognostic biomarkers that would allow the selection of patients with high-risk stages I, II, and III CC. The secondary objectives were: a) To define the clinical characteristics of the patients included in the study that are associated or not with relapse  $\leq$  5 years after surgery (relapse was considered to be the recurrence of localized or distant neoplasia  $\leq$  5 years after

surgery); b) To define the pathological characteristics of the tumors of the patients included in the study that are associated or not with relapse  $\leq 5$  years after surgery; c) To determine the molecular alterations (microsatellite instability [MSI], RAS gene mutations and the BRAF gene) in the tumors of the patients included in the study that are associated or not with relapse  $\leq 5$  years after surgery; and d) Evaluate using proteomics the differential expression of proteins based on the laterality of the CC.

A retrospective descriptive study was conducted in a series of patients over 18 years of age, who underwent surgery at the Ourense University Hospital Complex (CHUO) between 2010 and 2020, who had a diagnosis of stages I, II and III CC at the time of surgery and a clinical follow-up of at least 60 months after diagnosis. In a first phase, classic clinical risk factors were evaluated, such as the type of surgery, tumor location, tumor size, vascular invasion, perineural invasion, tumor type and subtype, degree of differentiation, number of evaluated lymph nodes, number of metastatic lymph nodes, tumor deposits, distant metastases, obstruction or perforation at diagnosis, status of surgical margins, tumor stage, whether or not they had received complementary treatment, as well as presurgical serum levels of carcinoembryonic antigen (CEA) at the time of diagnosis. Immunohistochemical expression of mismatch repair gene proteins (MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6), p53 protein, and the transcription factors CDX2 and SATB2 was investigated in the patients' tumors. The mutational status of BRAF, NRAS, KRAS, and the TERT promoter genes was also investigated. In a second phase, differential proteomics analysis, both quantitative (SWATH-MS) and qualitative (DDA), was performed to assess the risk of relapse in patients with localized CC. To analyze the impact on survival, tumor samples from patients who underwent surgery for localized CC and were disease-free at 5 years were statistically compared with samples from patients who had relapsed during the first 5 years after surgery.

When evaluating the results in relation to clinical factors, it was evident that urgent surgery, tumor onset as obstruction or perforation, and the presence of lymphovascular or perineural invasion were significantly associated with lower survival, confirming them as clinical factors for poor prognosis. According to the literature, liver and peritoneal relapse also implied a worse prognosis in our series compared to pulmonary or lymph node relapse alone. Although the study has some relative limitations, such as its retrospective nature and the number of cases, the concordance of the clinicopathological data of our series with the data in the literature supported its representativeness for the proteomic study.

Evaluation of serum CEA, immunohistochemical expression of p53, the differentiation markers CDX2 and SATB2, and the proliferation index (Ki-67) did not allow discrimination between the groups of patients with and without relapse. Neither did the presence of mutations in BRAF, NRAS, KRAS, and TERT reveal prognostic implications.

In contrast, quantitative proteomic analysis has identified as potential biomarkers of relapse risk the increased expression of integrin B1, FBN1, CACYBP, TUFM, SLC25A5 proteins and the decreased expression of EEF1D, EEF1G, A2M, APOH, ATP5F1B, CTGS,

CYCS, DDOST, EEF2, FAU, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, H4C6, SERPING1, XRCC5 proteins in the primary tumor.

Furthermore, a differential expression of proteins has been detected depending on the anatomical location of the tumor in the colon. The proteins EEF1D, EEF1G, RPL14, TKT, LDHA, GSTO1, ENO1, EIF4A1, A2M, APOH, CTSG, DDOST, EEF2, FAU, HSPA5, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, KNG1, ACAA2; MPO, AZU1, COPA, COPB1, H4C6, XRCC5, DHX9, ALDH2, CRB1, SERPINC1, SERPING1, SLC25A5 were found to be more highly expressed in tumors located on the right side, while the proteins FBN1, ATP5F1B, EIF2S1, TUFM, ALDOC, HMGCS2, PARP1, CACYBP were found to have greater expression in tumors located on the left side.

Evaluation of the data obtained, taking into account both relapse and tumor location, has allowed us to identify a series of proteins that could be considered risk markers exclusively in tumors located on the right and left sides. Underexpression of RACK1, RPL14, GSTO1, HMGCS2, ACAA2, ACADVL, DHX9, ALDH2, CRB1, KNG1, AKR1A1, HPX, and SERPINC1 are postulated as possible biomarkers of relapse risk in tumors located on the right side, while underexpression of COPA would be a possible risk biomarker in tumors located on the left side.

Qualitative analysis identified 48 proteins expressed exclusively in the Non-Relapse group and 302 proteins expressed exclusively in the Relapse group. The presence of the proteins EIF3B, EIF3D, EIF3F, EIF4G1, EIF4H, EIF5, COX5B, COX6B1, NDUFA4, LARS1, EPRS1, SF3B1, SNRPA1, GBE1, UGP2, GYS1, SAR1A, PDCD6, TRRAP, RUVBL1/2, LAMA5, ITGA6, NT5, HK3, C1S, CES2, CST1, CST2, PLG, S100A10, SSRP1, ECHS1, MCCC2, MMP9, SUPT6H, THBS2, S100A14, GPX2, GPX3, PPP2R1A, RPL32, TST, CES1, AP2M1, PSMC1, PSMD11, HEXB, PSMB4, DSG3, PREP and/or APEH were identified as potential biomarkers of poor prognosis. We also propose the detection of the proteins M3K9, AKR7A, SLPI, GSTM1, Galectin-7, ABAT, LSAMP, RTN1, LYPD8, CADM2, FBXO30, GGH, ATP6V0A1, CYRIB, DUX4, NDRG2 as possible biomarkers of good prognosis.

It can be concluded that the clinicopathological, immunohistochemical, and molecular studies of the tumors in patients with CC confirmed intestinal perforation, obstruction, lymphovascular invasion, and perineural invasion as independent markers of worse prognosis, validating the representativeness of this series. Furthermore, proteomic analysis revealed biomarkers of relapse risk, both independent and dependent on tumor laterality, as well as biomarkers of good prognosis.

The results of this study expand our understanding of the mechanisms involved in colon cancer dissemination, improve the selection of patients eligible for adjuvant treatment after surgery, and establish new therapeutic strategies.

Keywords: colon cancer, proteomics, biomarkers.

# Índice

---



<b>ABREVIATURAS &amp; ACRÓNIMOS.....</b>	<b>31</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>35</b>
<b>1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL.....</b>	<b>35</b>
<b>2. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER COLORRECTAL.....</b>	<b>37</b>
2.1. FACTORES DE RIESGO NO HEREDITARIOS.....	37
2.2. FACTORES DE RIESGO HEREDITARIOS.....	38
2.2.1. Cáncer colorrectal hereditario no polipósico.....	38
2.2.2. Cáncer colorrectal hereditario asociado a poliposis.....	40
<b>3. PATOGENIA DEL CÁNCER COLORRECTAL.....</b>	<b>42</b>
<b>4. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA.....</b>	<b>43</b>
4.1. TIPOS HISTOLÓGICOS.....	44
4.1.1. Adenocarcinoma mucinoso:.....	44
4.1.2. Carcinoma con células en anillo de sello:.....	44
4.1.3. Carcinoma medular:.....	44
4.1.4. Adenocarcinoma serrado.....	44
4.1.5. Carcinoma micropapilar:.....	44
4.1.6. Adenocarcinoma adenoma-like:.....	44
4.1.7. Carcinoma adenoescamoso:.....	45
4.1.8. Carcinoma con componente sarcomatoide:.....	45
4.1.9. Carcinoma indiferenciado:.....	45
4.2. GRADO HISTOLÓGICO TUMORAL.....	45
<b>5. CLASIFICACIÓN MOLECULAR.....</b>	<b>46</b>
5.1. CMS1 (INMUNE).....	47
5.2. CMS2 (CANÓNICO).....	47
5.3. CMS3 (METABÓLICO).....	47
5.4. CMS4 (MESENQUIMAL).....	47
<b>6. LATERALIDAD TUMORAL.....</b>	<b>49</b>
<b>7. DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA COLORRECTAL.....</b>	<b>51</b>
7.1. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS:.....	51
<b>8. ESTADIAJE TNM.....</b>	<b>52</b>
<b>9. TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE COLON LOCALIZADO.....</b>	<b>54</b>

9.1. CIRUGÍA.....	54
9.2. TRATAMIENTO NEOADYUVANTE.....	54
9.3. TRATAMIENTO ADYUVANTE .....	55
<b>10. FACTORES DE RIESGO .....</b>	<b>57</b>
<b>11. PROTEÓMICA.....</b>	<b>60</b>
11.1. PROTEÓMICA CLÍNICA Y BIOMARCADORES.....	61
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>67</b>
1. HIPÓTESIS.....	67
2. OBJETIVOS.....	68
2.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	68
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	68
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>71</b>
1. ASPECTOS ÉTICOS .....	71
2. DISEÑO.....	71
3. ÁMBITO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS PACIENTES Y MUESTRAS.....	71
3.1. ÁMBITO DEL ESTUDIO .....	71
3.2. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES .....	71
3.3. DATOS CLÍNICOS .....	72
3.4. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS TUMORALES.....	72
3.5. DATOS ANATOMOPATOLÓGICOS.....	73
4. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO.....	73
5. ANÁLISIS MOLECULAR .....	76
5.1. ESTUDIO DE <i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> Y <i>KRAS</i> .....	76
5.2. ESTUDIO DE <i>TERTP</i> . .....	76
6. ANÁLISIS PROTEÓMICO.....	77
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	78
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>81</b>
1. DATOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS .....	81
1.1. EDAD Y SEXO .....	81
1.2. LOCALIZACIÓN TUMORAL.....	82
1.3. TIPO DE CIRUGÍA .....	84
1.4. ESTADIO PATOLÓGICO.....	85
1.5. FACTORES DE MAL PRONÓSTICO.....	87
1.6. TIPO Y SUBTIPO TUMORAL.....	91

1.7. ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN KI-67 .....	93
1.8. TRATAMIENTO ADYUVANTE .....	95
1.9. TIPO DE RECAÍDA Y LOCALIZACIÓN .....	95
<b>2. DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES .....</b>	<b>96</b>
<b>3. ANÁLISIS DEL IMPACTO EN LA SUPERVIVENCIA.....</b>	<b>103</b>
<b>4. ANÁLISIS PROTEÓMICO .....</b>	<b>110</b>
4.1. ESTUDIO CUANTITATIVO (SWATH-MS <sup>TM</sup> ) DE LAS PROTEÍNAS SIGNIFICATIVAMENTE DESREGULADAS ENTRE LOS GRUPOS <i>RECAÍDA</i> Y <i>SIN</i> <i>RECAÍDA</i> .....	110
4.1.1. Resultados y discusión del análisis de proteínas significativamente sobrexpresadas en el grupo <i>Recaída</i> .....	113
4.1.2. Resultados y discusión del análisis de proteínas significativamente infrapresadas en el grupo <i>Recaída</i> .....	117
4.2. ANÁLISIS CUALITATIVO .....	176
4.2.1. Grupo sin recaída .....	178
4.2.2. Grupo con recaída .....	188
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>221</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>225</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>281</b>
1. DOCUMENTO DE EVALUACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE GALICIA DE PONTEVEDRA-VIGO-OURENSE .....	283
2. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	285
3. PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS.....	291
4. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	297
4.1. TABLAS.....	297
4.2. FIGURAS.....	299



## ABREVIATURAS & ACRÓNIMOS

Adenoca	Adenocarcinoma
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMPK	Protein kinase AMP-activated
<i>APC</i>	APC regulator of WNT signaling pathway
ATP	Adenosina trifosfato
BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
CC	Cáncer de colon
CCL19	C-C motif chemokine ligand 19
CCR	Cáncer colorrectal
CDKN2A	Inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 2 <sup>a</sup>
CDX2	Caudal type homeobox 2
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CES1	Carboxilesterasa 1
CIMP	Island methylator phenotype
CIMP	CpG island methylator phenotype
CIN	Inestabilidad cromosómica
CMS	Consensus Molecular Subtypes
CRP	C-reactive protein
EGFR	Epidermal growth factor receptor
<i>EPCAM</i>	Epithelial cell adhesion molecule
ESMO	European Society for Medical Oncology
FC	Fold Change
FDR	False discovery rate
FFIP	Fijado en formaldehído e incluido en parafina
H&E	Hematoxilina-eosina
IC	Intervalo de confianza
IHQ	Inmunohistoquímica
IL6	Interleukin 6
ILV	Invasión linfovascular
IMC	Índice de masa corporal
IPN	Invasión perineural

<i>KRAS</i>	KRAS proto-oncogene, GTPase
<i>MLH1</i>	MutL homolog 1
MMR	Mismatch repair system
MS	Espectrometría de masas
<i>MSH2</i>	MutS homolog 2
<i>MSH6</i>	MutS homolog 6
MSI	Microsatellite instability
<i>MUTYH</i>	MutY DNA glycosylase
<i>MYC</i>	MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor
NF-KB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NOS	Not otherwise specified
PET-TAC	Tomografía por emisión de positrones- tomografía axial computarizada
<i>PMS2</i>	PMS1 homolog 2, mismatch repair system component
<i>POLD1</i>	DNA polymerase delta 1, catalytic subunit
<i>POLE</i>	DNA polymerase epsilon, catalytic subunit
<i>PROK1</i>	Prokinecticina 1
RMN	Resonancia magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
S100A14	S100 calcium binding protein A14
<i>SATB2</i>	SATB homeobox 2
SCNA	Somatic Copy Number Alterations-Variación en el número de copias del ADN
SG	Supervivencia global
SLE	Supervivencia libre de enfermedad
<i>STAT3</i>	Signal transducer and activator of transcription 3
TC	Tomografía computarizada
<i>TERT</i>	Telomerasa transcriptasa inversa
TGFB	Factor de crecimiento transformante beta
THBS1	Thrombospondin 1
TMB	Tumor mutational burden - carga mutacional tumoral
TNM	Tumor Node Metastasis
TP53	Proteína tumoral 53
VUS	Variante de significado incierto
WT	Wild type-no mutado

# Introducción

---

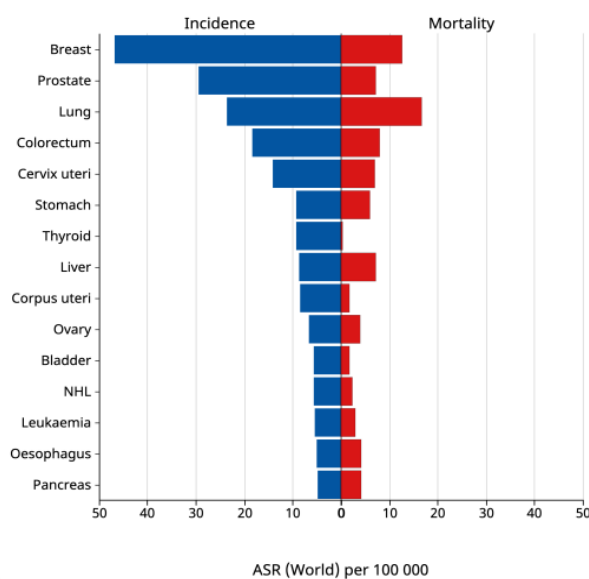


# INTRODUCCIÓN

## 1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL

El cáncer colorrectal (CCR) es el cuarto más frecuente a nivel mundial y la tercera causa de muerte relacionada con cáncer según el último registro publicado por GLOBOCAN (GLOBOCAN, 2022) (Figura 1). En las últimas décadas su incidencia ha ido en aumento, aunque acompañada de un descenso progresivo de la mortalidad (Figura 2) (GLOBOCAN, 2022). Esto se debe a la mayor implementación de los programas de cribado, la mejora de los tratamientos antineoplásicos, así como el desarrollo de biomarcadores y de las terapias dirigidas (Lin et al, 2016; Maida et al, 2024).

Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Incidence and Mortality, Both sexes, in 2022  
Continents  
(Top 15 cancer sites)



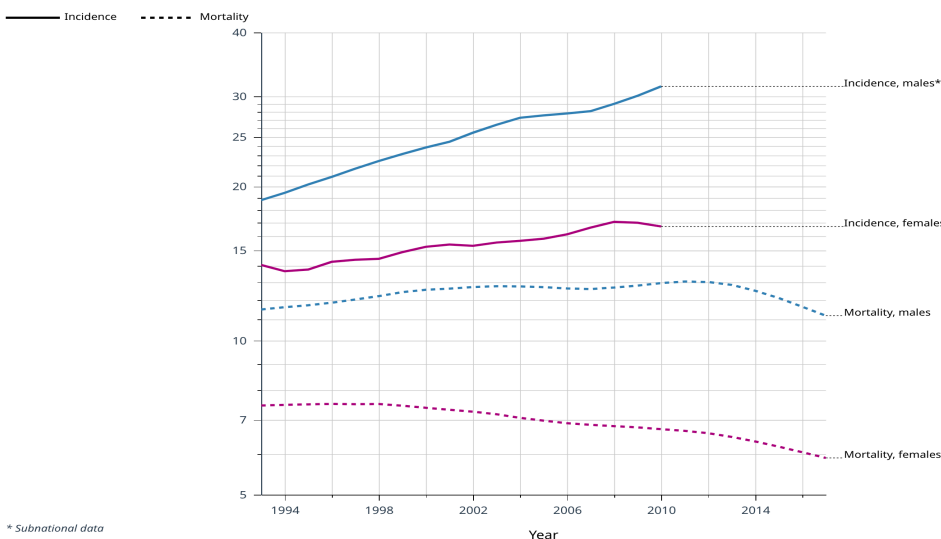
Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>  
Data version : Globocan 2022  
© All Rights Reserved 2024



Figura 1. Incidencia y mortalidad estandarizada por edad de distintos tumores a nivel mundial obtenida de datos de registro de GLOBOCAN del año 2022.

Age-standardized rate (World) per 100 000, incidence and mortality, males and females

Colon  
Spain\*



\* Subnational data  
Rates are shown on a semi-lag scale  
Lines are smoothed by the LOESS regression algorithm (bandwidth: 0.25)  
Cancer Over time | IARC - <https://gco.iarc.who.int> Data version: 1.0 © All Rights Reserved 2024

Figura 2. Evolución de las tasas de incidencia y mortalidad cada 100.000 personas en España desde el año 1993 hasta el año 2022. GLOBOCAN, 2022.

Los datos recientes estiman una supervivencia del CCR a los 5 años en Europa entre el 28,5% y el 57% en hombres y entre el 30,9% y el 60% en mujeres (Torre et al, 2016). En España se diagnostican unos 40.000 nuevos casos de CCR al año y se han documentado unos 11.021 fallecimientos por esta enfermedad en el año 2021, según el Instituto Nacional de Epidemiología (Galceran et al, 2015).

Una reciente publicación de los datos recogidos en el REGAT (Registro Gallego de Tumores) ha analizado la incidencia, mortalidad y supervivencia de los diferentes tumores en Galicia. En el año 2022 el cáncer de colon fue el tercero en incidencia en varones y el segundo en mujeres (Figura 3). Este tipo de cáncer mostró una supervivencia relativa a los 5 años del 66%, incluyendo el cáncer de recto (Figura 4). El 72% de los pacientes diagnosticados de un CCR en el año 2022 tenían más de 65 años y el 57% fueron hombres (REGAT, 2023).

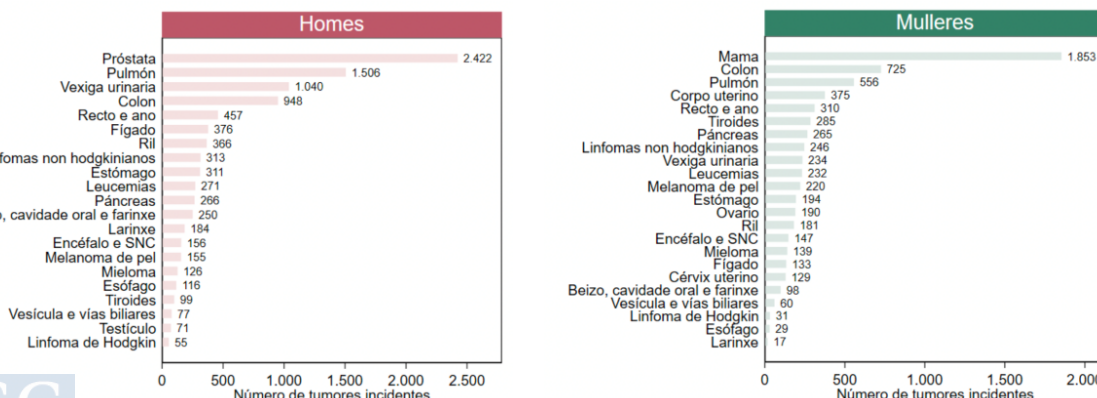
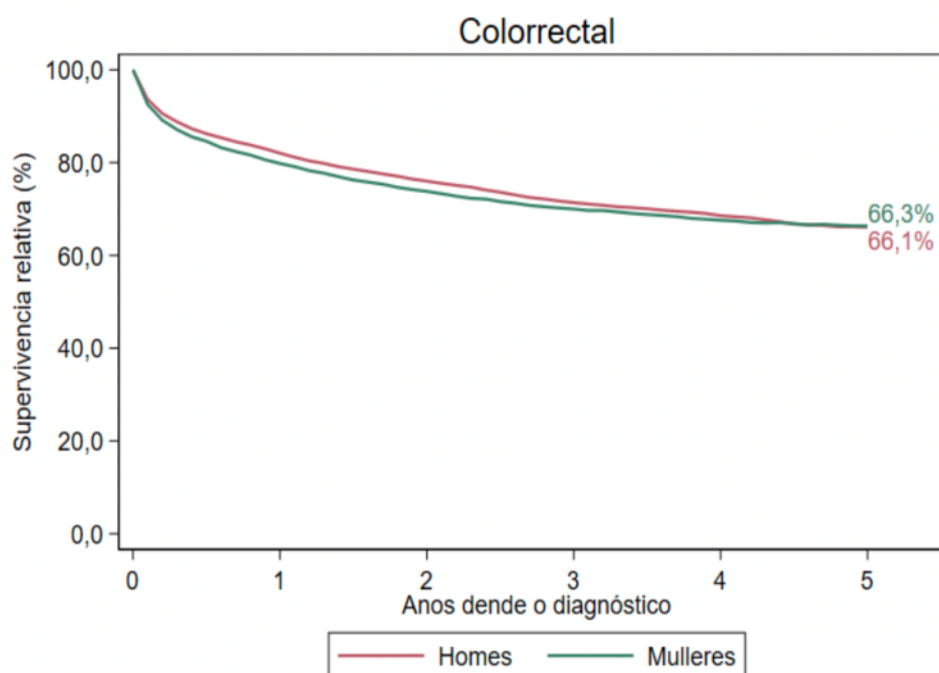


Figura 3. Número de casos incidentes de tumores por tipo tumoral y sexo en Galicia en el año 2022. Elaborado a partir del Registro Gallego de Tumores.



**Figura 4.** Supervivencia relativa (%) de los tumores colorrectales por sexo en Galicia durante el periodo 2015-2019. Datos obtenidos del Registro Gallego de Tumores.

## 2. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER COLORRECTAL

El riesgo de desarrollar CCR está determinado por factores relacionados con el estilo de vida y factores hereditarios. En este sentido, podemos diferenciar entre: CCR esporádico (sin un componente genético hereditario definido) y CCR hereditario (asociado a alteraciones genéticas patogénicas en línea germinal).

### 2.1. Factores de riesgo no hereditarios

La edad se considera el principal factor de riesgo no modificable para el desarrollo de CCR esporádico, ya que más del 65% de los pacientes tiene más de 65 años al diagnóstico. Otros factores de riesgo están relacionados con el estilo de vida e incluyen: el consumo de carne roja, de bebidas alcohólicas y/o de tabaco, un índice de masa corporal elevado (IMC), un bajo consumo de fibra en la dieta, la enfermedad inflamatoria intestinal y un bajo nivel de actividad física (Lauby-Secretan et al, 2018; Patel P et al, 2016). Algunos estudios también han postulado la mayor exposición de ácidos biliares como un factor de riesgo de CCR, aunque su evidencia es más escasa (Jia et al, 2018; Režen T et al, 2022).

## 2.2. Factores de riesgo hereditarios

Se considera que aproximadamente un 20% de los casos de CCR tienen cierto grado de agregación familiar (Quintero et al, 2016) y cerca de un 2-5% de todos los casos son debidos a síndromes hereditarios bien definidos (Stjepanovic et al, 2019). Podemos dividir principalmente este tipo de síndromes en: a) no polipósicos (síndrome de Lynch) y b) asociados a poliposis hereditaria.

### 2.2.1. Cáncer colorrectal hereditario no polipósico

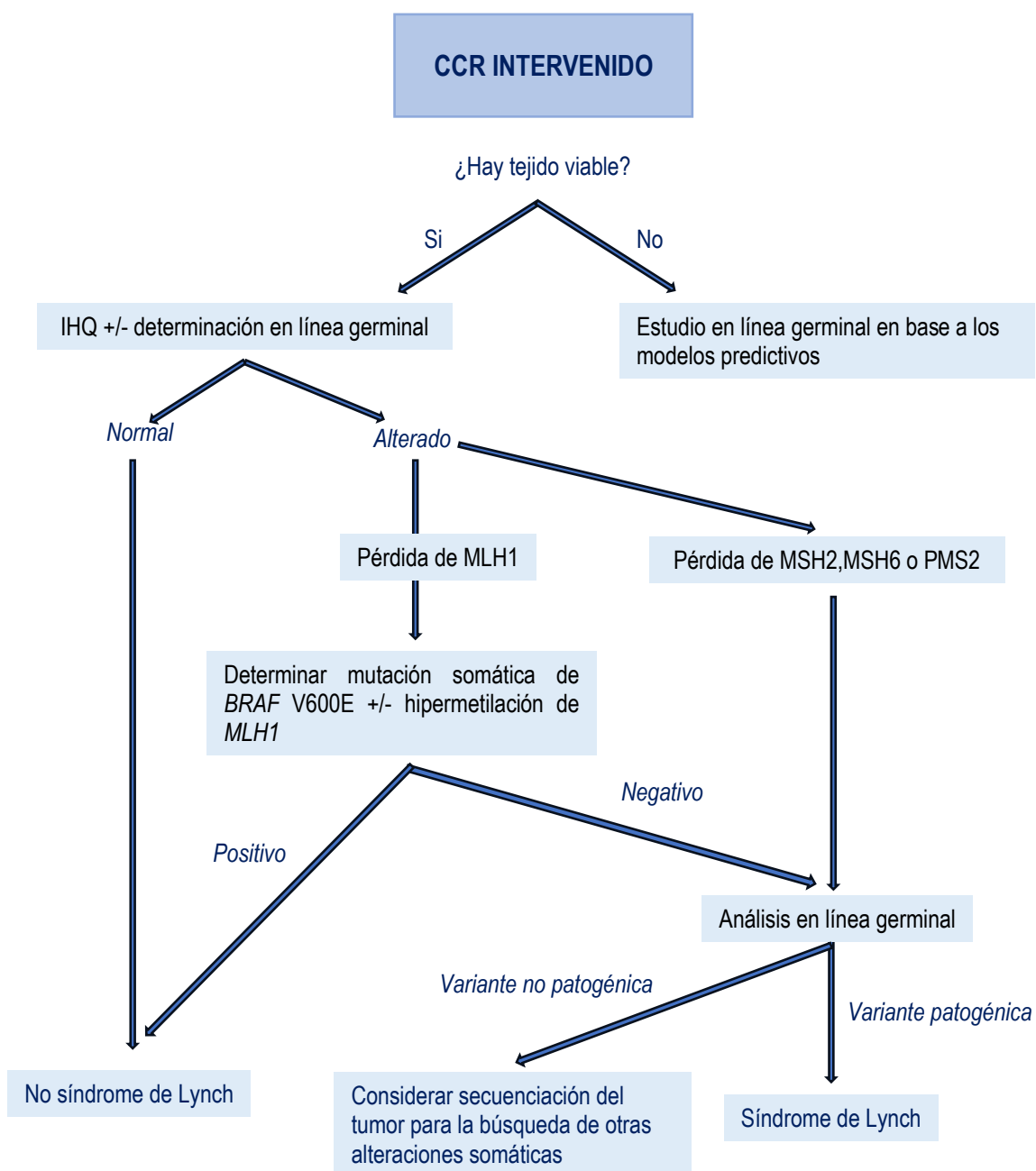
El síndrome de Lynch es el síndrome de CCR hereditario más frecuente. Supone el 2-5% de todos los casos de CCR hereditario (Hampel et al, 2005). Este síndrome tiene una herencia autosómica dominante y se produce por la presencia de variantes patogénicas en línea germinal en alguno de los genes involucrados en la reparación de los errores de la replicación del ADN (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) o por la presencia de deleciones germinales del gen *EPCAM*, que causa la inactivación del gen *MSH2*. Se asocia no sólo a un aumento de riesgo de desarrollar CCR, sino también de otras neoplasias como cáncer de endometrio (30-51%), cáncer gástrico (hasta un 10%), cáncer de vía urinaria (2%-20%) o cáncer de páncreas (4%), entre otros (Samadder et al, 2017).

Se han definido una serie de criterios clínicos basados en la edad y en la historia familiar para identificar a aquellos individuos que se beneficiarían de un *screening* inicial (veáanse tablas 1 y 2).

Tabla 1. Criterios de Amsterdam II* (Se deben de cumplir los 3 criterios)
3 o más individuos afectados de CCR o neoplasia relacionada (endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal), uno de ellos familiar de primer grado de los otros dos.
Afectación de 2 generaciones consecutivas.
Un caso al menos diagnosticado antes de los 50 años.
*Tomado de la referencia: Vasen et al, 1999.

Tabla 2. Criterios de Bethesda revisados* (se debe de cumplir al menos 1 criterio)
CCR diagnosticado antes de los 50 años
CCR sincrónico o metacrónico, u otra neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado) con independencia de la edad.
CCR con infiltración linfocitaria, células en anillo de sello o crecimiento con patrón medular diagnosticado antes de los 60 años.
Paciente con CCR y uno o más familiares de 1º grado con CCR o neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado) diagnosticada antes de los 50 años
Paciente con CCR y dos o más familiares de 1º o 2º grado con CCR o neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado) con independencia de la edad
*Tomado de la referencia: Umar et al, 2004.

Sin embargo, a día de hoy, aunque no cumplan dichos criterios, se recomienda la determinación del estado de las proteínas reparadoras de errores de replicación del ADN (mismatch repair, MMR) mediante inmunohistoquímica (IHQ) a todos aquellos pacientes con un diagnóstico reciente de CCR (ver algoritmo de la figura 5) (Stjepanovic et al, 2019; Argilés et al. 2020). Esto se debe a las implicaciones terapéuticas derivadas de su positividad en estadios localizados y metastásicos.



**Figura 5.** Algoritmo para el diagnóstico molecular de síndrome de Lynch en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Elaboración propia basada en las guías ESMO de cáncer hereditario (Stjepanovic et al, 2019).

Mediante el uso de la inmunohistoquímica podemos objetivar una ausencia de expresión de aquellas proteínas cuyos genes estén mutados. Sin embargo, un 10% de los CCR con pérdida de expresión de MLH1 lo hará por un mecanismo de hipermetilación a nivel somático del promotor de MLH1 y no por la presencia de una mutación en dicho gen. En estos casos, se recomienda la determinación de la metilación del promotor de MLH1 o de la mutación de *BRAFV600E*, que descartaría un origen hereditario (Hendriks et al, 2006).

En aquellos pacientes que cumplan todos los criterios de Amsterdam, independientemente del estado de las proteínas reparadoras, se puede solicitar un panel de genes para estudio en línea germinal de posibles mutaciones patogénicas de *MUTYH*, *POLE* y *POLD1* (Yurgelun et al, 2017).

Otros síndromes hereditarios no polipósicos menos frecuentes son el cáncer colorrectal familiar tipo X, el síndrome Lynch-Like o el síndrome de deficiencia de reparación de desajuste constitutivo.

### ***2.2.2. Cáncer colorrectal hereditario asociado a poliposis***

Este apartado engloba un numeroso grupo de síndromes caracterizados por la presencia de múltiples pólipos a lo largo del intestino que aumentan el riesgo de desarrollo de CCR, así como de otras manifestaciones extraintestinales (Tabla 3).

Tabla 3. Se muestran las características que definen los síndromes hereditarios de CCR asociados a poliposis más frecuentes. *Elaboración propia a partir de Gomollon et al, 2019 y referencias de tabla.*

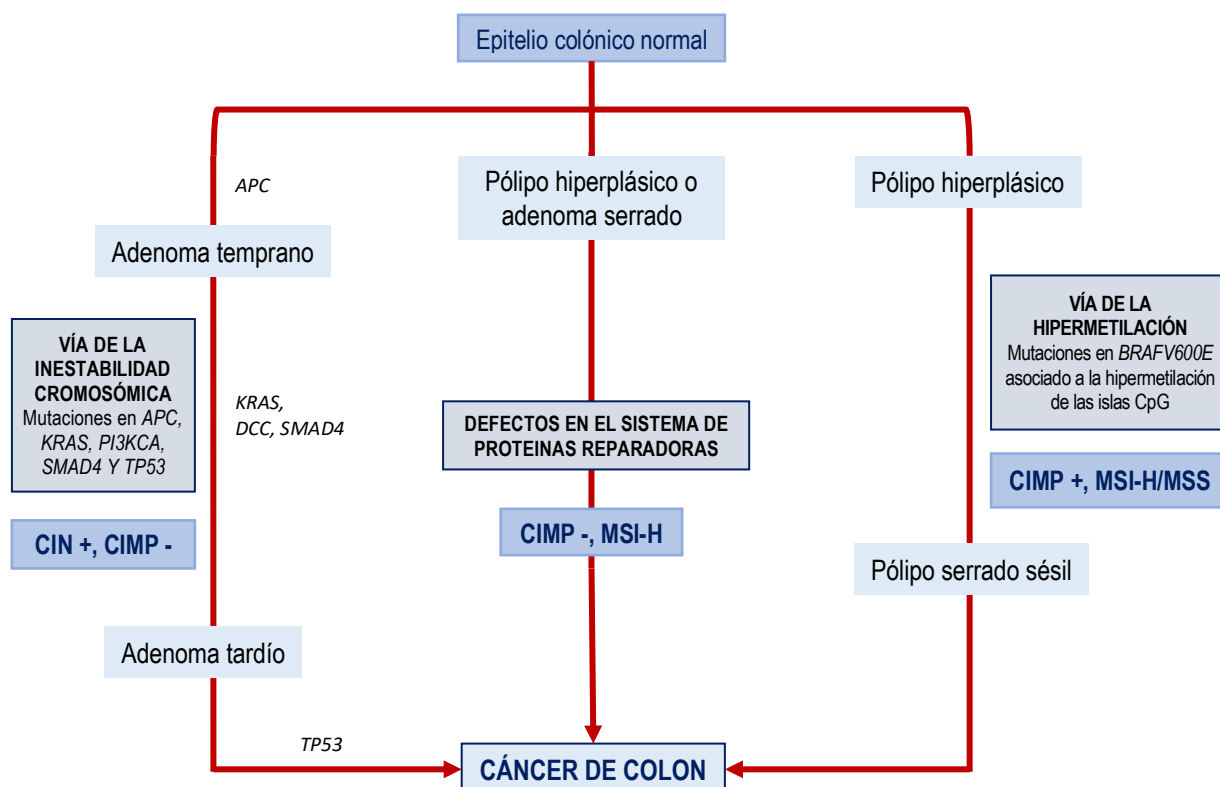
SÍNDROME	FRECUENCIA	GENES	HERENCIA	RIESGO DE CCR	RIESGO DE OTRAS NEOPLASIAS	OTRAS MANIFESTACIONES
<b>POLIPOSIS ADENOMATOSAS</b>						
<b>Poliposis adenomatosa familiar</b> (Dinarvand et al, 2019)	1:7.000-30.000 (Hes et al, 2018)	<i>APC</i>	AD	Clásica: 100% Atenuada: 70%	Carcinoma papilar de tiroides, variante cribiforme morular (2-3%), adenocarcinoma mucinoso de páncreas (1,7%), hepatoblastoma (1%), tumores cerebrales (<1%), tumores desmoides.	Hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina (HCEPR) Quistes dérmicos Osteomas
<b>Poliposis asociada al gen <i>MUTYH</i></b> (Aelvoet et al, 2022)	Frecuencia heterocigotos <i>MUTYH</i> 1-1.5% (Nielsen et al 2009)	<i>MUTYH</i>	AR	43%	Ovario (14%), vejiga (8-25%), mama (11%), estómago (1,7-7%), endometrio (3%), hepatobiliar (1,4-3%), tumores desmoides	HCEPR, osteomas
<b>Poliposis adenomatosa asociada a mutaciones en <i>NTHL1</i></b> (Weren et al, 2015)	Frecuencia homocigotos 1: 114.770 o 0,28% de población (Weren et al, 2017)	<i>NTHL-1</i>	AR	Entorno 70%	Mama , endometrio carcinoma urotelial, carcinoma basocelular (Kuiper et al, 2020; Nurmi et al, 2023 Beck et al, 2023).	
<b>Síndrome asociado a la actividad reparadora de polimerasas</b> (Bellido et al, 2016)		<i>POLE, POLD1</i>	AD/AR	Entorno 70%	Endometrio, gástrico, duodeno	
<b>POLIPOSIS HAMARTOMATOSAS</b>						
<b>Síndrome de Peutz-Jeghers</b> (Lindor et al, 2008)	1:8.000 - 1:200.000	<i>STK11</i>	AD	39%	Mama (54%), páncreas (36%), estómago (29%), ovario (21%), pulmón (15-27%), cáncer de cérvix (9%), tumores testiculares de células de Sertoli	Pólipos hamartomatosos, pigmentación mucocutánea
<b>Síndrome de Cowden</b> (Pilarski et al, 2013)	1:200.000	<i>PTEN</i>	AD	13%	Mama (25-85%), tiroides (3-38%), endometrio (5-28%), riñón (15-34%), melanoma (2%)	Pólipos hamartomatoso, lipomas, triquilemomas, queratosis acras...
<b>Poliposis juvenil</b> (Ngeow et al, 2013)	1:100.000 - 160.000	<i>SMAD4, BMPR1A, ENG</i>	AD	68%	Cáncer gástrico, cáncer duodenal	

### 3. PATOGENIA DEL CÁNCER COLORRECTAL

La mayor parte de los casos de CCR (80%) se desarrollan siguiendo el modelo denominado adenoma-carcinoma clásico (vía de APC/ $\beta$ -catenina). Este modelo explica el desarrollo tumoral a través de la acumulación de mutaciones en las células madre epiteliales de la mucosa normal, pasando por el desarrollo de un adenoma hasta llegar al carcinoma invasivo. Suele implicar la mutación del gen supresor tumoral *APC* como alteración inicial en su desarrollo. Para que se desarrollen adenomas, las dos copias del gen *APC* deben estar inactivadas, ya sea por mutación o por silenciamiento epigenético. Con la pérdida de la función de la proteína APC se activa la transcripción de genes que promueven la proliferación (*MYC* y *CCND1*). Posteriormente se produce un crecimiento progresivo de la lesión, mediada por mecanismos de inestabilidad cromosómica, asociado a mutaciones en *KRAS*, *TP53*, *SMAD4* o *PIK3CA* que suelen ser eventos finales en el desarrollo del carcinoma invasivo (Fearon et al, 1990) (Figura 6).

El 15-20% de los CCR restantes se desarrollan a través de una vía alternativa, también conocida como vía serrada. Esta vía está mediada por: a) defectos en el sistema de reparación de ADN o b) por la hipermetilación de CIMP (fenotipo metilador de islas CpG) junto con la activación de *BRAF*.

- a) **Defectos en el sistema de proteínas reparadoras (MMR):** Se debe a la pérdida de la función en alguno de los genes involucrados en el mecanismo de reparación del ADN. Cuando esta pérdida de función es debida a una mutación en línea germinal se denomina síndrome de Lynch. Al fracasar el sistema de reparación del ADN se producen errores durante la replicación, acumulando mutaciones en las repeticiones de los microsatélites que dan lugar a proteínas no funcionales o truncadas; este fenómeno se denomina inestabilidad de microsatélites. Los tumores que se originan mediante esta vía suelen localizarse en el colon derecho, ser pobremente diferenciados, tener una histología mucinosa y un abundante infiltrado linfocitario. La presencia de inestabilidad de microsatélites confiere un mejor pronóstico en aquellos pacientes con CC estadio II (Jaspersen et al, 2020).
- b) **Hipermetilación de *BRAF*:** Existe un subgrupo de pacientes con CCR esporádico que se caracterizan por la presencia de inestabilidad de microsatélites y la mutación de *BRAF* V600. El mecanismo patogénico de estas alteraciones se debe a un silenciamiento epigenético de las proteínas del MMR (con frecuencia MLH1) a través de mecanismos de hipermetilación de la isla CpG (fenotipo metilador de la isla CpG [CIMP]). Se consideran exclusivas de esta vía las mutaciones en *BRAF* (Jones et al, 2017).



**Figura 6.** Esquema de las principales vías de desarrollo del cáncer de colon. Elaboración propia a partir de la referencia: Kasi et al, 2020.

Aproximadamente el 2,5% de los adenocarcinomas tienen mutaciones que afectan el dominio de corrección de *POLE* lo que confieren tasas de mutación muy altas (ultramutadas) (Mosalem et al, 2024).

#### 4. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA

El 90% de los CCR presentan histología de adenocarcinoma definida como una neoplasia epitelial glandular que infiltra la muscular de la mucosa a la submucosa. El adenocarcinoma colorrectal ha sido definido en la más reciente clasificación de tumores digestivos de la OMS como “un tumor epitelial maligno con origen en el intestino grueso, que muestra diferenciación glandular o mucinosa” (Nagtegaal et al, 2020). Aunque en la mayor parte de los casos la histología más frecuente es el adenocarcinoma NOS (“not otherwise specified”), se han definido en dicha clasificación de la OMS otros subtipos histológicos con unas características particulares (Tabla 4) (Nagtegaal et al, 2020).

## 4.1. Tipos histológicos

**4.1.1. Adenocarcinoma mucinoso:** Es el subtipo más frecuente con una prevalencia entre el 5-20% (Symonds et al, 1976). Se caracteriza por la presencia de mucina a nivel extracelular en más del 50% de la lesión (González et al, 2019). Aunque la presencia de inestabilidad de microsatélites es más frecuente en este subgrupo, no se han visto diferencias en cuanto al pronóstico comparado con el adenocarcinoma NOS (Kazama et al, 2005; Catalano et al, 2012).

**4.1.2. Carcinoma con células en anillo de sello:** Es un subgrupo poco frecuente (<1%) (Nitsche et al, 2013). Se caracteriza por la presencia de mucina intracitoplasmática que desplaza el núcleo hacia la periferia de la célula. Habitualmente se diagnostican con un estadiaje avanzado y tiene un peor pronóstico comparado con el adenocarcinoma NOS y el adenocarcinoma mucinoso (Kang H et al, 2005). Aquellos localizados en el lado derecho, suelen asociarse a inestabilidad de microsatélites, lo que le confiere un mejor pronóstico (Ishihara S et al, 2012).

**4.1.3. Carcinoma medular:** Su prevalencia se estima entorno a un 1-4%, aunque se considera que está infraestimada. Se caracteriza por la agrupación de células neoplásicas con un núcleo vesicular, un nucleolo prominente y por la presencia de un citoplasma eosinófilo abundante rodeado de un infiltrado linfocitario. Generalmente se asocia a la pérdida de expresión de las proteínas reparadoras junto con la presencia de mutaciones en *BRAF* (Knox RD et al, 2015). A nivel inmunohistoquímico, suele presentar un patrón aberrante caracterizado por la pérdida de expresión inmunohistoquímica de CDX2 y CK20 (Winn et al, 2009).

**4.1.4. Adenocarcinoma serrado** Su prevalencia está entorno al 10-15% de todos los CCR. Se caracteriza por la presencia de un epitelio similar al de los pólipos serrados que puede ir acompañado de áreas de mucina (Nagtegaal et al, 2020).

**4.1.5. Carcinoma micropapilar:** Se encuentra en el 5-20% de los CCR diagnosticados. Histológicamente se caracteriza por la presencia de grupos celulares rodeados de un halo claro que simulan canales vasculares (Kim et al, 2006). Se caracteriza por un mayor riesgo de diseminación linfática y de factores de mal pronóstico (invasión vascular y perineural) (Xu et al, 2009).

**4.1.6. Adenocarcinoma adenoma-like:** Su prevalencia está entorno al 3-9% de todos los CCR. Se trata de un adenocarcinoma invasivo en el que más del 50% de la lesión presenta áreas que simulan un adenoma con estructuras vellosas y zonas

de bajo grado. Suelen presentar mutaciones en *KRAS* y se asocian a buen pronóstico (Gonzalez et al, 2016).

**4.1.7. Carcinoma adenoescamoso:** Se trata de un subtipo histológico muy poco frecuente (<0,1%). Se caracteriza por presentar tanto áreas glandulares como zonas de diferenciación escamosa. Se asocia a un peor pronóstico (Masoomi et al, 2012).

**4.1.8. Carcinoma con componente sarcomatoide:** Es un subgrupo de mal pronóstico. Se trata de tumores indiferenciados que presentan células fusiformes o rabdoideas que simulan un sarcoma. Suele haber también células pleomórficas gigantes y áreas de diferenciación glandular. A nivel inmunohistoquímico, se caracteriza por la pérdida nuclear de SMARCB1 (INI1) (Nagtegaal et al, 2020).

**4.1.9. Carcinoma indiferenciado:** Se caracteriza por la ausencia de diferenciación más allá de la propiamente epitelial (Nagtegaal et al, 2020).

Tabla 4. Clasificación de la OMS de los tumores epiteliales malignos de colon y recto (5ª Ed.)*
<b>Adenocarcinoma NOS</b>
Adenocarcinoma mucinoso
Carcinoma de células en anillo de sello
Adenocarcinoma pobremente cohesivo
Adenocarcinoma medular
Adenocarcinoma serrado
Adenocarcinoma micropapilar
Adenocarcinoma tipo adenoma
Carcinoma adenoescamoso
Carcinoma con componente sarcomatoide
Carcinoma indiferenciado, NOS
<b>Tumor neuroendocrino NOS</b>
<b>Carcinoma neuroendocrino NOS</b>
<b>Neoplasia mixta neuroendocrina-no neuroendocrina (MiNEM)</b>

NOS (“not otherwise specified”), sin otra especificación”.

\*WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive system tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 1). <https://publications.iarc.fr/579>.

## 4.2. Grado histológico tumoral

El grado de un tumor es una evaluación cualitativa del grado de diferenciación del tumor. Suele reflejar la medida en la que el tumor se parece al tejido normal del que deriva. El grado proporciona importante información sobre el riesgo de metástasis y el pronóstico

(AJCC, 8ª edición). A pesar de la variabilidad interobservador (Chandler et al, 2008), se ha demostrado que el grado histológico es un factor pronóstico importante en muchos estudios (Cho et al, 2009; Derwinger et al, 2010; Juerscu et al, 2023), con una fuerte correlación entre la mala diferenciación y resultado adverso (Barresi et al, 2015). Aunque la AJCC ha especificado un sistema de clasificación de cuatro niveles para el cáncer colorrectal en su octava edición del TNM (Tabla 5), la más reciente edición de la clasificación de tumores digestivos de la OMS (5ª edición) han simplificado el grado histológico en dos niveles: bajo y alto grado (Tabla 6). De acuerdo con la clasificación de la OMS, para obtener el grado histológico se evalúan las áreas tumorales menos diferenciadas pero no se considera el frente de invasión del tumor (área de transición epitelio-mesenquimal), el cual debería ser informado de forma separada (Dunne et al, 2016).

Tabla 5. Grado histológico tumoral según la AJCC, 8ª edición*.	
Grado	Definición
GX	No puede evaluarse el grado
G1	Bien diferenciado (>95% de formación de glándulas en el tumor)
G2	Moderadamente diferenciado (50-95% de formación de glándulas)
G3	Pobrementemente diferenciado (<50% de formación de glándulas)
G4	Indiferenciado (sin formación de glándulas ni mucina; no diferenciación escamosa o neuroendocrina)

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.

Tabla 6. Grado histológico tumoral según la OMS, 5ª edición*.	
Grado	Definición
Bajo grado	G1 (Bien diferenciado) G2 (Moderadamente diferenciado)
Alto grado	G3 (Pobrementemente diferenciado) G4 (Indiferenciado)

\*WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Digestive system tumours*. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 1). <https://publications.iarc.fr/579>.

## 5. CLASIFICACIÓN MOLECULAR

Las diferencias que existen en la evolución y en la respuesta a los tratamientos de cada tumor van más allá de sus características histopatológicas y moleculares ya descritas. En base a una serie de análisis transcriptómicos y de expresión génica, The Cancer Genome Atlas del CCR definió 4 subtipos moleculares de CCR referidos como CMS (“Consensus Molecular Subtypes”) (Cancer Genome Atlas Network, 2012). En función de sus diferencias a nivel clínico, molecular y transcriptómico se han establecido los siguientes subtipos: CMS1 (inmune), CMS2 (canónico), CMS3 (metabólico) y CMS4 (mesenquimal) (Guinney et al, 2015; Rejali et al, 2023) (Tabla 7).

### 5.1. CMS1 (inmune)

Supone el 14% de los tumores. Es más frecuente en el colon derecho y en mujeres (Lee et al, 2017). Se caracteriza por la presencia de inestabilidad de microsatélites, habitualmente esporádica. Suele asociar mutaciones en *BRAF* y presentar un fenotipo metilador (debido a silenciamiento de *MLH1*). Este grupo presenta una mayor expresión de genes mediadores de la inmunidad y un bajo número de variaciones en el número de copias del ADN (SCNA, “somatic copy-number alteration”). A nivel histológico se caracteriza por la presencia de un abundante infiltrado linfocitario. Estos tumores presentan una menor supervivencia tras la recaída, pero también una buena respuesta al tratamiento con inmunoterapia.

### 5.2. CMS2 (canónico)

Se trata del subgrupo más frecuente. Supone el 37% de todos los tumores. Es más frecuente en el colon izquierdo y en varones. Se caracteriza por la presencia de inestabilidad cromosómica (CIN) acompañada de un alto SCNA. Este subgrupo está íntimamente relacionado con la secuencia adenoma-carcinoma, ya descrita previamente, y con la activación de las vías de señalización de WNT y MYC. Es el subgrupo de mejor pronóstico, con una tasa de supervivencia del 77% a los 5 años.

### 5.3. CMS3 (metabólico)

Este subgrupo representa el 13% de los CCR. Se caracteriza por la presencia de un gran enriquecimiento de firmas metabólicas, mutaciones activadoras de *KRAS*, la presencia de CIN y un alto CIMP (“CpG island methylator phenotype”) asociado a un bajo SCNA (Rejali et al, 2023). Puede presentar inestabilidad de microsatélites, aunque en menor proporción que el grupo CMS1.

### 5.4. CMS4 (mesenquimal)

El 23% de los tumores se incluyen en este grupo. Estos tumores se suelen localizar en el colon izquierdo y habitualmente se diagnostican en estadios avanzados, lo que le confiere un peor pronóstico. De hecho, se ha postulado la posibilidad de una transformación de las células tumorales de un CMS1-3 a un CMS4 como mecanismo evolutivo del tumor (Haasnoot et al, 2020). Este subgrupo se caracteriza por una sobreexpresión de genes relacionados con la regulación del microambiente tumoral. Su mecanismo de carcinogénesis está relacionado con la activación de la vía de TGF $\beta$ . Se han identificado en este subtipo varios genes implicados en fenómenos de inmunidad como factores clave en el desarrollo tumoral (*PROK1*, *THBS1*, *CRP*, *S100A14* y *CCL19*). A pesar de que este subgrupo presenta una alta expresión de firmas inmunitarias, son tumores resistentes a los tratamientos con

inmunoterapia. Esta característica se debe a un aumento de firmas moleculares inmunosupresoras y relacionadas con la regulación de la angiogénesis.

Tabla 7. Resumen de las características principales del cáncer colorrectal según los cuatro subgrupos moleculares definidos por The Cancer Genome Atlas (*Elaboración propia a partir de las referencias: Guinney et al, 2015; Rejali et al, 2023*).

	CMS1 (inmune)	CMS2 (canónico)	CMS3 (metabólico)	CMS4 (mesenquimal)
Frecuencia	14%	37%	13%	23%
Característica principal	MSI, alto CIMP, hipermutado	Activación de la vía wnt/b-catenina y Myc	Disregulación metabólica	Transformación epitelio-mesénquima con infiltración estromal, aumento de TGFβ y marcada angiogénesis
SCNA	Bajo	Alta	Bajo-moderado	Alta
Perfil inmunológico	Inmunoactivado Abundante infiltrado de linfocitos Th1, NK1, PD-1, CTLA-4 y citoquinas CXCR3/CCR5	Ignorancia inmunitaria	Ignorancia inmunitaria	Inmunitolera
Mutaciones asociadas	<i>BRAF V600E</i>	<i>TP53</i>	<i>KRAS, PI3KCA, IGFBP2</i>	<i>NOTCH3/VEGFR2</i>
Localización más frecuente	Colon derecho	Colon izquierdo y recto	Ligeramente más frecuente en colon derecho	Ligeramente más frecuente en colon izquierdo y recto
Tasas de supervivencia a los 5 años	73% Peor pronóstico a la recaída	77%	74%	62% Peor supervivencia
Implicaciones clínicas	Podría beneficiarse de tratamiento con inmunoterapia	Puede beneficiarse de tratamiento anti-EGFR	Resistencia a anti-EGFR	Podría beneficiarse de antiangiogénicos. No claro beneficio del tratamiento adyuvante.

Queda un grupo residual inclasificable (mixto, 13%) que representaría un fenotipo transicional o heterogeneidad tumoral.

## 6. LATERALIDAD TUMORAL

No hay una definición clara en cuanto al punto de división entre el cáncer de colon derecho e izquierdo. La más aceptada establece el colon derecho como la región de intestino grueso que va desde el ciego hasta los dos tercios proximales del colon transversal, mientras que el colon izquierdo incluye el tercio distal del colon transversal, el colon descendente y sigma (Cancer Genome Atlas Network, 2012). Esta diferenciación se apoyó inicialmente en el diferente origen embrionario de estas regiones (Schoenwolf GC et al, 2015). El intestino primitivo deriva del endodermo y se divide en tres segmentos: intestino anterior, medio y caudal. El intestino medio forma el intestino delgado, el colon ascendente y el colon transversal proximal, mientras que el intestino caudal da lugar al colon transversal, el colon distal y el recto (Shen et al, 2015; Petrelli et al, 2017). Sin embargo, hoy en día sabemos que estas diferencias anatómicas incluyen también diferencias clínicas y moleculares que confieren a cada localización tumoral unas características singulares.

Los carcinomas de colon del lado derecho suponen un tercio de todo el CCR. Son más frecuentes en mujeres, suelen tener un componente mucinoso, ser más indiferenciados y presentar una histología con células en anillo de sello. Además, suelen dar metástasis a nivel peritoneal, mientras que los tumores de colon izquierdo suelen metastatizar a los pulmones con más frecuencia (Benedix et al, 2010; Gonzalez et al, 2001). Se ha objetivado una mayor prevalencia de lesiones precursoras en forma de adenomas serrados en el colon derecho en comparación con el izquierdo (Gupta et al, 2012).

Además del distinto origen embrionario, se han descrito diferencias en la microbiota intestinal en función de la lateralidad. Numerosas bacterias como el *Fusobacterium nucleatum* o el *Bacteroides fragilis enterotoxigeno* se han asociado a un mayor riesgo de desarrollo de CCR (Sears et al, 2014). Estas alteraciones son muy marcadas al evaluarlas teniendo en cuenta la lateralidad del tumor. De hecho, se ha descrito la presencia de biofilm bacteriano en cerca de un 89% de los tumores de colon derecho frente a sólo un 12% en los tumores de colon izquierdo (Dejea et al, 2014). Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo (Costerton et al, 1995). Estos biofilms bacterianos no son carcinógenos *per se*, sino sólo en el contexto de bacterias invasoras específicas. Su presencia se asoció a una disminución en la expresión de la E-cadherina, una mayor expresión de IL-6 y STAT3, así como a una mayor proliferación celular; lo que podría explicar su efecto oncogénico (Dejea et al, 2014).

Por otro lado, se ha postulado que las elevadas concentraciones de ácidos biliares a nivel de la mucosa colónica podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo de CCR (Cai et al, 2022; Bernstein et al, 2023). Los ácidos biliares producen inestabilidad genómica a través de vías de estrés oxidativo, inestabilidad cromosómica y alteraciones en el ciclo celular (Payne et al, 2008; Režen et al, 2022). Los daños producidos en el epitelio inducen un mecanismo de compensación que da lugar a la proliferación de *stem cell* a través de la

vía de WNT/catenina-beta (Farhana et al, 2016). Se ha encontrado una concentración hasta 10 veces mayor de ácidos biliares primarios en el colon derecho, así como una mayor actividad de enzimas formadoras de ácido desoxicólico en el aspirado de las heces de la región cecal respecto a la rectal (Thomas et al, 2021). Por lo tanto, las diferentes concentraciones de ácidos biliares primarios podrían explicar diferentes mecanismos de carcinogénesis en ambos lados.

A nivel de expresión génica también se han encontrado diferencias en función de la localización del tumor. Los tumores del lado derecho se caracterizan por su asociación con mutaciones en los genes *BRAF* y *RAS*, la inestabilidad de microsatélites y la presencia de un fenotipo metilador. Los tumores del lado izquierdo se asocian típicamente a inestabilidad cromosómica (CIN), alta variación en el número de copias del ADN (SCNA) y elevada dependencia de las vías de WNT y MYC (Guinney et al, 2015). El cáncer del lado izquierdo también presenta más mutaciones en *RAS*, *APC* y *TP53*, amplificaciones de *HER1* y *HER2*, así como perfiles de expresión génica que confieren una mayor sensibilidad a las terapias dirigida a *EGFR* (Arnold et al, 2017; Watanabe et al, 2023). Todas estas diferencias a nivel molecular, clínico y transcriptómico ya se han descrito previamente en el apartado de “clasificación molecular” (Guinney et al, 2015). Como se puede observar en la Figura 7, los tumores CMS1 son más frecuentes en el lado derecho, mientras que los que tienen las características descritas en CMS2 y el CMS4 son más frecuentes en el lado izquierdo.

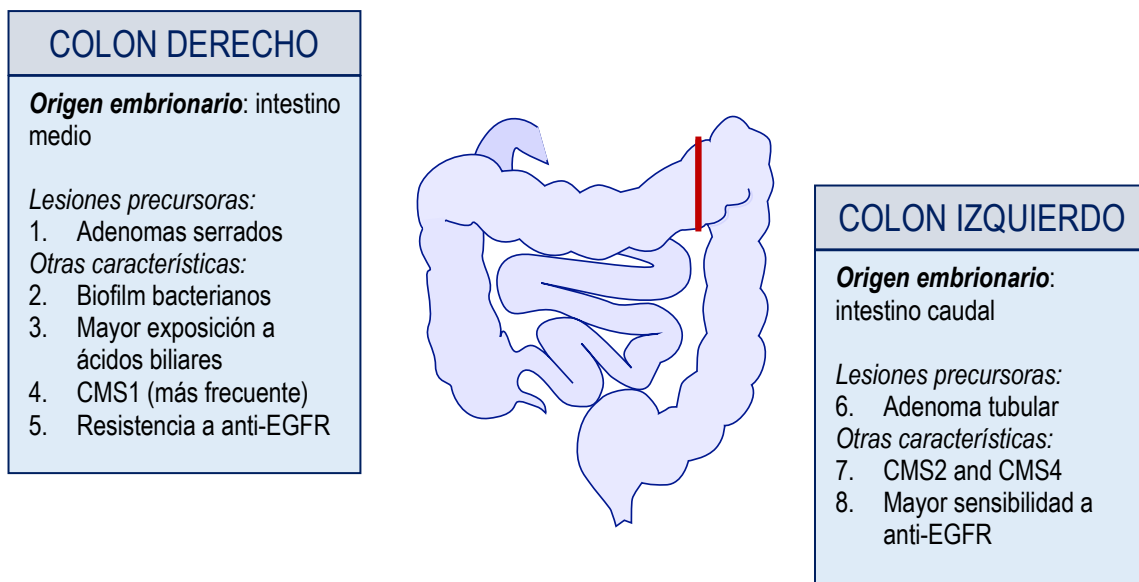


Figura 7. Principales características diferenciales entre cáncer de colon derecho e izquierdo. Elaboración propia.

## 7. DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA COLORRECTAL

El CCR no suele dar manifestaciones clínicas hasta que se encuentra en una fase avanzada. Los síntomas más frecuentes son la presencia de alteraciones en el hábito intestinal, dolor abdominal, pérdida de peso, debilidad y déficit de hierro o anemia (Gomollon et al, 2019). De forma característica, los tumores de colon izquierdo se suelen manifestar en forma de rectorragia o cambios en el ritmo de las deposiciones, mientras que los localizados en el colon derecho suelen dar lugar a una hemorragia oculta cuyos síntomas son atribuidos a una anemia crónica secundaria (Ford et al, 2008).

### 7.1. Pruebas complementarias:

Ante la sospecha de un CC se debe realizar una colonoscopia con el objetivo de obtener una muestra de biopsia para diagnóstico histológico, así como para descartar la presencia de neoplasias sincrónicas. Hasta en un 3,6% de los casos diagnosticados presentarán otra neoplasia sincrónica (Lam et al, 2011). Además, el desarrollo de un tumor metacrónico durante los 5 primeros años tras la cirugía ocurre hasta en un 3% de los pacientes, por lo que un seguimiento estrecho con colonoscopia está justificado en esta población. Una vez establecido el diagnóstico se debe completar el estudio para una correcta estadificación mediante las pruebas que se exponen a continuación (Argilés et al, 2020; Fernández-Montes et al, 2022):

- *TC de tórax-abdomen-pelvis*: permite determinar la extensión de la enfermedad al diagnóstico.
- *RMN hepática*: sólo en caso de que existan dudas acerca de una posible afectación hepática en el TC.
- *Colonografía-TC*: esta prueba está indicada si no se ha podido realizar una colonoscopia completa al diagnóstico.
- *PET-TAC*: no se recomienda su uso de rutina salvo en aquellos casos donde exista una alta sospecha de enfermedad metastásica no detectada mediante las pruebas convencionales (Niekel et al, 2010).
- *Analítica*: hemograma, coagulación, albúmina y pruebas para evaluar función renal y hepática.
- *Marcadores tumorales*: el CEA (antígeno carcinoembrionario) es el único marcador tumoral recomendado por las guías clínicas. No se considera un test de cribado por su baja sensibilidad y especificidad. El CEA es una glucoproteína que se produce en el período embrionario, su secreción se reduce después del nacimiento y es difícilmente medible en el adulto sano. Sus niveles elevados al diagnóstico, así como la no disminución tras la administración del tratamiento son indicadores de mal pronóstico (Spindler et al, 2017).

## 8. ESTADIAJE TNM

El estadiaje TNM definitivo se establece según los hallazgos descritos en la pieza quirúrgica tras la resección, siempre que no se ha detectado la presencia de metástasis a distancia en las pruebas realizadas previamente a la intervención (véanse tablas 8-11).

Tabla 8. Estadiaje TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).	
Categoría T	Criterios
TX	El tumor primario no se puede evaluar.
T0	No hay evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> , carcinoma intramucoso (afectación de la lámina propia sin extensión a través de la muscular de la mucosa).
T1	El tumor invade la submucosa (a través de la muscularis mucosa pero no en la muscular propia).
T2	El tumor invade la muscular propia.
T3	El tumor invade a través de la muscular propia hasta los tejidos pericólicas.
T4	El tumor invade el peritoneo visceral o invade o se adhiere a un órgano o estructura adyacente.
T4a	El tumor invade <sup>#</sup> a través del peritoneo visceral (incluida la perforación macroscópica del intestino a través del tumor y la invasión continua del tumor a través de áreas de inflamación hasta la superficie del peritoneo visceral).
T4b	El tumor invade <sup>#</sup> o se adhiere <sup>##</sup> directamente a órganos o estructuras adyacentes.

<sup>#</sup>La invasión directa en T4 incluye la invasión de otros órganos u otros segmentos del colorrectal como resultado de la extensión directa a través de la serosa, confirmada mediante examen microscópico (por ejemplo, invasión del colon sigmoide por un carcinoma del ciego), o para cánceres en una ubicación retroperitoneal o subperitoneal, invasión directa de otros órganos o estructuras en virtud de la extensión más allá de la muscularis propia (es decir, respectivamente, un tumor en la pared posterior del colon descendente que invade el riñón izquierdo o pared abdominal lateral; o un cáncer de recto medio o distal con invasión de próstata, vesículas seminales, cuello uterino o vagina).

<sup>##</sup>El tumor que está macroscópicamente adherido a otros órganos o estructuras, se clasifica como cT4b.

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.

Tabla 9. Estadiaje TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).	
Categoría N	Criterios
NX	Los ganglios linfáticos regionales no se pueden evaluar.
T0	Sin metástasis en ganglios linfáticos regionales.
N1	De uno a tres ganglios linfáticos regionales son positivos (tumor en ganglios linfáticos que miden más o igual a 0,2 mm), o hay cualquier cantidad de depósitos tumorales y todos los ganglios linfáticos identificables son negativos. Los depósitos tumorales se definen como cualquier nódulo tumoral dentro del área de drenaje del carcinoma primario sin que se identifique tejido ganglionar linfático, estructura vascular o estructura neural.
N1a	Un ganglio linfático regional es positivo.
N1b	Dos o tres ganglios linfáticos regionales son positivos.
N1c	No hay ganglios linfáticos regionales positivos, pero hay depósitos tumorales en los tejidos subseroso, mesentérico, tejido pericólico no peritonealizado o tejido perirrectal/mesorrectal.
N2	Cuatro o más ganglios regionales son positivos.
N2a	De cuatro a seis ganglios linfáticos regionales son positivos.
N2b	Siete o más ganglios linfáticos regionales son positivos.

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.

<b>Tabla 10. Estadaje TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).</b>	
<b>Categoría M</b>	<b>Criterios</b>
M0	Sin metástasis a distancia mediante imágenes, etc.; sin evidencia de tumor en sitios u órganos distantes (esta categoría no la asignan los patólogos).
M1	Se identifica metástasis a uno o más sitios u órganos distantes o metástasis peritoneal.
M1a	Se identifica metástasis en un sitio u órgano sin metástasis peritoneal.
M1b	Se identifica metástasis a dos o más sitios u órganos sin metástasis peritoneal.
M1c	Hay metástasis en la superficie peritoneal solas o con metástasis en otros sitios u órganos.

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. *AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.*

<b>Tabla 11. Grupos de estadaje pronóstico según la AJCC (8ª edición*)</b>			
<b>Estadio</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
0	Tis	N0	M0
I	T1, T2	N0	M0
II	T3, T4	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
III	Cualquier T	N1, N2	M0
IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T1, T2	N2b	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
	T4b	N1, N2	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b
IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1c

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. *AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.*

## 9. TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE COLON LOCALIZADO

El tratamiento de elección en el cáncer de colon localizado es la cirugía (Argilés et al, 2020). Sin embargo, múltiples estudios han evaluado el beneficio de administrar un tratamiento previo o posterior a la intervención, mejorando los resultados en términos de supervivencia que se obtenían con la cirugía de manera exclusiva.

### 9.1. Cirugía

Se considera resección curativa, la resección “en bloque” del tumor que incluya un margen de al menos de 5 cm a cada lado, una linfadenectomía que incluya como mínimo 12 ganglios y la ausencia de metástasis ganglionares o a distancia residuales tras la intervención (Voyer et al, 2003; West et al, 2010). La extensión de la cirugía se verá modificada en función de la presencia o no, de un síndrome hereditario de alto riesgo de CCR. En el caso de un síndrome de Lynch, se recomienda la realización de una colectomía total independientemente del tamaño tumoral o su afectación ganglionar.

El abordaje quirúrgico se puede realizar mediante laparoscopia o laparotomía. Múltiples estudios han evaluado las diferencias existentes entre ambos abordajes (Lacy et al, 2002; Bagshaw et al, 2012; Buunen et al, 2009; Green et al, 2013). De manera global, no parece que existan diferencias en supervivencia libre de enfermedad o supervivencia global (SG) según estos abordajes. Sin embargo, la laparoscopia se ha asociado a una menor estancia hospitalaria.

Recientemente, la cirugía robótica se ha ido implementando cada vez más para el abordaje de distintas patologías. La colectomía robótica ha sido comparada con la laparoscópica en estudios prospectivos (Chang et al, 2015; Zarak et al, 2015; Trastulli et al, 2015). Los datos aportados sugieren un menor sangrado, un menor tiempo de recuperación posoperatoria, una menor estancia hospitalaria y menor tasa de complicaciones. Sin embargo, requiere cirujanos experimentados y su coste es elevado.

En base a los datos aportados se considera de elección un abordaje mínimamente invasivo, siempre que sea posible, salvo en los siguientes casos: a) obstrucción o perforación intestinal, b) tumores localmente avanzados que invaden estructuras adyacentes, y c) pacientes con alto riesgo de adherencias por cirugía previa.

### 9.2. Tratamiento neoadyuvante

Recientemente se ha postulado el tratamiento neoadyuvante como una opción en aquellos pacientes con tumores cT4b o afectación ganglionar “bulky”. Esta recomendación se basa en los datos publicados de los estudios FOxTROT (Morton et al, 2023), NICHE (Chalabi et al, 2020) y NICHE 2 (Sallinen, 2024).

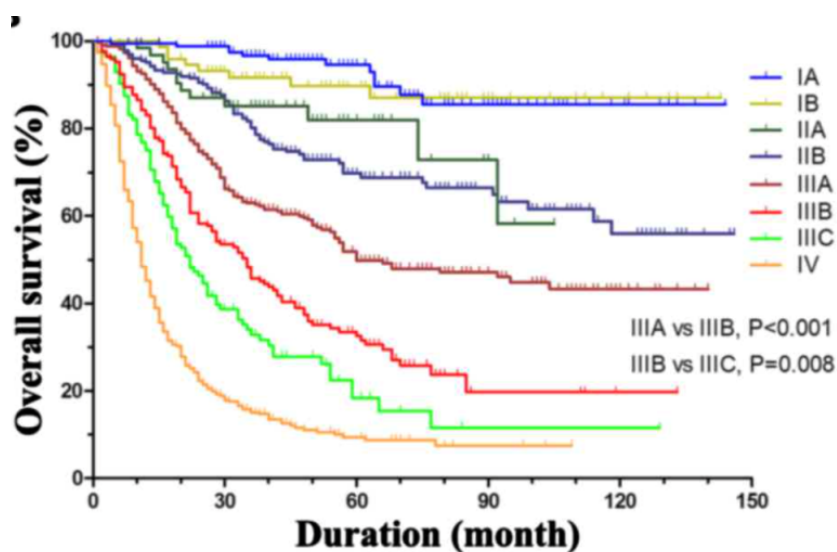
El estudio fase III FOxTROT incluyó 1052 pacientes con cáncer de colon cT3 de alto riesgo y T4, N0-N2, sin datos de obstrucción al diagnóstico y quirúrgicos. Se randomizaron a tratamiento perioperatorio frente a FOLFOX adyuvante tras la cirugía. Los análisis iniciales a 2 años mostraron una buena tolerancia al tratamiento neoadyuvante, un mayor grado de regresión histológica ( $p = 0.04$ ) y una tendencia a un menor riesgo de recaída a dos años ( $RR = 0.72$  (95% CI, 0.54 to 0.98,  $p = 0.037$ ) (Morton et al, 2023). Sin embargo, existen una serie de críticas a este estudio como que hasta el 24% de los pacientes incluidos en el brazo control, eran en realidad estadios II de bajo riesgo. De esto se infiere que existe un sobretreatmento en muchos de los pacientes incluidos. Tampoco se objetivó un beneficio del tratamiento neoadyuvante en el subgrupo de pacientes dMMR/MSI-H.

Los estudios NICHE (Chalabi et al, 2020) y NICHE 2 (Sallinen, 2024) evaluaron el papel de la inmunoterapia en pacientes dMMR/MSI-H. El estudio fase II NICHE 2, incluyó 112 pacientes con CCR estadio III dMMR. Todos los pacientes recibieron 1 dosis de Ipilimumab (1 mg/kg) + 2 dosis de Nivolumab (3 mg/kg). A las 6 semanas se realizó la intervención. Se observó que el 99% de los pacientes incluidos presentó algún tipo de respuesta patológica (el 95% presentó respuesta parcial patológica mayor y el 4% una respuesta patológica parcial). Según los datos, con un seguimiento de 13 meses, ninguno de los pacientes incluidos ha presentado una recidiva.

En base a los resultados descritos, las guías NCCN (“National Comprehensive Cancer Network”), proponen el empleo de FOLFOX neoadyuvante en aquellos pacientes pMMR con cT4b o afectación ganglionar bulky e inmunoterapia en aquellos dMMR/MSI-H.

### 9.3. Tratamiento adyuvante

El pronóstico de los pacientes con CC varía en función del estadiaje al diagnóstico. Así, mientras que el 90% de los pacientes diagnosticados de un cáncer de colon (CC) en estadio I seguirán vivos a los 5 años, la SG cae a menos de un 15% a los 5 años en caso de que se diagnostique en una fase avanzada de la enfermedad (Amin et al, 2017) (Figura 8).



**Figura 8.** Curvas de Kaplan-Meier que muestran la supervivencia en función de los distintos estadios de CC según la 8ª clasificación de la AJCC (Amin et al, 2017).

En general, hasta el 80% de los pacientes con CC se diagnostican en estadios localizados o localmente avanzados (estadios I, II y III), donde el tratamiento de elección es la cirugía. Sin embargo, la recidiva tras la cirugía es frecuente y suele ser la causa de fallecimiento en muchos de ellos. En función del estadiaje patológico (pTNM), algunos pacientes deberán recibir tratamiento adyuvante con quimioterapia. El objetivo de este tratamiento será erradicar la presencia de micrometástasis para disminuir el riesgo de recaída tras la intervención y en definitiva, aumentar la supervivencia (André et al 2004; Kuebler et al, 2007).

En el caso de los pacientes con CC en estadio III, la administración de tratamiento adyuvante tras la cirugía se considera un estándar. Varios estudios como el MOSAIC (André et al, 2015) y el NO16968 (Schmoll et al, 2015) han demostrado su beneficio. Los datos publicados indican que aproximadamente el 60% de los pacientes con CC en estadio III estarán curados con la cirugía de manera exclusiva. Sin embargo, la adyuvancia disminuirá el riesgo de recaída en aproximadamente un 30% a los 5 años de seguimiento. Lamentablemente, el beneficio de la adyuvancia no está tan claro en el caso de los estadios más precoces.

En los pacientes con CC en estadios I o II sin factores de riesgo, la cirugía por si sola se considera curativa en más de un 70% de los casos a los 5 años. El beneficio del tratamiento complementario en este subgrupo se ha evaluado en múltiples ensayos, sin embargo, únicamente el estudio QUASAR ha demostrado un pequeño beneficio de supervivencia para los pacientes en estadio II tratados con 5-FU/LV adyuvante (Gray et al, 2007). Por ello, a día de hoy y para evitar un sobretreatmento, la indicación de la administración de tratamiento complementario se reduce a aquellos pacientes con un CC estadio II que presenten algún factor de riesgo, como se expone en el esquema de la figura 9.

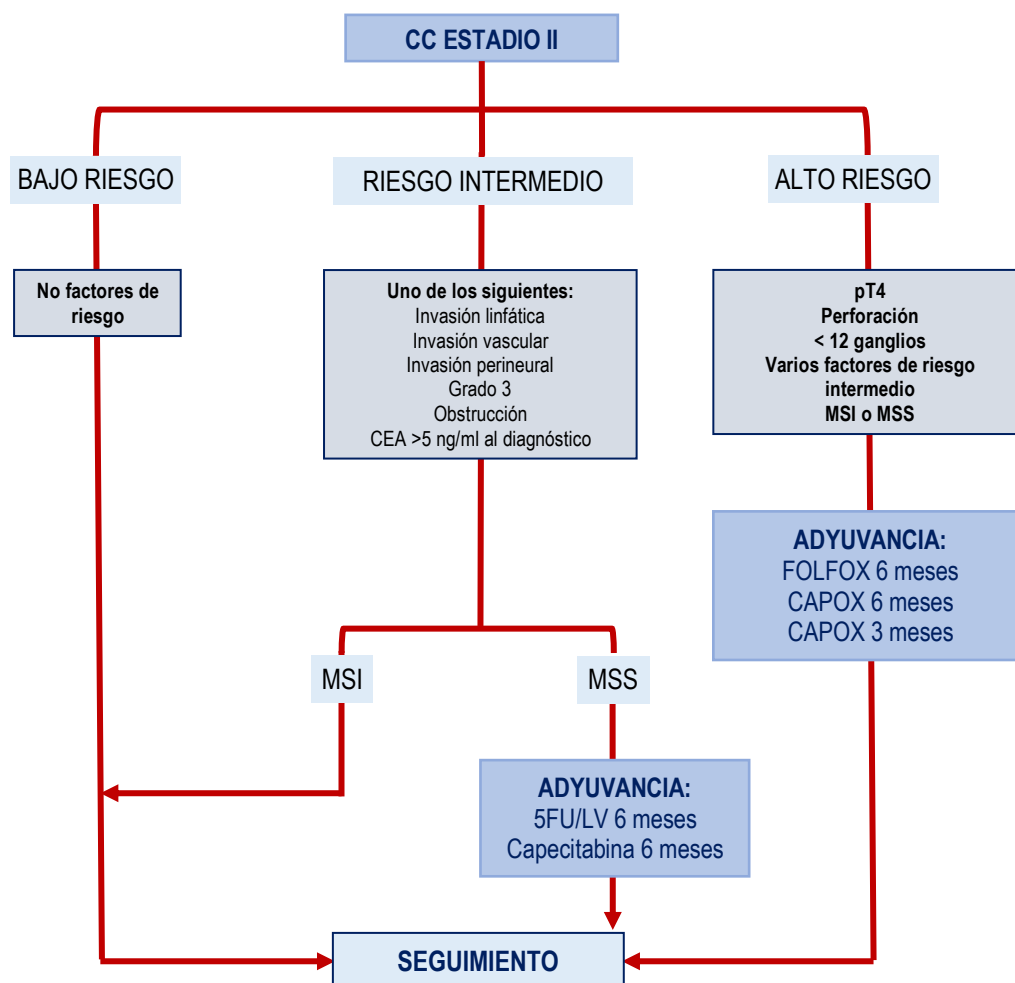


Figura 9. Esquema de tratamiento para los pacientes con cáncer de colon en estadio II. Elaboración propia a partir de referencia guía ESMO de CC localizado (Argilés et al, 2020).

## 10. FACTORES DE RIESGO

Como ya se ha comentado, además del TNM, se han descrito una serie de factores que se deben de tener en cuenta por sus implicaciones a la hora de evaluar la necesidad de un tratamiento adyuvante, ya que aumentan de manera significativa el riesgo de recidiva:

1. *Afectación ganglionar*: El número de ganglios analizados tras la cirugía debe ser descrito siempre en el informe de anatomía patológica. Varios estudios han relacionado un mayor número de ganglios analizados (al menos 12) con una mayor supervivencia independientemente de que estos fuesen positivos o negativos (Le Voyer et al, 2003; Lykke et al, 2013). Un estudio reciente, evaluó el beneficio de la adyuvancia en aquellos pacientes en estadio II de bajo riesgo (pT3pN0) con <12 ganglios analizados como factor de riesgo. Se objetivó un beneficio en SG en aquellos pacientes que recibían quimioterapia (Wells et al, 2017). Por este motivo, las guías ESMO definen la ausencia de al menos 12

ganglios analizados como una linfadenectomía subóptima y lo consideran un factor de riesgo mayor (Argilés et al, 2020).

2. *Tamaño tumoral*: Se define tumor T4 aquel que invade la superficie del peritoneo visceral o se adhiere o infiltra órganos o estructuras vecinas. El tamaño tumoral se considera un factor de riesgo mayor, ya que empeora el pronóstico de manera significativa con tasas de SG a los 5 años de un 60,6% para los estadios IIB (T4aN0M0) y de un 45,7% para los estadios IIC (T4bN0M0) (Gunderson et al, 2010).
3. *Invasión perineural (IPN)*: Se define como la infiltración de las células tumorales a través de las fibras nerviosas. La IPN está presente hasta en un 20% de los casos. Su presencia se ha asociado con recurrencia local y a distancia así como una menor supervivencia libre de enfermedad (Quah et al, 2008; Knijn et al, 2016; Lim et al, 2010).
4. *Perforación y obstrucción*: La perforación suele aparecer en un 3-10% de los pacientes con CCR y la obstrucción en un 8-20%. Los pacientes con cáncer de colon que inicialmente presentaron perforación suelen tener peor supervivencia libre de recurrencia y mayores tasas de complicaciones postoperatorias que aquellos que tuvieron obstrucción (Yang et al, 2022).
5. *Invasión linfovascular (ILV)*: Está presente en aproximadamente un 12% de los casos y conlleva un aumento de riesgo de diseminación ganglionar. La invasión de pequeños vasos se asocia a metástasis ganglionares y constituye en muchos estudios un factor de pronóstico adverso (Santos et al, 2013; Lim et al, 2010). En el análisis multivariante la invasión venosa ha resultado un factor pronóstico adverso y un factor de riesgo para metástasis hepáticas (Lim et al, 2010).
6. *Neoplasia de alto grado*: El grado tumoral se define por el área tumoral que presenta un menor grado de diferenciación y se asocia a neoplasias más agresivas y mayor IPN e ILV (Barrersi et al, 2015). En el frente de invasión del tumor se producen pequeñas proyecciones o gemaciones tumorales (“tumor budding”) poco diferenciados que representan transformación epitelio-mesénquima y no deben ser evaluadas para establecer el grado tumoral.
7. *Tumor budding*: El “tumor budding” se define como la presencia de células aisladas o pequeños agregados de hasta 4 células tumorales localizadas en el frente de invasión del tumor. Se han establecido 3 categorías (baja, intermedia y alta) según el número de gemaciones/clusters (“buds”) identificados. Se asocia a un peor pronóstico y se considera una manifestación morfológica del fenómeno de transición epitelio-mesénquima (Fujiyoshi et al, 2020; Trinh et al, 2018). Se ha demostrado el pronóstico adverso del tumor budding alto en pacientes en

estadio II y se ha abogado por su inclusión como un factor de alto riesgo para la toma de decisiones sobre quimioterapia en pacientes en estadio II (Petrelli et al, 2015).

8. *CEA elevado al diagnóstico*: El CEA (antígeno carcinoembrionario) es una glicoproteína que aparece elevada en el suero de algunos pacientes con cáncer (Goldstein et al, 2005). Su elevación se ha asociado a un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad a distancia. De hecho, un estudio definió dicha elevación como el único marcador predictivo de metástasis a distancia en aquellos pacientes con CCR estadio I (pT1) (Lou et al, 2013).

9. Otros factores de riesgo:

9.1. *CDX2*: La proteína codificada por el gen *CDX2* (“caudal type homeobox 2”) es miembro de la familia de genes del factor de transcripción homeobox relacionado con la regulación de genes específicos del intestino implicados en el crecimiento y la diferenciación celular. *CDX2* participa en el desarrollo embrionario temprano del tracto intestinal y su expresión aberrante se asocia con inflamación intestinal y tumorigénesis. La expresión inmunohistoquímica del factor de transcripción *CDX2* en el CCR se ha empleado de manera tradicional como un marcador de diferenciación de las células epiteliales del intestino. Sin embargo, en los últimos años, varios trabajos lo han postulado también como un posible marcador de riesgo. La ausencia de expresión de *CDX2* en pacientes con CCR estadio II y III se ha correlacionado con una peor supervivencia libre de enfermedad y con un mayor beneficio del tratamiento de quimioterapia (Dalerba et al, 2016; Yu et al, 2019). Otros estudios han mostrado que la pérdida concomitante de expresión de *CDX2* y *SATB2* es un biomarcador de pronóstico en pacientes con tumores inestables en estadios II-III (Ma et al, 2019), sin embargo la pérdida aislada de *CDX2* o *SATB2* no es un biomarcador de pronóstico para el CCR en estadio III (Lee et al, 2024).

9.2. *SATB2*: Se trata de una proteína especial de unión al ADN implicada en la regulación transcripcional y remodelación de la cromatina. *SATB2* es un gen un supresor de tumores que media la progresión y la diseminación tumoral a través del control de los fenómenos de transición epitelio-mesénquima (Roy et al, 2020). Su menor expresión en tejidos de adenocarcinomas de colon se asoció con un peor pronóstico y un mayor riesgo de metástasis a distancia (Wang et al, 2009; Eberhard et al, 2012). Aunque *SATB2* parece un biomarcador inmunohistoquímico del pronóstico superior a *CDX2* en análisis univariantes, es menos sensible ya que se pierde con mayor frecuencia (Ma et al, 2019).

9.3. *Inestabilidad de microsatélites*: Se debe a la presencia de mutaciones o alteraciones epigenéticas en los genes de reparación de los errores de la replicación del ADN (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) o a la presencia de deleciones germinales del gen *EPCAM* (Hampel et al, 2005). Estas alteraciones ocurren en un 2-4% de los casos a nivel germinal o hasta en un 19% a nivel somático. Es más frecuente encontrarlas en estadios precoces lo que sugiere que confieren un menor riesgo de metástasis. De hecho, se ha establecido como un factor de buen pronóstico en el CCR estadio II (Klingbiel et al, 2015; Koopman et al, 2009).

Existen además otros biomarcadores potenciales como la carga mutacional tumoral (TMB, “tumor mutational burden”), ciertas proteínas, “immune scores” y/o perfiles de expresión génica que todavía no han sido confirmados o tienen un limitado uso en la práctica clínica (Yamanaka et al, 2016).

## 11. PROTEÓMICA

La proteómica es la ciencia que estudia el conjunto completo de las proteínas que una célula u organismo puede expresar, o lo que es lo mismo, el proteoma (Wilkins et al, 1996). Mientras que el genoma es idéntico en todas las células que conforman el organismo, la expresión proteica va a variar en función del tipo celular, etapa de ciclo celular y otros condicionantes externos como el propio envejecimiento (Klose et al, 199). Podemos inferir de esto, que los organismos pluricelulares como los humanos, podemos producir un número muy superior de proteínas respecto al número de genes que conforman nuestro genoma. Esto se debe a dos fenómenos: a) el splicing alternativo y b) las modificaciones postraduccionales y/o proteólisis (Figura 10).

- a) *Splicing* alternativo: el genoma está codificado por regiones codificantes o “exones” y regiones no codificantes o “intrones”. Durante el proceso de maduración del ARNm los intrones son eliminados y se generan diferentes combinaciones de exones que dan lugar diferentes ARNm mediante un proceso denominado “splicing” (corte/empalme) alternativo.
- b) Modificaciones postraduccionales: una vez que se forma la proteína tras un proceso denominado traducción, pueden aparecer modificaciones postraduccionales (fosforilaciones, glicosilaciones, ubiquitinización, etc.) que alteren la función de dicha proteína debidas a la adición de grupos sustituyentes (grupos fosfatos, azúcares, ubiquitina, etc).

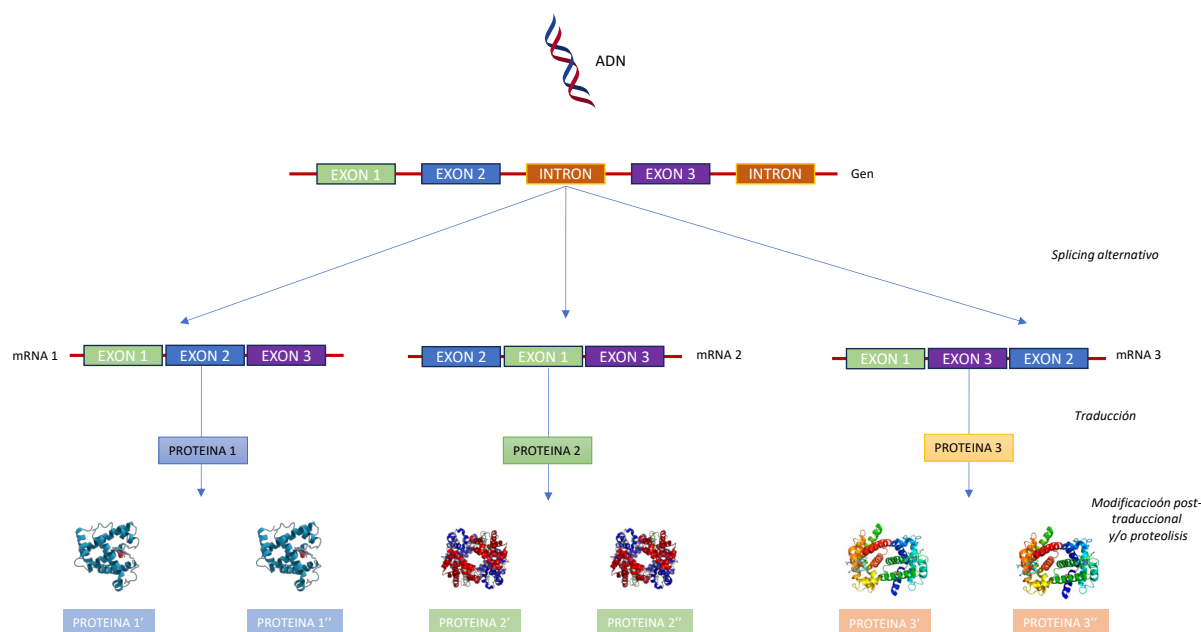


Figura 10. Representación esquemática del proceso conocido como “splicing alternativo”. Elaboración propia.

Gracias al fenómeno de *splicing* alternativo, un gen puede dar lugar a múltiples proteínas, aunque su expresión y la función que realicen en las diferentes células se verá condicionada por las necesidades celulares en ese momento, las condiciones ambientales circundantes y las interacciones que se produzcan entre ellas. Esto explica el carácter dinámico y más informativo del proteoma comparado con el genoma así como la gran complejidad que supone su estudio e interpretación.

### 11.1. Proteómica clínica y biomarcadores

La proteómica es una de las técnicas más extendidas en los últimos años en la investigación biomédica para la búsqueda y caracterización de proteínas implicadas en diversas patologías. El poder analítico de la técnica, en cuanto a sensibilidad y versatilidad en el estudio de las proteínas presentes tanto en los tejidos así como en todo tipo de fluidos biológicos (suero, saliva, lagrime, orina, etc.), hace de ella la herramienta de elección en la búsqueda de nuevos biomarcadores (Zhou et al, 2024).

Se considera que un biomarcador es una molécula (con frecuencia una proteína) que se ha de medir de manera objetiva y cuyo valor es indicador de procesos biológicos normales o patológicos como la progresión de la enfermedad o la respuesta a tratamientos (Calif et al, 2018). El proceso de descubrimiento y validación de un nuevo biomarcador se suele desarrollar siguiendo las fases de descubrimiento, confirmación, verificación y validación.

En el campo de la oncología, la búsqueda de biomarcadores predictivos, pronósticos y dianas terapéuticas está en aumento. La proteómica ha permitido el desarrollo de una medicina de mayor precisión. Mediante el uso de la proteómica podemos obtener

información sobre los mecanismos que subyacen en el desarrollo tumoral a lo largo de sus distintas fases, teniendo en cuenta la complejidad de interacciones y cambios que ocurren más allá del genoma (Liu et al, 2016).

Tradicionalmente el estudio proteómico de los tumores de pacientes con cáncer de colon se realizaba sobre plasma (Murakoshi et al, 2011; Thorsen et al, 2013), o muestras de tejido tumoral fresco/congelado primario (Vasaikar et al; 2019) y/o metastásico (Li et al, 2020), lo que podía representar cierta limitación en el número de muestras y/o en la selección precisa de las áreas tumorales para comparar de forma fiable con el tejido de control. Recientemente, nuestro grupo de investigación de la Universidad de Santiago de Compostela ha desarrollado técnicas de desparafinado de muestras de tejido fijado en formol e incluido en parafina (FFIP), mediante el uso de agua a alta temperatura, que permiten obtener proteínas en un estado adecuado para el análisis proteómico (García-Vence et al, 2021; García-Vence et al, 2020). En el caso del CCR, varios estudios publicados recientemente han buscado la caracterización proteómica de este tumor y de los mecanismos que subyacen al desarrollo de metástasis (Vasaikar et al, 2019; Kim et al, 2019; Li et al, 2020). Sin embargo, son escasos los trabajos que han evaluado su uso en enfermedad localizada. Otro estudio reciente analizó 76 muestras de CCR fijado en formol e incluido en parafina en estadios tempranos del CCR (pT1N0M0 y pT2N0M0), comparándolo con tejido de mucosa normal o mucosa inflamada. En este estudio, que utilizó técnicas proteómicas cuantitativas "Label free", se encontraron diferencias en los niveles de expresión de olfactomedina-4 (OLFM4), quinínogeno-1 (KNG1) y la proteína de transporte Sec24C (Sec24C) en las etapas iniciales del CCR en comparación con los tejidos normales y premalignos (Quesada-Calvo et al, 2017). El grupo de Yamamoto y cols. también empleó tejido de CCR incluido en parafina para realizar un análisis de proteómica global. Los resultados de este grupo mostraron niveles de expresión más altos de ciclofilina A, anexina A2 y aldolasa A en el cáncer en comparación con las áreas no cancerígenas (Yamamoto et al, 2017).

El método más empleado para el análisis comparativo de las proteínas expresadas de manera diferencial se basa en la separación de proteínas por cromatografía líquida de alta presión (LC) acoplada a MS (espectrometría de masas) (LC-MS/MS). Este método arroja como resultado un listado de proteínas expresadas en las diferentes muestras así como las diferencialmente expresadas en los distintos grupos. Estas listas de proteínas pueden contener falsos positivos, por lo que se consideran proteínas candidatas a biomarcadores que necesitarán ser validadas en estudios posteriores. En los últimos 10 años la tecnología SWATH-MS-MS (Sequential Window Acquisition of All Theoretical Fragment Ion Mass Spectra) se ha convertido en una técnica precisa y de alta resolución para la identificación y la cuantificación de proteínas expresadas diferencialmente entre diferentes grupos como controles sanos y patológicos.

El presente trabajo de tesis doctoral incluye la búsqueda de biomarcadores mediante proteómica diferencial en CCR. Esta técnica se basa en la comparación de dos o más muestras seleccionadas entre las cuales esperamos encontrar diferencias. Para el análisis de

las características de los dos grupos se seleccionarán muestras de tejido tumoral FFIP. La principal ventaja de este método de conservación en parafina es que permite almacenar los tejidos durante largos períodos de tiempo a temperatura ambiente, garantizando la conservación de la morfología celular y a un bajo coste. Esto permite disponer de una forma sencilla de una gran cantidad de muestras, seleccionar de forma fiable el tejido a estudiar, e incluso hacer estudios retrospectivos de distintas patologías.



# Hipótesis y Objetivos

---



# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 1. HIPÓTESIS

El CCR es el tercero más frecuente a nivel mundial (GLOBOCAN 2022). Hasta el 80% de los casos se diagnostican en estadios localizados y localmente avanzados siendo la cirugía el tratamiento de elección.

De acuerdo con los datos publicados sabemos que entre un 75-79% de los pacientes en estadio I y un 38-67% con estadio II-III se habrán curado sólo con la cirugía (Verhoeff et al, 2016). En función del estadiaje patológico (pTNM), algunos pacientes deberán recibir tratamiento adyuvante con quimioterapia con el objetivo de disminuir el riesgo de recidiva y, por lo tanto, aumentar su supervivencia.

La quimioterapia adyuvante ha demostrado una reducción del riesgo de recaída en un 30% en los estadios III, mientras que su beneficio en estadios más precoces no está tan claro (Quasar Collaborative Group et al, 2007; O'Connell et al, 2004). La indicación de un tratamiento adyuvante en los CC estadio II se basa de manera exclusiva en la presencia de factores de riesgo clínicos como: a) menos de 12 ganglios linfáticos regionales analizados, b) presencia de invasión linfovascular o perineural, c) histología de adenocarcinoma pobremente diferenciado, d) diagnóstico inicial en forma de obstrucción o perforación y/o e) un estadiaje patológico T4 (Petersen et al, 2002).

Con el fin de realizar un tratamiento más adecuado, es necesario poder seleccionar aquellos pacientes con estadios precoces de la enfermedad que se podrían beneficiar más de un tratamiento adyuvante, así como, determinar también si existe algún marcador predictor de mal pronóstico en pacientes con estadios más avanzados.

Por ello, en esta tesis doctoral se parte de la hipótesis de que: *el estudio retrospectivo mediante técnicas de proteómica diferencial de muestras de cáncer de colon (CC) incluidas en parafina de pacientes en distintos estadios, permitirá identificar algún/as proteína/s asociada/s a un curso clínico particularmente agresivo. Esta/s proteína/s podría considerarse un biomarcador para los pacientes con CC en estadio localizado y localmente avanzado que podrían beneficiarse de un tratamiento complementario a la cirugía.*

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo principal

Identificar mediante técnicas de proteómica un/os biomarcador/es de mal pronóstico que permitan seleccionar pacientes con CC en estadios I, II y III de alto riesgo.

### 2.2. Objetivos secundarios

1. Definir las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía. Se considera recaída la reaparición de la neoplasia localizada o a distancia en  $\leq 5$  años desde la cirugía.
2. Definir las características patológicas de los tumores de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía.
3. Determinar las alteraciones moleculares (MSI, *RAS* y *BRAF*) de los tumores de los pacientes incluidos en el estudio que se asocian o no a recaída en  $\leq 5$  años desde la cirugía
4. Evaluar mediante proteómica la expresión diferencial de proteínas en función de la lateralidad del CC.

# Material y Métodos

---



# MATERIAL Y MÉTODOS

## 1. ASPECTOS ÉTICOS

Las muestras tumorales utilizadas en esta tesis doctoral se encuadran en el proyecto de investigación “Uso de proteómica para la determinación de biomarcadores en cáncer de colon localizado y localmente avanzado”, cuya investigadora responsable es Soledad Cameselle García. Este proyecto tiene la evaluación positiva del Comité de Ética de la Investigación de Galicia de Pontevedra-Vigo-Ourense (código: 2020/565) y se cuenta con el consentimiento informado de todos los pacientes incluidos en el estudio (ANEXO).

## 2. DISEÑO

Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo.

## 3. ÁMBITO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS PACIENTES Y MUESTRAS

### 3.1. Ámbito del estudio

El estudio se realizó con el tejido tumoral excedente de diagnóstico de pacientes intervenidos por carcinoma colorrectal (CCR) en el Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO). Dichas muestras de tejido se habían fijado en formaldehído tamponado al 10% e incluido en parafina (FFIP) según los procedimientos de rutina en el Servicio de Anatomía Patológica de la institución. Las muestras se enviaron al Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS), en cuyo Servicio de Anatomía Patológica se confirmó representatividad del tejido tumoral y se realizaron las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares, mientras que el análisis proteómico se realizó en la plataforma de proteómica del Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS) del CHUS.

### 3.2. Selección de los participantes

Los pacientes se seleccionaron a partir del registro asistencial del Servicio de Oncología Médica del CHUO utilizando el sistema informático de historia clínica electrónica (IANUS) del Servicio Gallego de Salud (SERGAS). Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes intervenidos en el CHUO durante los últimos 10 años (2010 -2020) que tenían en el

momento de la cirugía un diagnóstico de CC en estadios I, II y III de la AJCC (Amin et al, 2017) (Tabla 11) y que habían fallecido, estaban vivos con la enfermedad, o que estaban vivos y libres de la enfermedad tras un seguimiento clínico de al menos 60 meses tras el diagnóstico. Además, los criterios adicionales de inclusión en este proyecto de tesis han sido: 1) edad igual o mayor de 18 años; 2) haber sido intervenido de un CC estadio I, II o III en el CHUO; y 3) tener firmado un documento de consentimiento informado, o en el caso de pacientes fallecidos ausencia manifestación en contra en la historia clínica. El documento de consentimiento informado se obtuvo durante las consultas de seguimiento y/o tratamiento en los Servicios de Digestivo y Oncología Médica del CHUO. Los datos de los/as pacientes y muestras tumorales fueron pseudonimizados. La selección de los pacientes y la obtención del documento de consentimiento informado ha sido realizada por la doctoranda (Soledad Cameselle García - SCG)

### **3.3. Datos clínicos**

Los datos clínicos y los informes anatomopatológicos de los/as pacientes seleccionados se han obtenido a partir de la revisión de la historia clínica electrónica utilizando el programa informático IANUS. De cada paciente se recogieron los siguientes datos: edad en el momento del diagnóstico del tumor de colon, sexo, fecha de nacimiento, fecha de cirugía, tipo de cirugía (tipo de resección, cirugía urgente o no urgente), localización del tumor (colon derecho, transversal, descendente y colon sigmoide), tamaño tumoral, invasión vascular, invasión perineural, tipo y subtipo tumoral, grado de diferenciación, número de ganglios evaluados, número de ganglios metastásicos, depósitos tumorales, metástasis a distancia, obstrucción o perforación al diagnóstico, estado de los márgenes quirúrgicos, estadio tumoral, si ha recibido o no tratamiento complementario, fecha de la primera recaída tras la cirugía, localización de la recaída, y el estado del paciente tras su seguimiento (vivo y sano, vivo con cáncer de colon, o muerto por dicha patología o por otra causa). También se investigaron los niveles séricos prequirúrgicos de CEA en el momento del diagnóstico. El seguimiento se realizó hasta el día de la última consulta o muerte del paciente. Los datos clínicos (así como los patológicos, inmunohistoquímicos y moleculares) se incorporaron a un cuaderno de recogida de datos (CRD) de forma pseudonimizada, de acuerdo con la Ley orgánica 3/2018, del 5 de diciembre, de protección de datos personales y de garantía de los derechos digitales, la Ley 14/2007 de 3 de julio de Investigación Biomédica (LIBM) y el Real Decreto 1716/2011, de 11 de noviembre. Toda esta recogida de información ha sido realizada por la doctoranda (SCG).

### **3.4. Selección de las muestras tumorales**

Los bloques de parafina que contenían muestras de tejido tumoral habían sido fijados en formaldehído tamponado al 10% y luego incluido en parafina, tras los pasos previos en alcohol etílico de graduación creciente (para su deshidratación), según los procedimientos de rutina del Servicio de Anatomía del CHUO. En el Servicio de Anatomía Patológica del

CHUS se realizó una preparación histológica adicional de cada bloque recibido, que se tiñó con hematoxilina-eosina (H&E) como control para poder confirmar la representatividad del tejido tumoral remitido. En cada caso, se confirmó la idoneidad del bloque de parafina con tejido tumoral para la realización del estudio revisando esa preparación histológica (H&E) adicional, simultáneamente la doctoranda (SCG) y uno de los directores de la tesis (Dr. Ihab Abdulkader Nallib - IAN) utilizando un microscopio de doble cabezal (Olimpus BX41TF, Tokyo, Japón).

### 3.5. Datos anatomopatológicos

Las características anatomopatológicas tumorales de los casos identificados se han obtenido a partir de los datos de los informes de Anatomía Patológica del CHUO (tipo y subtipo tumoral, márgenes del tumor, la invasión vascular venosa, linfática o perineural). En el CHUS se revisó una preparación histológica teñida con H&E de cada caso de la tesis, simultáneamente la doctoranda (SCG) y uno de los directores de la tesis (IAN) utilizando un microscopio de doble cabezal (Olimpus BX41TF, Tokyo, Japón) siguiendo los criterios de la 5ª edición de la Clasificación de Tumores del Sistema Digestivo de la Organización Mundial de la Salud (OMS). En esta fase se revisó el tipo y subtipo histológico de adenocarcinoma (Tabla 4 en introducción), el grado tumoral (Tablas 5 y 6 en introducción), así como la representatividad de la muestra para el resto de las determinaciones del proyecto de tesis. También se marcó en cada preparación el área de tejido tumoral como referencia para obtener posteriormente muestra de tumor para el estudio molecular y proteómico mediante macro-microdisección a partir nuevas secciones de cada bloque de parafina correspondiente.

## 4. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

El estudio de diferentes marcadores inmunohistoquímicos se realizó sobre secciones de 4- $\mu$ m de espesor a partir de cada bloque con tejido tumoral FFIP usando el sistema EnVision FLEX/HRP (Dako, Glostrup, Dinamarca) y utilizando como cromógeno una disolución de 3,3'-diaminobencidina (DAB) (GC80611-2; Dako) en un inmunoteñidor automático (Dako Omnis; Agilent, Santa Clara, CA, Estados Unidos). Se utilizaron los anticuerpos primarios para los siguientes antígenos: MLH1 (MutL Protein Homolog 1), MSH2 (MutS Protein Homolog 2), MSH6 (MutS Protein Homolog 6), PMS2 (Postmeiotic Segregation Increased 2), SATB2 (Special AT-rich sequence-binding protein 2), CDX2 (Caudal type homeobox 2), p53 (tumor protein p53) y Ki-67 (Tabla 12). El sistema EnVision FLEX/HRP es extremadamente sensible pues utiliza un polímero de dextrano de alto peso molecular al que se conjugan de forma covalente un gran número de moléculas de peroxidasa y anticuerpo secundario. Este sistema evita los falsos positivos que se producen cuando se utilizan sistemas avidina-biotina por la presencia de biotina endógena (Vyberg et al, 2016). El

sistema EnVision FLEX/HRP incluye los siguientes pasos: 1) bloqueo de la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% durante 5 minutos (FLEX peroxidase, Dako); 2) lavado con una disolución de fosfato salino tamponado (PBS); 3) incubación con los anticuerpos primarios a temperatura ambiente durante 20 minutos; 4) lavado con PBS; 5) aplicación del enlazador; 6) incubación con el sistema de polímeros de dextrano durante 20 minutos; 7) lavado con PBS; y 8) visualización del marcaje inmunohistoquímico con una disolución cromogénica de DAB durante 10 minutos. La conversión enzimática de la DAB produce un precipitado de color marrón que permite identificar la zona del antígeno en la sección de la preparación histológica. El estudio incluyó controles internos positivos y negativos. La mucosa de colon normal adyacente al tumor sirvió como tejido de control interno positivo para MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, CDX2, SATB2 y Ki67, así como control negativo para p53. Las células endoteliales y linfocitos fueron controles positivos adicionales para MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 y Ki67, y negativos para p53.

Tabla 12. Características de los anticuerpos, dilución y recuperación antigénica.

<i>Antígeno</i>	<i>Clon</i>	<i>Tipo de anticuerpo</i>	<i>Fabricante</i>	<i>Dilución</i>	<i>Recuperación antigénica</i>
MLH1	ES05	Ratón, IgG1	Dako, Glostrup, Dinamarca	RTU*	pH 9
MSH2	FE11	Ratón, IgG1, kappa	Dako	RTU	pH 9
MSH6	EP49	Conejo, IgG	Dako	RTU	pH 9
PMS2	EP51	Conejo, IgG	Dako	RTU	pH 9
SATB2	EP281	Conejo, IgG	Gennova Scientific, Sevilla, España	1:50	pH 9
CDX2	DAK-CDX2	Ratón, IgG1, kappa	Dako	RTU	pH 9
P53	DO-7	Ratón, IgG2b, kappa	Dako	RTU	pH 9
Ki-67	MIB-1	Ratón, IgG1, kappa	Dako	RTU	pH 6

\*RTU ("ready-to-use"), listo para usar.

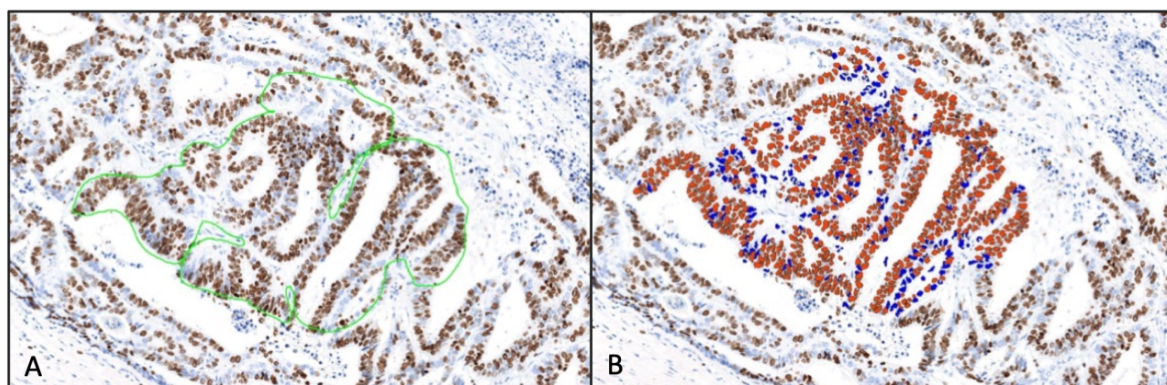
Las preparaciones de inmunohistoquímica fueron evaluadas de forma conjunta por la doctoranda y el Dr. Abdulkader utilizando el microscopio óptico de doble cabezal. En los casos de discrepancia se reevaluó la preparación hasta lograr un consenso. La valoración se realizó sólo sobre células tumorales intactas y en los casos de tinción dudosa, el resultado se consideró negativo para dicho marcador.

En el análisis de expresión inmunohistoquímica de las proteínas codificadas por los genes reparadores de errores de replicación del ADN (mismatch repair, MMR) incluidas en el estudio (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2*), se consideró positividad (expresión conservada/normal) cuando había tinción nuclear aunque esta tinción fuese solo en parte de la población tumoral (tinción parcheada) o de intensidad débil; los casos negativos tenían pérdida completa de la expresión nuclear en todas las células tumorales (pérdida de expresión) (Rekhtman N et al, 2019).

Para CDX2 y SATB2 se consideró positividad (expresión conservada) la tinción nuclear de las células tumorales con independencia del porcentaje de células tumorales positivas (Rekhtman N et al, 2019).

La inmunotinción para p53 se considera un marcador subrogado de la mutación del gen *TP53* (Rekhtman N et al, 2019). Por ello, se consideró un patrón de tinción normal (“wild-type”/no mutado), cuando el tejido tumoral mostró alternancia de células negativas y positivas (con frecuencia débil en intensidad). Por el contrario, se consideró tinción positiva (mutación de *TP53*) cuando se observó cualquiera de los 2 siguientes patrones: a) patrón de tinción “block”, cuando se tiñeron de forma fuerte y difusa todos los núcleos de las células tumorales (refleja la acumulación de una proteína p53 anormal), y b) patrón de tinción “null”, cuando había ausencia completa de tinción nuclear en el tumor (con positividad en el control interno), pues refleja falta de la proteína p53 por la mutación.

Para la evaluación de Ki-67 solo se consideró positiva la tinción nuclear y el resultado se expresó en porcentaje de células positivas del total de células tumorales evaluadas (índice de Ki-67). Para el conteo de Ki-67, la doctoranda e IAN seleccionaron conjuntamente las áreas tumorales con mayor positividad para Ki-67, las cuales fueron marcadas en la preparación. Posteriormente dichas preparaciones fueron digitalizadas mediante el escáner de portaobjetos de microscopio PathScan combi (Excilone, Elancourt, Francia) y luego en cada caso se contabilizó el índice de Ki-67 sobre las áreas tumorales seleccionadas utilizando el programa del sistema de análisis de imagen propio del sistema PathScan combi (Figura 11).



**Figura 11.** Evaluación del índice de Ki-67 en los tumores. En este estudio, el porcentaje de células tumorales positivas para anticuerpo anti-Ki-67 (índice de Ki-67), se evaluó con un sistema automatizado de análisis de imagen (PathScan combi). Arriba, en la imagen A se pueden observar los núcleos positivos para Ki-67 (teñidos de marrón) y el área tumoral seleccionada con el ratón (línea verde) para cuantificar Ki-67. En la imagen B, el área a cuantificar muestra los núcleos positivos para Ki-67 en rojo y el resto de los núcleos en azul (negativos), según el algoritmo del sistema de análisis de imagen.

## 5. ANÁLISIS MOLECULAR

De cada caso (cada bloque de parafina) se marcó en la H&E correspondiente la zona de tejido tumoral. Luego, se obtuvo tejido tumoral mediante macro-microdissección de secciones de los bloques de tejido tumoral de 10 µm de espesor para la extracción del ADN. El ADN se obtuvo utilizando un kit de preparación de muestras de ADN (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza) según las instrucciones del fabricante y se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La doctoranda (SGF) con ayuda de los técnicos especialistas realizó los estudios moleculares de cada uno de los genes (extracción del ADN, PCR, e interpretación de los resultados).

### 5.1. Estudio de *BRAF*, *NRAS* y *KRAS*

Se analizaron las muestras tumorales para detectar mutaciones en los genes *BRAF*, *NRAS* y *KRAS* mediante PCR en tiempo real utilizando los sistemas automatizados (kits) Cobas *BRAF/NRAS* Mutation Test (Roche) y Cobas *KRAS* Mutation Test (Roche) con el analizador Cobas z 480 (Roche), que incluye software específico para la detección y amplificación de ácidos nucleicos basado en placas. Este analizador está diseñado para usarse como un sistema de diagnóstico que proporciona amplificación y detección por PCR en tiempo real de muestras de tejido FFIP, e incluye también controles positivos y negativos. El test comercial para la mutación *BRAF/NRAS* de Roche es una prueba de PCR en tiempo real específica de alelo para la detección e identificación cualitativa de mutaciones de los exones 11 y 15 en el gen del protooncogén *B-Raf* (*BRAF*) y mutaciones de los exones 2, 3, y 4 en el gen homólogo del oncogén viral *RAS* del neuroblastoma (*NRAS*) a partir de muestras de tejido FFIP. El test comercial para *KRAS* de Roche detecta las mutaciones en los codones 12, 13 y 61 del gen *KRAS*.

### 5.2. Estudio de *TERTp*.

Para la determinación de las variantes en los 2 hot-spots (-146C y -124C) ya descritos de la región promotora del gen *TERT*, se ha realizado mediante amplificación (PCR) de una región de 163 pares de bases que incluye dichos hot-spots utilizando los cebadores sentido con secuencia 5'-CagCgCTgCCTgAAACTC-3' y antisentido con secuencia 5'-gTCCTgCCCCTTACCTT-3' (Melo et al, 2014). Posteriormente se ha realizado la reacción de secuencia utilizando los mismos primers que en la PCR, y la secuenciación del producto en un secuenciador de capilares Beckman-Coulter CEQ8000 (Fullerton, CA). El análisis del cromatograma ha sido realizado con el programa gratuito Chromas (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Australia).

## 6. ANÁLISIS PROTEÓMICO

El análisis proteómico se realizó mediante macro-microdissección de secciones 10  $\mu\text{m}$  de espesor de los bloques de tejido tumoral que había sido FFIP, tras pasos previos en alcohol etílico de graduación creciente (para su deshidratación), según los procedimientos de rutina del Servicio de Anatomía del CHUO. Se realizó un estudio de proteómica diferencial tanto cuantitativa como cualitativa del tejido tumoral empleando un equipo triple TOF 6600 de Sciex (SCIEX, Foster City, CA, Estados Unidos), que permite realizar un análisis cualitativo (modo dependiente de datos-DDA) y cuantitativo a través del método de adquisición SWATH-MS. La doctoranda (SGF), bajo supervisión de su directora de tesis (Susana Bravo-SB) realizó los diferentes procesos de estudios proteómicos tanto cualitativos como cuantitativos (desparafinado, digestión, introducción de la muestra en los equipos y análisis de los resultados).

Para este análisis proteómico se realizaron los siguientes pasos:

1. *Desparafinado*: Se procedió al desparafinado de las muestras y posteriormente a la extracción de las proteínas según el protocolo publicado por nuestro grupo de investigación (García-Vence et al, 2020; García-Vence et al, 2021). A continuación cada 100 microgramos de proteína se pre-concentraron en un gel SDS-PAGE para su digestión con tripsina.
2. *Análisis cualitativo*: Para el análisis cualitativo los péptidos se separaron usando una columna de fase reversa en un gradiente de 90 minutos empezando con 5% de acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico (fase B) y 95 % de agua con 0,1% de ácido fórmico (fase A) hasta el 90% B y 10% de A. Luego, los péptidos ionizados se volcaron directamente en el espectrómetro de masas que funciona en modo dependiente de datos (DDA). Los datos de MS (masas) y MSMS (masas/masas) se lanzaron contra las bases de datos de proteínas humanas (uniprot, <https://www.uniprot.org/>) con ayuda del programa ProteinPilot (software 5.0.1, ABSciex, Madrid, España) para la identificación de las proteínas. Consideraremos con buena identificación aquellas proteínas identificadas con un FDR (False Discovery Rate) <1%, es decir con menos del 1% de error.
3. *Análisis cuantitativo*: Se realizó un análisis cuantitativo SWATH-MS. Primero se realizó una librería usando los métodos anteriormente descritos. Para ello se usaron “pooles” de las muestras pertenecientes a cada grupo. Una vez obtenida esta librería, se utilizó para crear el método de búsqueda SWATH-MS (método independiente de datos IDA), en el que utilizamos 100 ventanas con el fin de buscar todos los péptidos presentes en la librería y así poder cuantificarlos. Los tiempos de retención se ajustaron en la aplicación Peakview y se procedió a la extracción de las áreas de cada una de las proteínas en cada muestra. Estas áreas correspondieron a 10 péptidos por proteína y 7 rupturas por péptido. Las áreas se analizaron en el programa Marker View en el que se realizó el análisis de lo

componentes principales (PCA) para ver las diferencias entre grupos y los análisis estadísticos t-student. Así consideraremos diferencialmente expresadas las proteínas con un  $p < 0,05$  y FC (Fold Change)  $> 1,5$  o  $< 0,6$ . Por otra parte las áreas normalizadas del SWATH-MS se obtuvieron con el GraphPad Prism 9, para visualizar mejor los cambios de interés y se analizaron mediante un test Anova.

4. *Análisis funcional*: El análisis funcional se realizó mediante el software de acceso abierto FunRich (<http://www.funrich.org>), que es una herramienta que permite realizar análisis de enriquecimiento funcional. Por otro lado, para realizar el análisis de interacción entre las proteínas identificadas usamos el programa STRING (<https://string-db.org>) seleccionando en el apartado de “settings” en todos los casos la confianza más alta/estricta entre interacciones (0,9000).

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis estadístico los datos descriptivos del análisis se expresan en medias y desviación estándar, o en percentiles, cuando se trata de variables cuantitativas, así como en frecuencias absolutas y porcentajes en el caso de variables cualitativas.

En el análisis bivariado, para investigar si existían diferencias entre las diferentes variables a estudio y la recidiva tumoral, se utilizó la prueba Chi-cuadrado en el caso de que estas variables fueran cualitativas, o las pruebas t de Student o la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, si las variables eran cuantitativas. Para el análisis de supervivencia, teniendo en cuenta el tiempo hasta la aparición de la recidiva, sobre las variables predictoras, algunas de ellas previamente categorizadas, se utilizaron las curvas de Kaplan-Meier. Para la comparación entre curvas de supervivencia se utilizó la prueba de Log-rank.

En el análisis multivariado, para investigar aquellas variables asociadas a un peor pronóstico de la enfermedad, se construyeron modelos de riesgos proporcionales de Cox. A partir de los coeficientes se estimaron los riesgos con sus intervalos de confianza al 95%.

Para el análisis de los resultados se utilizó el software R, que está disponible de forma libre en cran-R. Para realizar los gráficos se utilizaron los paquetes “ggplot2” y “survminer”, mientras que para el análisis de la supervivencia se usó el paquete “survival”. Se consideraron significativos los valores de p inferiores a 0,05.

# Resultados y Discusión

---



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. DATOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

En este estudio se han evaluado los casos de 73 pacientes con cáncer de colon (CC) con estadios patológicos I-III intervenidos en el Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHOU). Todos los casos se agruparon en dos grupos/categorías:

1. *Sin recaída*: aquellos pacientes que no habían presentado recaída (n= 25).
2. *Recaída*: aquellos pacientes que habían presentado una recaída durante los 5 primeros años tras la intervención (n= 48).

#### 1.1. Edad y sexo

*Edad*: la mediana de edad de los pacientes incluidos en el estudio fue de 71 años (44-89) (Tabla 13). En el grupo *Sin Recaída* esta mediana fue de 69 años (rango 44-85) y en el grupo *Recaída* de 71 años (48-89).

Tabla 13. Distribución por edad en el total de la población y en los grupos *Sin recaída* y *Recaída*.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Con recaída (n=48)	<i>p</i>
Edad media (desv. estándar; rango)	69,53 (8,6; 44-89)	68,12 (8,8; 44-85)	70,27 (8,5; 48-89)	0,290
Percentil 25	65	63,5	66	
Percentil 50	71	69	71	
Percentil 75	74	72,50	75,50	

*Sexo*: en relación con el sexo, el 57% de los pacientes incluidos fueron hombres y el 42,4% mujeres (Tabla 14). En el grupo *Sin recaída* el 52% de los pacientes fueron hombres y el 48% mujeres. En el grupo *Recaída* el 60,4% fueron hombres y el 39,6% eran mujeres.

Tabla 14. Distribución por sexo en el total de la población y en los grupos *Sin recaída* y *Recaída*.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Con recaída (n=48)	<i>p</i>
Sexo				0,490
Hombre	42 (57,5%)	13 (52%)	29 (60,4%)	
Mujer	31 (42,4%)	12 (48%)	19 (39,6%)	

En los últimos años, se ha experimentado un descenso en la incidencia de CCR en los países más desarrollados debido a la implementación de los programas de cribado y detección precoz de CCR (Arnold et al, 2020; Siegel et al, 2023). Sin embargo, existe un aumento en la incidencia del CC en adultos jóvenes (menores de 50 años) en ambos sexos en países como Estados Unidos (Siegel et al, 2023), Canadá (Patel et al, 2016; Heer et al, 2024), Australia (Young et al, 2015) y Europa (Vuik et al, 2019). La incidencia del CCR está aumentando también en poblaciones tradicionalmente con baja incidencia como el África subsahariana (Moen et al, 2024), probablemente en relación con la adopción de hábitos de vida occidentales.

En esta tesis doctoral se estudió una serie de 73 pacientes con CC en estadios I-III que incluyó un grupo de 25 pacientes *Sin recaída* y otro de 48 con *Recaída* que tenían una edad media de 69,53 años y en la que el 57,5% eran hombres. Las cifras de nuestra serie del CHUO son similares a las obtenidas a través del REGAT (REGAT, 2023) y a las descritas para el CCR a nivel global (Arnold et al, 2020; Siegel et al, 2023). También coinciden con las de otra serie reciente de 94.945 pacientes con diagnóstico de CC en estadios I-III y N0 en Estados Unidos, que evidenció una edad media 68,58 años, aunque con ligero predominio de las mujeres (51,1%) (Dourado et al, 2024). Estos datos apoyan la representatividad de la serie para el presente estudio.

## 1.2. Localización tumoral

Considerando el total de los pacientes de la serie, el 38,3 % de los tumores se localizaron en el lado derecho: el 31,5% localizados en el colon ascendente y el 6,8% en el colon transversal (Tabla 15). El 61,6% de los tumores se presentaron en el lado izquierdo: el 9,5% localizados en el colon descendente y el 52% en el colon sigmoide (Figura 12).

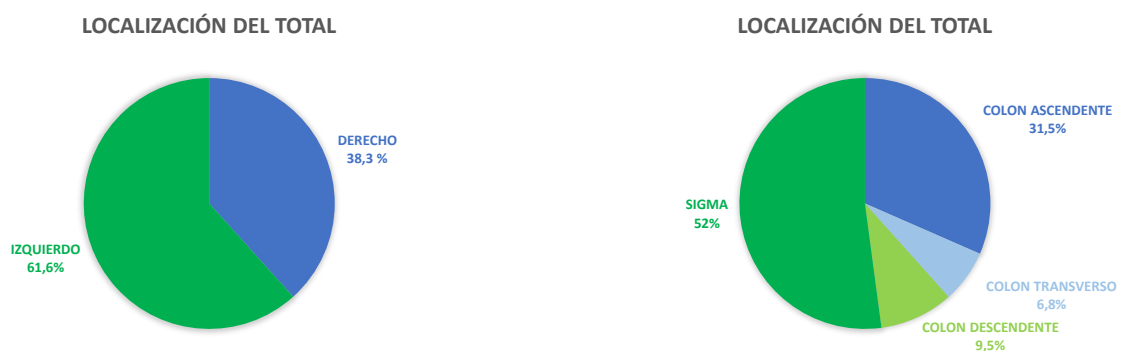


Figura 12. Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el total de la población estudiada.

En el grupo *Sin recaída* el 40 % de los tumores fueron del lado derecho: el 36 % localizados en el colon ascendente y el 4% en el colon transversal. El 60% de los tumores de este grupo fueron tumores del lado izquierdo: el 4% localizados en el colon descendente y el 56% en el colon sigmoide (Figura 13).



Figura 13. Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el grupo Sin recaída.

En el grupo *Recaída* el 37,5% de los tumores fueron del lado derecho: el 29,2% localizados en el colon ascendente y el 8,3% en el colon transverso. El 62,5% de los tumores de este grupo fueron tumores del lado izquierdo: el 50% en el colon sigmoide y el 12,5% localizados en el colon descendente (Figura 14).

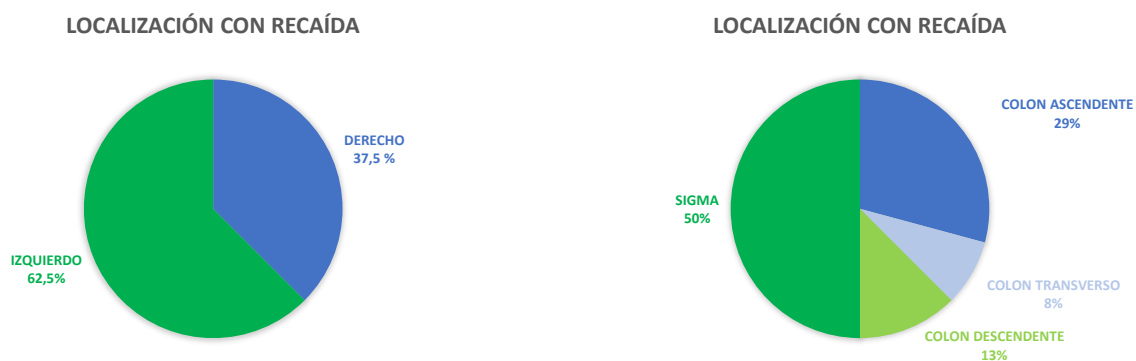


Figura 14. Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el grupo *Recaída*.

Tabla 15. Distribución por localización y lateralidad de los tumores analizados en el total de la población, en el grupo *Sin recaída* y en el grupo *Recaída*.

Localización	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	p
C. ascendente	23 (31,5%)	9 (36%)	14 (29,2%)	0,563
C. transverso	5 (6,8%)	1 (4%)	4 (8,3%)	
C. descendente	7 (9,5%)	1 (4%)	6 (12,5%)	
C. sigmoide	38 (52,0%)	14 (56%)	24 (50%)	
<b>Colon DERECHO</b> C. ascendente + C. transverso	28 (38,3%)	10 (40%)	14 (37,5%)	0,701
<b>Colon IZQUIERDO</b> C. descendente+ C. sigmoide	45 (61,6%)	15 (60%)	30 (62,5%)	

Existe una mayor porcentaje de tumores localizados en el lado izquierdo del colon (61%). En otras series publicadas de pacientes en Estados Unidos, se ha evaluado la localización del tumor en función de la edad al diagnóstico. Se ha descrito una tendencia a una localización rectal y en colon distal (42% y 30%) en los pacientes menores de 50 años (Siegel et al, 2023).

Aunque se ha descrito un mayor riesgo de muerte en los pacientes con tumores de colon proximal (derecho) en comparación con los cánceres del lado izquierdo, independientemente de las características histológicas y el estado mutacional del gen *BRAF* (Loupakis et al, 2015; Petrelli et al, 2017), no se encontró en nuestra serie asociación significativa entre localización tumoral específica o lateralidad y el grupo de pacientes con recaída.

### 1.3. Tipo de cirugía

Según el tipo de cirugía realizada en los pacientes de nuestra serie se establecieron 4 grupos: 1) hemicolectomía derecha, 2) hemicolectomía izquierda, 3) resección segmentaria del colon transversal y 4) sigmoidectomía (Tabla 16). También se evaluó si la cirugía fue urgente o no (Tabla 16).

1. *Técnica quirúrgica*: el 32,8% de los pacientes fue intervenido mediante una hemicolectomía derecha (un 36% en el grupo *Sin recaída* y un 31% de los pacientes en el grupo *Recaída*). Al 5,48% de los pacientes se les realizó una resección segmentaria del colon transversal, lo que supuso un 4% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* y un 6,3% en el grupo con *Recaída*. El 15% de los pacientes fue intervenido mediante una hemicolectomía izquierda: un 16% de los pacientes del grupo *Sin recaída* y un 14,6% de los pacientes en el grupo *Recaída*. En el 46,5% de los pacientes se realizó una sigmoidectomía: un 44% de los pacientes del grupo *Sin recaída* y un 47,9% de los pacientes en el grupo *Recaída*.
2. *Cirugía urgente*: el 19,1% fueron intervenidos de urgencia. En el análisis por grupos sólo un 4% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* fue intervenido de urgencia frente al 27,1% en el grupo *Recaída*. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

Tabla 16. Distribución por tipo de cirugía y si fue una intervención de urgencia en el total de la población estudiada y en los grupos *Sin recaída* y *Recaída*.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Con recaída (n=48)	<i>p</i>
<b>Tipo de cirugía:</b>				
H. derecha	24 (32,8%)	9 (36%)	15 (31,3%)	0,325
H. izquierda	11 (15,0%)	4 (16%)	7 (14,6%)	
R. segm. c. transv	4 (5,48%)	1 (4%)	3 (6,3%)	
Sigmoidectomía	34 (46,5%)	11 (44%)	12 (47,9%)	
<b>Cirugía urgente</b>				0,017
Si	14 (19,1%)	1 (4%)	13 (27,1%)	
No	59 (80,8%)	24 (96%)	35 (72,9%)	

En la presente serie no se observaron diferencias significativas en relación al tipo de cirugía entre los grupos *Recaída* o *Sin recaída*. En relación con la cirugía urgente, se ha descrito que aproximadamente entre el 15% y el 40 % de los pacientes con CCR debutan como urgencia quirúrgica, habitualmente debido a una perforación u obstrucción intestinal (Chen et al, 2017; Biondo et al, 2019; Biondo et al, 2008). La resección urgente del CC se realizó el 19% de los pacientes de nuestra serie en comparación con el 13% de una serie canadiense de CC en estadios I-III (Wanis et al, 2018), el 16.2% en una serie estadounidense de pacientes en estadio III con obstrucción (Dahdaleh et al, 2018), el 22% en una serie británica de pacientes en estadio I-IV (Banks et al, 2024) y el 30% de una serie de la Base de Datos Nacional de Cáncer 2006-2012 de Estados Unidos (Xu et al, 2017). En nuestra serie, la cirugía urgente se asoció con el grupo *Recaída* (4% versus 27.1%,  $p=0,017$ ) y menor supervivencia libre de enfermedad (SLE) (Figura 22). Esto coincide con los reflejado en publicaciones previas en las que la resección urgente del CC también se asoció a una menor supervivencia y una mayor morbilidad postoperatoria (Wanis et al, 2018; Dahdaleh et al, 2018; Xu et al, 2017; McArdle et al, 2004; Chen et al, 2017). Nuestros hallazgos son coherentes con las recomendaciones de las guías NCCN (National Comprehensive Cancer Network) que categorizan la perforación u obstrucción como característica de alto riesgo en CC (Benson et al, 2024).

#### 1.4. Estadio patológico

Los resultados en relación con el estadio patológico se reflejan en la Tabla 17. En el total de la muestra un 2,7% de los pacientes tenían tumores estadio I, el total de estos casos se encontraban en el grupo *Recaída*. Se incluyeron un 45,15% de pacientes estadio II y un 52% de pacientes estadio III. El grupo *Sin recaída* presentaba un 52% de tumores estadio II y un 48% de estadio III. El grupo *Recaída* presentó un 41,6% de tumores estadio II y un 54% de neoplasia estadio III. El 24% de los pacientes incluidos en el grupo *Sin recaída* y un 18,7% en el grupo *Recaída* presentaron un estadio II de alto riesgo (T4a/b, N0). En cuanto a la afectación ganglionar el 65,47% en el total de la población estudiada presentó 1-3 ganglios afectos (N1 a-c) y un 12,33 % presentó más de 3 ganglios afectos (N2a-b). En el grupo *Sin recaída* un 44% fueron catalogados como N1 y un 8% N2. En el grupo *Recaída* un 41,65% fueron catalogados como N1 y el 14,56% como N2.

La presencia de tumor residual microscópico (margen quirúrgico positivo - R1) se detectó en 2 (2,74%) de los pacientes, que pertenecían al grupo de *Recaída* (4,17%).

Tabla 17. Distribución de los pacientes según estadiaje, profundidad de la afectación tumoral (T), afectación ganglionar (N), número de ganglios afectados, presencia o no de depósitos tumorales y la afectación de margen tras la intervención (AJCC, 8 <sup>o</sup> edición*).				
	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Con recaída (n=48)	P
<b>Estadio:</b>				
I	2 (2,7%)	0 (0%)	2 (4,1%)	0,540
IIA	18 (24,6%)	7 (28%)	11 (22,9%)	
IIB	10 (13,7%)	4 (16%)	6 (12,5%)	
IIC	5 (6,85)	2 (8%)	3 (6,2%)	
IIIA	4 (5,48%)	1 (4%)	3 (6,2%)	
IIIB	28 (38,3%)	11 (44%)	17 (35,4%)	
IIIC	6 (8,22%)	0 (0%)	6 (12,5%)	
<b>T:</b>				
T1	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	0,463
T2	5 (6,85%)	1 (4%)	4 (8,3%)	
T3	39 (53,42)	17 (68%)	22 (45,8%)	
T4a	21 (28,7%)	5 (20%)	16 (33,3%)	
T4b	7 (9,59%)	2 (8%)	5 (10,4%)	
<b>N:</b>				
N0	33 (45,2%)	12 (48%)	21 (43,75%)	0,144
N1a	17 (23,29%)	6 (24%)	11 (22,9%)	
N1b	11 (15,07%)	2 (8%)	9 (18,75%)	
N1c	3 (4,11%)	3 (12%)	0 (0%)	
N2a	7 (9,59%)	2 (8%)	5 (10,4%)	
N2b	2 (2,74%)	0 (0%)	2 (4,16%)	
<b>Metástasis ganglionares:</b>				
0	33 (45,20%)	12 (48%)	21 (43,75%)	0,247
1	20 (27,40%)	9 (36%)	11 (22,9%)	
2	8 (10,96%)	1 (4%)	7 (14,6%)	
3	3 (4,11%)	1 (4%)	2 (4,17%)	
4	3 (4,11%)	0 (0%)	3 (6,25%)	
5	2 (2,74%)	2 (8%)	0 (0%)	
6	2 (2,74%)	0 (0%)	2 (4,17%)	
7	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
12	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
<b>Depósitos</b>				
Si	3 (4,11%)	3 (12%)	0 (0%)	
No	70 (95,89%)	22 (88%)	48 (100%)	
<b>R1</b>	2 (2,74%)	0 (0%)	2 (4,17%)	0,301

\*Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., eds. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.

En la presente serie no se encontraron diferencias significativas en relación al estadiaje pTNM entre los 2 grupos *Recaída* y *Sin recaída*, lo que apoya la validez de la serie para los objetivos planteados en la tesis.

En la actualidad existe un debate sobre si los márgenes R1 representan un fallo técnico en el momento de la cirugía o son el indicador de una enfermedad más agresiva (Smith et al, 2024). Un 2,7% de los pacientes incluidos en nuestra serie presentaron malignidad microscópica del margen de resección (R1). Los dos casos R1 de nuestra serie eran adenocarcinomas NOS de bajo grado con la expresión inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras conservada. Uno de estos casos (estadio IIIC), estaba perforado al diagnóstico y representó uno de los dos únicos casos de la serie que albergaba la co-mutación de *TP53* y del promotor de *TERT*, no pudiendo excluirse la hipótesis de una biología tumoral más agresiva en estos tumores.

Una serie danesa de pacientes con CCR estadio III mostró un 5,2% de pacientes con afectación R1. El análisis multivariable realizado en dicha serie mostró una menor supervivencia en los pacientes con: márgenes R1, edad avanzada, estadio pN, invasión perineural e invasión venosa en la muestra quirúrgica (Smith et al, 2024). En otra serie de pacientes con CC, también en estadio III, la afectación de los márgenes R1, se asoció a mayor probabilidad de metástasis a distancia (Smith et al, 2022). Una serie británica (Khan et al, 2015) mostró una tasa de R1 del 10,4% en las resecciones electivas y de hasta el 23,6% en las resecciones de urgencia, estas tasas no se vieron influidas por la introducción de la cirugía laparoscópica. La asociación de R1 con peor pronóstico en las diferentes series (Khan et al, 2015; Smith et al, 2024; Smith et al, 2022) es coherente con su presencia exclusiva en el grupo *Recaída* en nuestra serie.

### 1.5. Factores de mal pronóstico

La presencia de factores clínicos de mal pronóstico se resume en la Tabla 18. Un 80,82% de la población total presentaba algún factor de mal pronóstico. El 68% de los pacientes del grupo *Sin recaída* presentaba algún factor de mal pronóstico frente a un 87,5% en el grupo *Recaída*. Los resultados en relación con factores clásicos de mal pronóstico fueron los siguientes:

1. *Perforación*: el 5,48% (4) de los pacientes debutó clínicamente con datos de perforación del tumor, todos ellos en el grupo *Recaída*.
2. *Obstrucción*: el 17,81% de los pacientes debutó clínicamente en forma de obstrucción, un 4% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* y un 25% en el grupo *Recaída*.
3. *Menos de 12 ganglios regionales analizados*: en el 42,47% del total de la población se analizaron menos de 12 ganglios en la pieza quirúrgica lo que supuso un 40% de los pacientes incluidos en el grupo *Sin recaída* frente a un 43,75% en el grupo *Recaída*.
4. *T4 a/b*: el 38,36% del total presentó un tumor T4. Un 28% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* y un 43,75% en el grupo *Recaída*.

5. *Pobremente diferenciado o alto grado*: un 13,7% de los pacientes presentaban tumores de alto grado, 16% en el grupo *Sin recaída* y 12,5% en el grupo *Recaída* (Figura 15)
6. *Infiltración linfo-vascular*: el 30,14% de los pacientes presentaron afectación linfo-vascular en el total de la población. Un 16% en el grupo *Sin recaída* y un 37,5% en el grupo *Recaída*.
7. *Infiltración perineural*: el 20,55% de los pacientes presentaron afectación perineural en el total de la población. Un 4% en el grupo *Sin recaída* y un 29,7% en el grupo *Recaída*.
8. *Antígeno carcinoembrionario (CEA) sérico*: Los niveles de CEA sérico prequirúrgico, el porcentaje de Ki-67 y los tipos histológicos tumorales se muestran en la Tabla 18. De los 73 pacientes incluidos en el estudio, sólo en 63 se había determinado el CEA antes de la cirugía. El 23% (15) de estos pacientes presentaba un CEA prequirúrgico > 5 ng/ml, lo que supuso el 35,89% de los pacientes en el grupo *Recaída* y el 8 % en el grupo *Sin recaída*. El 75% de los pacientes presentaba un CEA inferior a 5,2. Cuatro pacientes presentaron niveles superiores a 10 ng/ml, los 4 pacientes pertenecen al grupo *Recaída*.

Tabla 18. Distribución de los pacientes según la presencia de factores de mal pronóstico en el total de la población y en los grupos *Sin recaída* y *Recaída*.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	P
<b>Factores de mal pronóstico</b>	59 (80,82%)	17 (68%)	42 (87,5%)	<b>0,045</b>
Perforación	4 (5,48%)	0	4 (8,3%)	0,138
Obstrucción	13 (17,81%)	1 (4%)	12 (25%)	<b>0,026</b>
<12 ganglios	31 (42,47%)	10 (40%)	21 (43,75%)	0,758
T4	28 (38,36%)	7 (28%)	21 (43,75%)	0,189
Alto grado	10 (13,7%)	4 (16%)	6 (12,5%)	0,680
I. linfo-vascular	22 (30,14%)	4 (16%)	18 (37,5%)	<b>0,057</b>
I. perineural	15 (20,55%)	1 (4%)	14 (29,17%)	<b>0,012</b>

Al analizar factores de mal pronóstico en nuestra serie evidenciamos que características como perforación, obstrucción, tamaño tumoral (T4 a/b), menos de 12 ganglios aislados, invasión linfo-vascular e invasión perineural fueron más frecuentes en el grupo *Recaída*. Las diferencias entre el grupo *Sin recaída* y *Recaída* fueron estadísticamente significativas para la obstrucción, la invasión linfo-vascular y la invasión perineural y se asociaron a una menor SLE (Figuras 24, 25 y 26).

Aunque en una serie española los pacientes con CC perforado mostraron peores resultados a largo plazo que aquellos con obstrucción (Biondo et al, 2008); otra publicación

más reciente del mismo grupo evidenció una mayor mortalidad postoperatoria a los 30 días en los pacientes obstruidos (14,7%) frente a los pacientes perforados (8,2%) (Biondo et al, 2019). Sin embargo, otros estudios confirman el peor pronóstico de la perforación en comparación con la obstrucción (Yang et al, 2022; Chen et al, 2017). Un estudio realizado en Taiwan, analizó los datos de 81 pacientes con CC que debutaron en forma de perforación intestinal (23) y obstrucción (58). El grupo perforado tuvo una menor SLE, una mayor tasa de recurrencia local y de metástasis a distancia que el grupo con obstrucción, no obstante, la SG no difirió entre estos dos grupos (Chen et al, 2017). La SG a 3 años también fue similar en ambos grupos en otra serie asiática de paciente intervenidos de CC que incluyó 32 pacientes que debutaron al diagnóstico con una perforación y 22 pacientes con una obstrucción intestinal. Sin embargo, los pacientes que debutaron con una perforación intestinal tuvieron una menor SLE, tasas más altas de complicaciones postoperatorias y estadias más prolongadas en la UCI que los pacientes que se presentaron obstrucción (Yang et al, 2022). Otro estudio retrospectivo multicéntrico británico publicó los datos de 175 pacientes con CC que debutaron como una urgencia quirúrgica: 140 (80%) fue en forma de obstrucción intestinal y 35 (20%) como perforación. Al comparar los datos obtenidos con el grupo de pacientes a los que se les realizó una cirugía electiva, se mostró como la urgencia quirúrgica se asoció con una menor probabilidad de recibir quimioterapia adyuvante (Banks et al, 2024). En otra cohorte de pacientes con CC estadio III tratados con quimioterapia adyuvante y seguidos prospectivamente, la obstrucción fue la clínica de debut en el 16,2% y se asoció con una mayor recurrencia y una menor supervivencia. Este efecto fue independiente del estadio T y N y del grado histológico (Dahdaleh et al, 2018). Además, un estudio reciente destacó la importancia de distinguir entre obstrucciones completas y parciales en el CC en estadio IIA, ya que los datos del estudio sugieren que la obstrucción completa es un factor de riesgo significativo y asocia peores resultados oncológicos (Oh et al, 2024). En nuestra serie la obstrucción se asoció de manera significativa con el grupo *Recaída* (4% versus 25%,  $p=0,026$ ) y con una menor SLE. Todos los casos de perforación pertenecían al grupo *Recaída* y se asociaron a una menor SLE, lo que apoya su consideración como factor de riesgo y valida nuestra serie (Figuras 23 y 24).

La probabilidad de diseminación a distancia del tumor aumenta con el número de ganglios linfáticos afectados y disminuye con el mayor número de ganglios examinados (Cserni et al, 2002; Goldstein, 2002). De hecho, varios estudios han demostrado que el mayor número de ganglios linfáticos evaluados tras la resección quirúrgica se asoció positivamente con la supervivencia de los pacientes con CC estadio II y estadio III (Chang et al, 2007), por lo que se considera una medida de la calidad de cirugía en CC. El número de ganglios linfáticos aislados depende de diversos factores como la técnica quirúrgica (Leung et al, 2011), la obesidad (Görög et al, 2003) o la administración de un tratamiento neoadyuvante (Dias et al, 2018); no obstante, se deben recuperar y examinar todos los ganglios linfáticos posibles para hacer una correcta estadificación pN0 (Cserni et al, 2002; Goldstein NS et al, 2002). En piezas de resección de CCR, el consenso es que 12 ganglios linfáticos deben considerarse el objetivo mínimo (Nelson et al, 2000; Zhang et al, 2018).

Menos de 12 ganglios aislados es un factor de riesgo en CCR con independencia del estado de microsatélites del tumor (Cavallaro et al, 2021). En nuestra serie no se encontraron diferencias significativas entre en grupo *Sin recaída* y *Recaída* en el porcentaje de <12 ganglios.

A pesar de la variabilidad interobservador, el grado histológico se ha mostrado como un factor pronóstico independiente del estadio en análisis multivariantes (Washington et al, 2009). No obstante, en nuestra serie no encontramos diferencias significativas en la distribución de los tumores de alto grado según los grupos *Sin recaída* y *Recaída*.

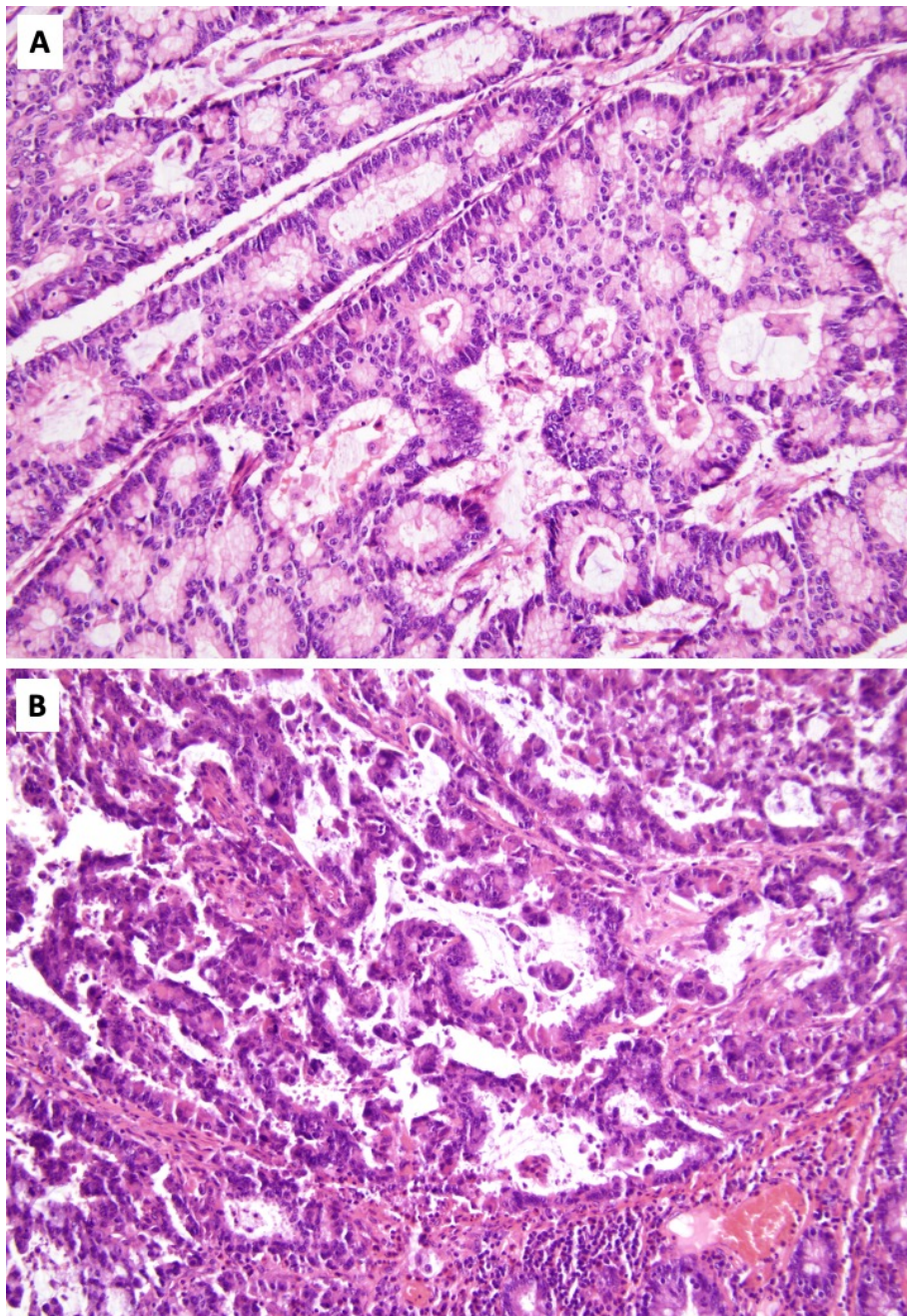
La IPN en el CCR se asocia con un peor pronóstico a largo plazo y se identifica en alrededor de un 20% de los tumores (Liebig et al, 2009; Leijssen et al, 2019). Una serie de 215 pacientes con CC en estadio I-III confirmó el valor pronóstico negativo de la IPN al asociarse a una menor SLE y SG de manera significativa (Liebig et al, 2009). El hallazgo de una asociación entre IPN y el grupo *Recaída* en nuestra serie (4% versus 29,17%,  $p=0,012$ ), así como la menor SLE asociada a este marcador (Figura 26), es coherente con los resultados de la literatura.

Tabla 19. Distribución de los niveles de CEA prequirúrgico (ng/mL) en el total de la población estudiada y los distintos grupos.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	P
<b>CEA (n)</b>	<b>n=63</b>	<b>n=24</b>	<b>n=39</b>	
Casos perdidos	10	1	9	
Media	4,74	2,73	5,98	
Desviación estándar	7,94	2,10	9,81	
Rango: Mínimo	0,3	0,3	0,4	0,129
Máximo	56,9	9,7	56,9	
Percentil 25	1,35	1,10	1,55	
Percentil 50	2,50	2,25	2,70	
Percentil 75	5,20	3,72	6,20	

El CEA sérico está aumentado en varios tumores sólidos y sus niveles están elevados en alrededor del 90% de los pacientes con CCR (Goldstein et al, 2005). Los niveles séricos de CEA son un reconocido marcador tumoral preoperatorio que también se emplea durante el seguimiento del CCR (Kuroki et al, 1992). La elevación del CEA se ha definido como el único marcador predictivo de metástasis a distancia en aquellos pacientes con CCR estadio I (pT1) (Lou et al, 2013). Por ello, en el año 2000 el AJCC recomendó que los grupos TNM se estratifiquen según la presencia o ausencia de niveles séricos elevados de CEA ( $\geq 5$  ng/mL) en el examen clínico preoperatorio (Compton et al, 2000). Además, datos recientes de una serie pacientes con CC estadios I-III indican que los niveles elevados de CEA pueden ser un indicador indirecto de un estadiaje más avanzado (Dourado et al, 2024). Aunque en nuestra serie las diferencias en los niveles de CEA prequirúrgico entre los grupos *Sin recaída*

y *Recaída* no alcanzaron significación estadística, el valor de la media en rango patológico y los valores máximos de CEA se detectaron en el grupo *Recaída*.



**Figura 15.** Grado histológico tumoral. (A) Adenocarcinoma de bajo grado, se observa formación de glándulas en más del 90% del tumor. (B). Adenocarcinoma de alto grado, hay escasa formación de glándulas y escasa cohesión celular. Tinción con hematoxilina-eosina; aumento original de 200X.

### 1.6. Tipo y subtipo tumoral

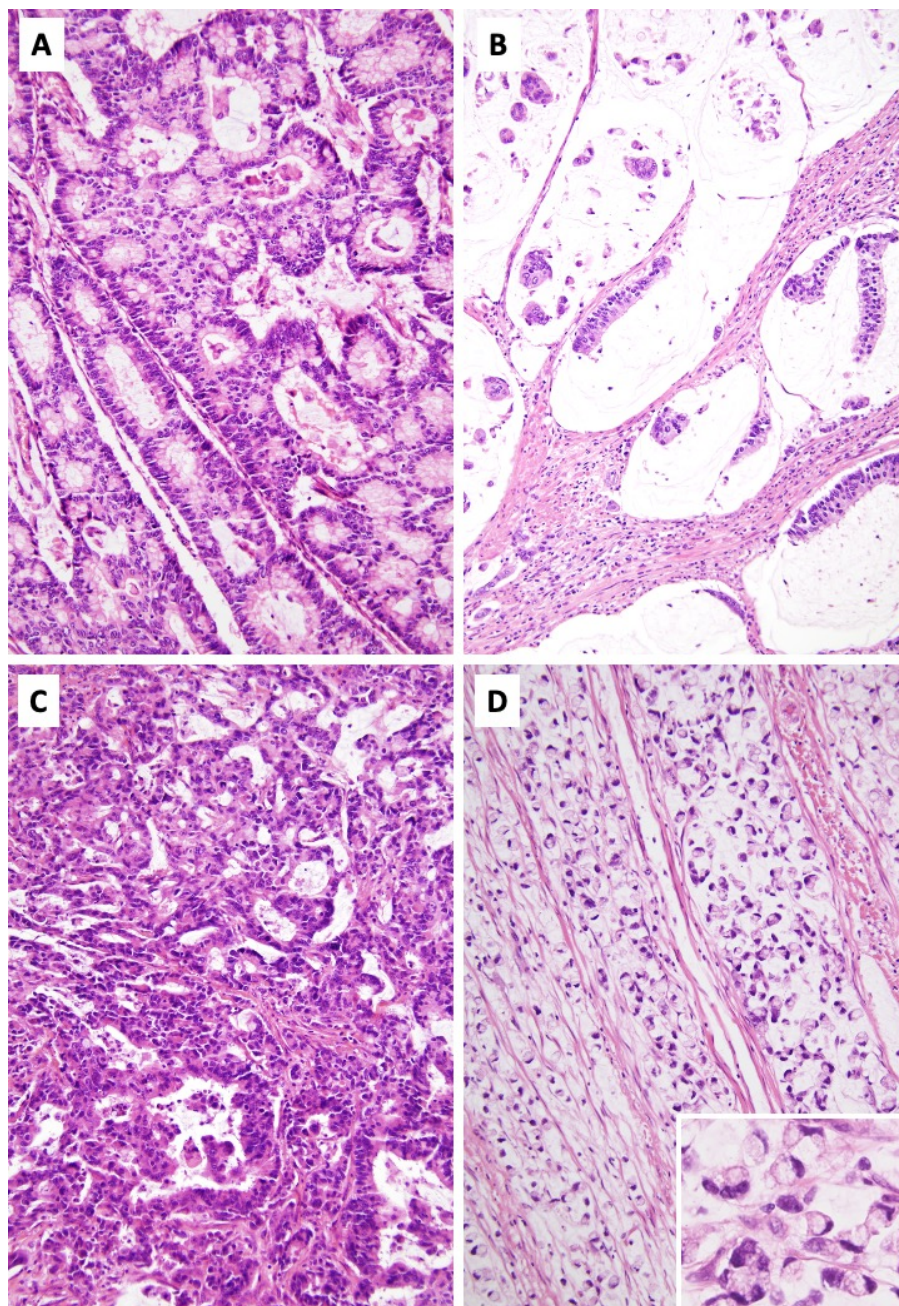


Todos los tumores de los pacientes incluidos en el estudio fueron adenocarcinomas (Tabla 20). De acuerdo con los criterios de la 5ª edición de la clasificación de tumores de

digestivos, el subtipo tumoral más frecuente fue el adenocarcinoma NOS (93%), seguido del adenocarcinoma mucinoso (4,11%). Sólo había 1 paciente con adenocarcinoma de células en anillo de sello y 1 paciente con adenocarcinoma serrado (tabla 20 y figura 16). Aunque en nuestra serie no se encontraron diferencias en relación al tipo histológico y los grupos *Sin recaída* o *Recaída*, el único caso de carcinoma de células en anillo de sello pertenece al grupo *Recaída*, lo que concuerda con el reconocido peor pronóstico de este tipo tumoral en el que las metástasis se desarrollan rápidamente y en múltiples localizaciones (Dourado et al, 2024; Nitsche et al, 2013).

Tabla 20. Distribución según Ki-67 y subtipo histológico en los distintos grupos y en el total de la población.				
	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	P
<b>Tipo histológico</b>				
Adenoca. NOS	68 (93,1%)	23 (92%)	45 (93,75%)	0,485
Adenoca. mucinoso	3 (4,11%)	1 (4%)	2 (4,17%)	
Ca. anillo sello	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
Adenoca. serrado	1 (1,37%)	1 (4%)	0 (0%)	
<b>Ki-67% (n)</b>	<b>n=73</b>	<b>n=25</b>	<b>n=48</b>	
Media	34,49	29,99	36,83	0,253
Desviación estándar	20,65	17,23	22,03	
Rango: Mínimo	3,09	4,75	3,09	
Máximo	83,29	60,70	83,29	
Percentil 25	15,86	15,59	15,34	
Percentil 50	33,98	31,69	35,70	
Percentil 75	47,71	45,14	56,95	

Abreviaturas: Adenoca., adenocarcinoma; NOS, “not otherwise specified”; Ca., carcinoma.

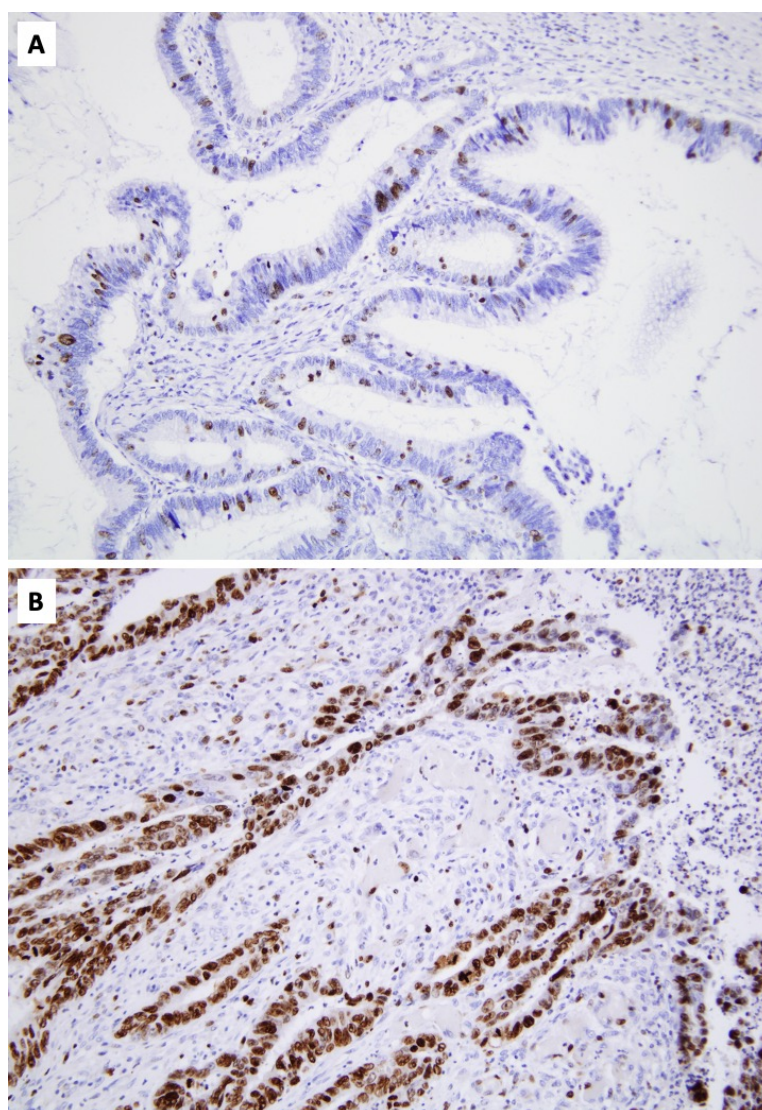


**Figura 16.** Tipos histológicos de adenocarcinoma. Adenocarcinoma NOS (A). Adenocarcinoma mucinoso (B). Adenocarcinoma serrado (C). Carcinoma de células en anillo de sello (D). Tinción con hematoxilina-eosina; aumento original de 200X; recuadro 400X.

### 1.7. Índice de proliferación Ki-67

Los resultados del índice de Ki-67 determinado mediante análisis de imagen se resumen en la Tabla 20 y Figura 17. La media de Ki-67 tumoral fue de 34,49% en toda la población estudiada y la mediana de 33,98%. Al analizar por grupos, la media y la mediana en el grupo *Sin recaída* fueron del 29,99% y 31,69% y en el grupo *Recaída* del 36,83% y 35,70%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de Ki-67 tumoral entre ambos grupos.

Ki-67 es un marcador de proliferación celular, presente durante las fases activas de la mitosis pero ausente durante la etapa de reposo (Menon et al, 2019). El porcentaje de expresión de Ki-67 (índice de Ki-67) es esencial para la determinación del grado tumoral de las neoplasias neuroendocrinas de colon y se relaciona con el pronóstico (Heetfeld et al, 2015; Milione et al, 2017). Sin embargo, en el CCR no neuroendocrino, los diversos estudios incluyen diferentes puntos de corte y los datos son menos consistentes (Salminen et al, 2005; Melling et al, 2016; Li et al, 2016; Li et al, 2016). Otro estudio reciente de 105 pacientes tampoco encontró correlación del índice de Ki-67 con el tamaño tumoral, el sitio del tumor, la edad, el género, los estadios TNM y el recuento de células tumorales circulantes (Yang et al, 2017). En nuestra serie, tras una cuantificación automatizada, a pesar de encontrar unos valores medios de Ki-67 ligeramente más elevados en el grupo Recaída (29,99 versus 36,83) las diferencias no alcanzaron significación estadística.



**Figura 17.** Expresión inmunohistoquímica de Ki-67. (A) La evaluación automatizada de la actividad proliferativa de este tumor mediante análisis de imagen (PathScan, Elancourt, Francia) evidenció un índice de Ki-67 de 9,5%. (B) En el tumor de la imagen inferior el índice de Ki-67 fue de 70,5%. Inmunotinción para Ki-67; aumento original 200X.

### 1.8. Tratamiento adyuvante

Del total de los 73 pacientes incluidos en el estudio, el 84,93% recibió tratamiento adyuvante tras la intervención. El 88% en el grupo *Sin recaída* y el 83,33% en el grupo *Recaída*. Recibieron tratamiento adyuvante con oxaliplatino (FOLFOX o CAPOX) el 43,84% de los pacientes; el 56% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* y el 37,5% de los pacientes en el grupo *Recaída*. Recibieron capecitabina en monoterapia el 39,73% de los pacientes; el 32% de los pacientes del grupo *Sin recaída* frente al 43,75% de los pacientes en el grupo *Recaída*.

	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	P
Adyuvancia	62 (84,93%)	22 (88%)	40 (83,33%)	0,597
Con oxaliplatino	32 (43,84%) <i>perdidos 3 (4,11%)</i>	14 (56%)	18 (37,5%) <i>perdidos 3 (6,25%)</i>	0,198
Sin oxaliplatino	29 (39,73%) <i>perdidos 3 (4,11%)</i>	8 (32%)	21 (43,75%) <i>perdidos 3 (6,25%)</i>	0,233

### 1.9. Tipo de recaída y localización

El tipo de recaída (local o a distancia) y su localización (peritoneo, hígado, pulmón o ganglionar) se resume en la Tabla 22. El 93,75% de los pacientes que recayeron lo hicieron a distancia. La localización más frecuente fue el hígado (41,67%), seguida del peritoneo (37,5%), el pulmón (22,92%) y los ganglios linfáticos (16,67%). El 66,67% de los pacientes que recayeron fallecieron a causa del tumor.

	Total (n=73)	Recaída (n=48)	P
Recaída a distancia	45 (61,64%)	45 (93,75%)	<0,001
Ganglionar	8 (10,96%)	8 (16,67%)	0,031
Peritoneo	18 (24,66%)	18 (37,5%)	<0,001
Hígado	20 (27,40%)	20 (41,67%)	<0,001
Pulmón	11 (15,07%)	11 (22,92%)	0,009
Éxito (por el tumor)	32 (43,84%)	32 (66,67%)	<0,001

## 2. DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES

Los resultados del estudio inmunohistoquímico para ver la expresión de los factores de transcripción CDX2 y SATB2, la expresión de las proteínas de los genes reparadores *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* y *MSH6*, la expresión de la proteína p53, así como del estado mutacional de los genes *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* y *TERT*, se resumen en la Tabla 23. En la Figura 18 se representa la distribución de las principales alteraciones moleculares detectadas.

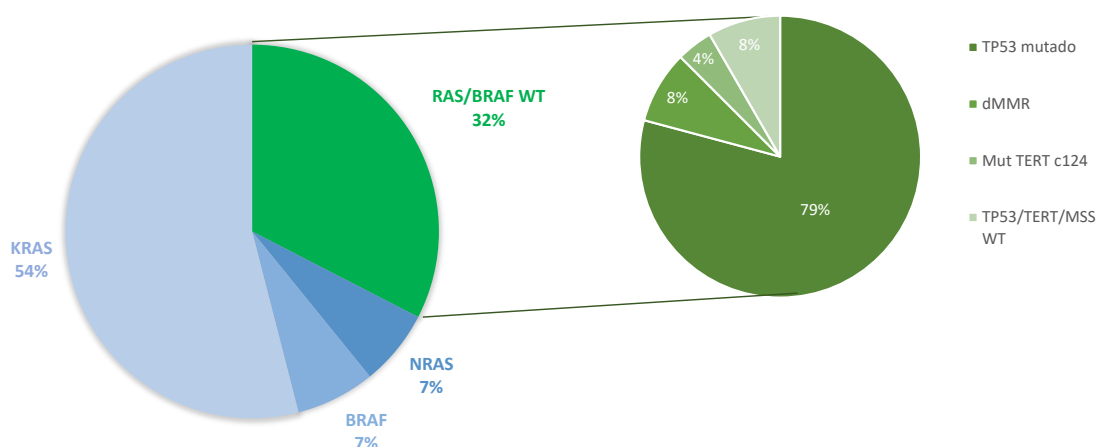
Tabla 23. Distribución de los resultados del estudio inmunohistoquímico y molecular en el total de la población y en los dos grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> .				
	Total (n=73)	Sin recaída (n=25)	Recaída (n=48)	P
<b>CDX2 (no tinción)</b>	6 (8,22%)	1 (4%)	5 (10,41%)	0,344
<b>SATB2 (no tinción)</b>	19 (26,03%)	8 (32%)	11 (22,91%)	0,401
<b>MSI</b>	7 (9,59%)	3 (12%)	4 (8,33%)	0,614
<i>MLH1</i> (mutación)	7 (9,59%)	3 (12%)	4 (8,33%)	
<i>PMS2</i> (mutación)	7 (9,59%)	3 (12%)	4 (8,33%)	
<i>MSH2</i> (mutación)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
<i>MSH6</i> (mutación)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
<b>p53 (mutado)</b>	60 (82,19%)	20 (80%)	40 (83,33%)	0,724
p “black”	45 (61,64%)	15 (60%)	30 (62,5%)	
p “null”	15 (20,55%)	5 (20%)	10 (20,83%)	
wt	13 (17,81%)	5 (0%)	8 (16,67%)	
<b><i>BRAF</i> mutado</b>				
(sí)	5 (6,85%)	2 (8%)	3 (6,25%)	0,779
<b><i>NRAS</i> mutado</b>	5 (6,85%)	0 (0%)	5 (10,42%)	0,095
G12X	3 (4,11%)	0 (0%)	3 (6,25%)	
G13X	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
Q61X	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
<b><i>KRAS</i> mutado</b>				
G12X	40 (54,79%)	13 (52%)	27 (56,25%)	0,729
G13X	32 (43,84%)	11 (44%)	21 (43,75%)	
G12X;G13X	7 (9,59%)	2 (8%)	5 (10,42%)	
	1 (1,37%)	0 (0%)	1 (2,08%)	
<b><i>TERT</i> mutado</b>				
Sí	2 (2,74%)	1 (4%)	1 (2,08%)	0,634
Otras VUS*	26 (35,62%)	9 (36%)	17 (35,42%)	

\*VUS, variante de significado incierto.

El estudio detectó mutaciones de *KRAS* en el 54% de los pacientes, siendo más común la mutación en G12X. Esta mutación se encontró en un 52% de pacientes en el grupo *Sin recaída* frente un 56,25% de los pacientes con *Recaída*. Un 6,85% de los pacientes presentaron una mutación en *NRAS*, todos en el grupo *Recaída*. Las mutaciones de *BRAF* se

detectaron en el 6,85% de los pacientes; 8% en el grupo *Sin recaída* y 6,25% en el grupo *Recaída*.

Al investigar la existencia de mutaciones patogénicas en la región promotora del gen *TERT*, se detectó la mutación *c-124C>T* en el 2,74% de los pacientes, un paciente (4%) en el grupo *Sin recaída* y otro (2,08%) paciente en el grupo *Recaída*. El paciente del grupo *Sin recaída* presentó las co-mutaciones de *KRAS* (G12X) y de *TP53*. Las variantes de significado incierto (VUS) del promotor de *TERT* detectadas en el análisis (35,62%) no se consideraron para los análisis de asociación.



**Figura 18.** Diagrama sectorial que muestra el tipo de mutaciones encontradas en todos los pacientes incluidos en la presente serie.

A partir del estudio inmunohistoquímico se detectó que la mutación más frecuente detectada en los tumores fue en el gen *TP53*, que estaba presente en el 82,19% de los casos; en 20 (80%) pacientes del grupo *Sin recaída* y en 40 (83,33%) en el grupo *Recaída* (Figura 19).

En relación al factor de transcripción CDX2, el 8% de los pacientes no presentaba tinción de CDX2 en el total de la población, lo que correspondía al 4% de los pacientes incluidos en el grupo *Sin recaída* frente al 10,41% de los pacientes del grupo *Recaída* (Figura 20). CDX2 es una proteína codificada por el gen *CDX2* (caudal type homeobox 2) que es un factor de transcripción implicado en la expresión de genes específicos del intestino que participan en el desarrollo y la diferenciación celular (Stringer et al, 2012). La expresión de CDX2 también se detecta en la mayoría de los casos de CCR y por ello se utiliza como marcador sensible y específico del CCR (Kaimaktchiev et al, 2004). La negatividad inmunohistoquímica para CDX2 en diversas series de CCR ha sido del 4,1% (Dalerba et al, 2016), 5,9% (Bae et al, 2015), 8,1% (Lee et al, 2024), 10% (Kaimaktchiev et al, 2004), 10,8% (Ma et al, 2019) y hasta el 29% (Baba et al, 2009). En nuestra serie la negatividad para la expresión inmunohistoquímica de CDX2 se detectó en el 8,22% de los pacientes, dentro del rango descrito en la literatura; aunque ciertas variaciones en los porcentajes, como

el 1% de negatividad para CDX2 de la serie de Konukiewicz et al. (Konukiewicz et al, 2021) podrían atribuirse a diferencias metodológicas.

Diversos estudios han asociado la pérdida de expresión de CDX2 en el CCR con el sexo femenino (Baba et al, 2009), un estadio avanzado (Kaimaktchiev et al, 2004; Baba et al, 2009; Bae et al, 2015), la producción de mucina (Bae et al, 2015), el lado derecho (Konukiewicz et al, 2021), la inestabilidad de microsatélites (Lugli et al, 2008; Bae et al, 2015; Konukiewicz et al, 2021), una pobre diferenciación/alto grado tumoral (Kaimaktchiev et al, 2004; Baba et al, 2009), la invasión vascular, la presencia de mutaciones de *BRAF* (Zlobec et al, 2010; Bae et al, 2015) y el fenotipo metilador de la isla CpG (CIMP) (Baba et al, 2009; Bae et al, 2015). En el análisis multivariante de una serie de 713 pacientes con CCR, la pérdida de CDX2 fue un indicador independiente de peor supervivencia global (Bae et al, 2015). Sin embargo, en otro estudio de 1003 casos de CCR la relevancia pronóstica de la negatividad para CDX2 desapareció en los análisis multivariados (Konukiewicz et al, 2021). En la serie de Dalerba et al. la falta de expresión de CDX2 identificó un subgrupo de pacientes con CC en estadio II de alto riesgo que parecían beneficiarse de la quimioterapia adyuvante (Dalerba et al, 2016). En este sentido nuestros hallazgos son coherentes con la literatura. Aunque en nuestra serie las diferencias no alcanzaron significación estadística, el porcentaje de negatividad para CDX2 fue más alto en el grupo *Recaída* (4% versus 10,41%) (Figura 20).

El 26,03% del total de los tumores de la serie no presentó tinción para SATB2, un 32% de los pacientes en el grupo *Sin recaída* y un 22,91% de los pacientes en el grupo *Recaída* (Figura 20). La proteína especial de unión a secuencia rica en AT 2 (SATB2, “Special AT-rich sequence-binding protein 2”) es un marcador inmunohistoquímico para epitelio normal y tumoral colorrectal (Schmitt et al, 2021). Ma et al. encontraron que en el CCR la negatividad para SATB2 se asoció con deficiencia de proteínas del MMR y mutación de *BRAF* (Ma et al, 2018). Otro estudio reciente encontró una asociación de la negatividad inmunohistoquímica para SATB2 y tumores con características agresivas (pobre diferenciación y alto “tumor budding”) especialmente en los casos en estadio III (Schmitt et al, 2021).

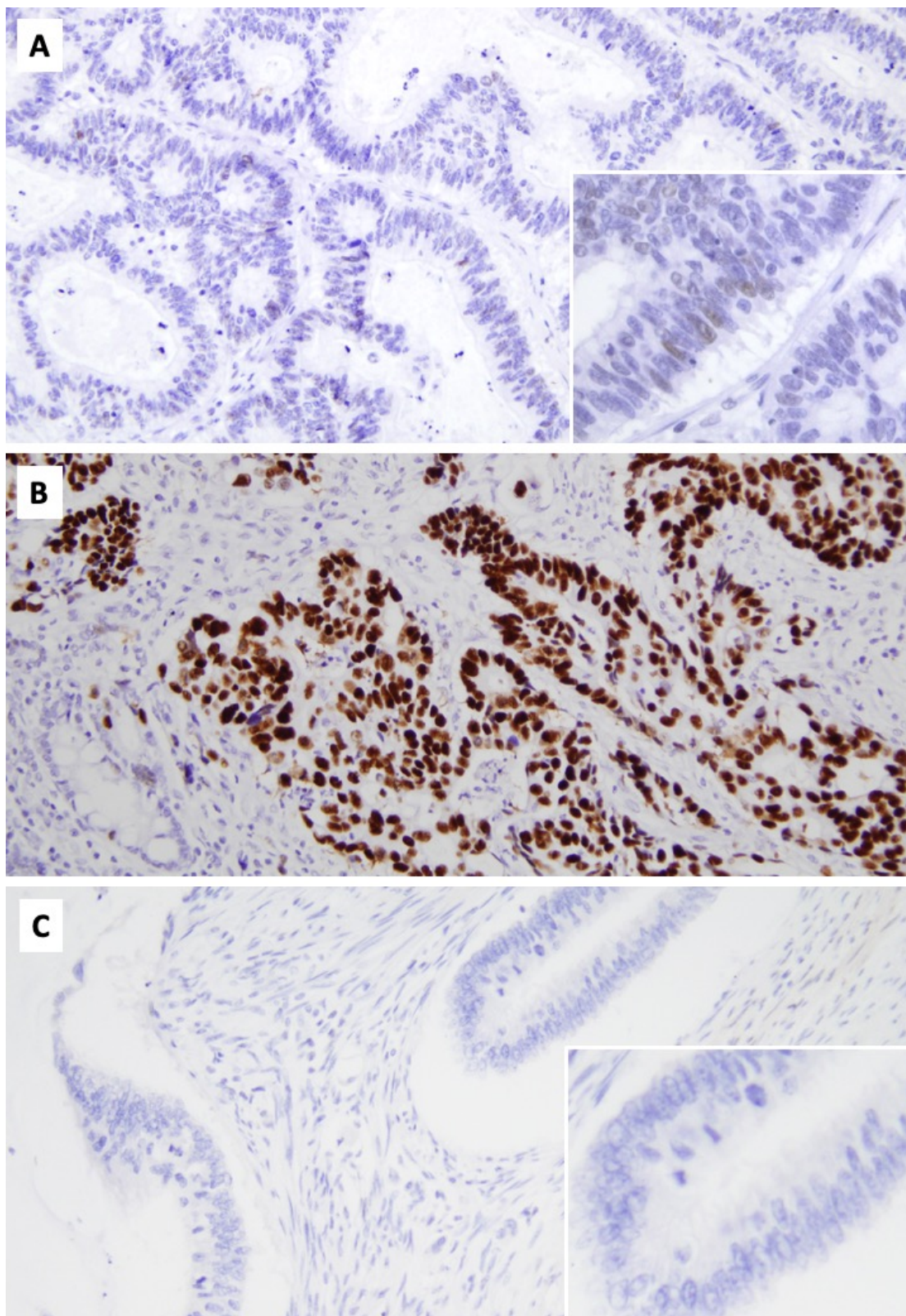
La pérdida de expresión inmunohistoquímica combinada de SATB2 y/o CDX2 se identificó en el 3,2% de CCR estadio III (Lee et al, 2024); así como en el 33% de los CC inestables, en comparación con solo el 15% de los tumores competentes en las proteínas del MMR ( $p < 0,001$ ) y en el 36% de los tumores con mutación *BRAF V600E* en comparación con solo el 13% de los tumores *BRAF* no mutado (Ma et al, 2019). Tanto los tumores SATB2-negativos como los CDX2-negativos mostraron una mayor frecuencia invasión linfática, invasión venosa e invasión perineural de manera significativa (Ma et al, 2019). Estos autores evidenciaron que en tumores de CC con inestabilidad de microsatélites la pérdida de SATB2 y CDX2 es un predictor independiente de supervivencia (Ma et al, 2019). En otra serie reciente de casos de CCR estadio III la pérdida combinada de la expresión de CDX2 y SATB2 se asoció con la localización tumoral en el colon derecho, una pobre diferenciación,

la expresión disminuida de CK20, una expresión aberrante de CK7, un CIMP-alto, un MSI-alto, la mutación de *BRAF* y una menor supervivencia (Lee et al, 2024). En el reciente estudio de Kato et al. el análisis de regresión de riesgos de Cox multivariante identificó la negatividad para SATB2 y/o CDX2 como posible factor de riesgo independiente para los pacientes con CCR (Kato et al, 2024). Sin embargo, en nuestra serie no encontramos correlación entre la pérdida de SATB2 y los grupos *Sin recaída* o *Recaída*.

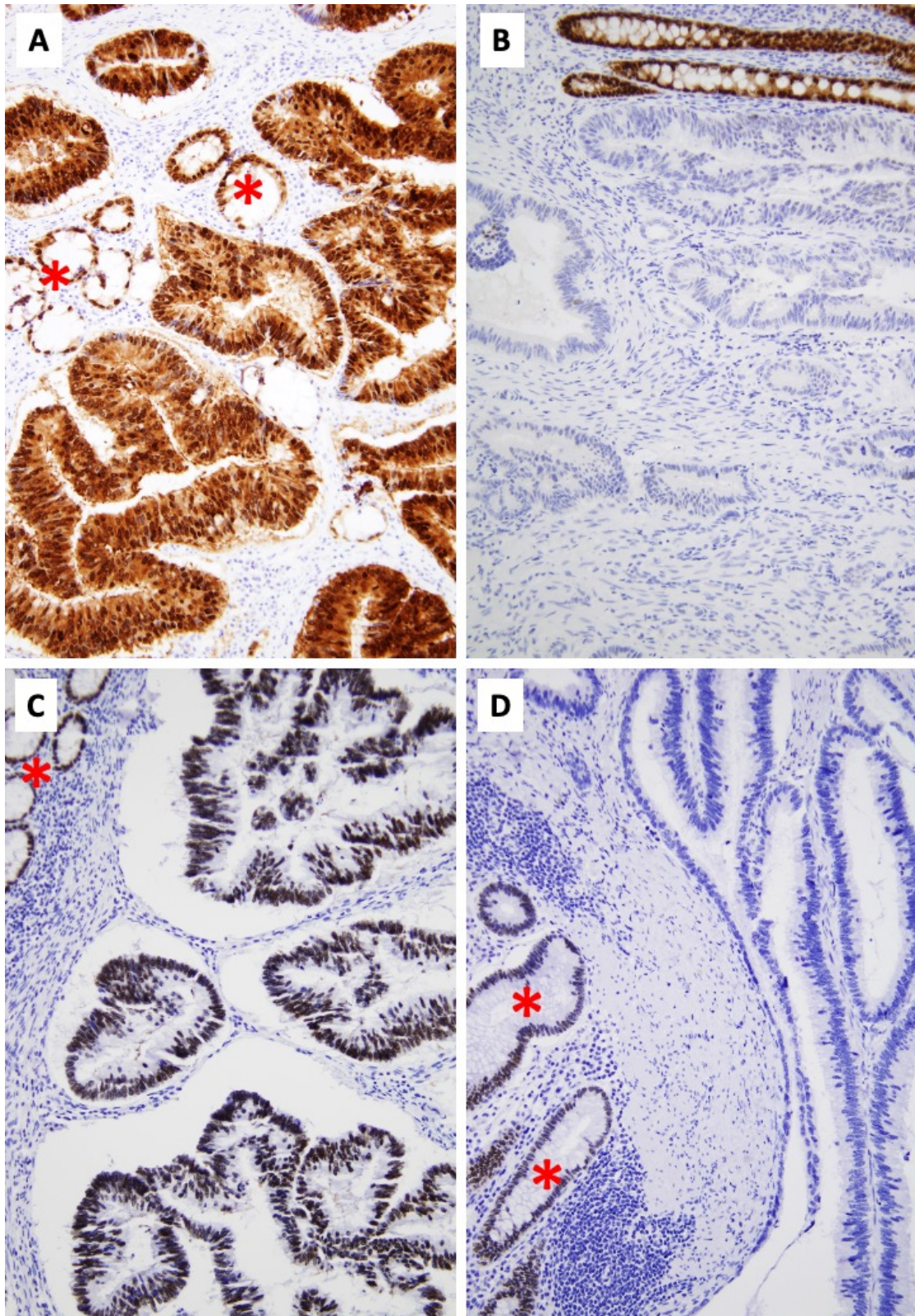
La pérdida de expresión de SATB2 se ha descrito en el 15,5% (Ma et al, 2019) y 17,2% (Lee et al, 2024) de las series de CC. Aunque tanto CDX2 como STAB2 se utilizan como marcadores de diferenciación colorrectal, se ha considerado a CDX2 como un marcador de diferenciación más sensible debido a que la expresión de SATB2 se pierde con mayor frecuencia (Schmitt et al, 2021), una propuesta que concuerda con los resultados de nuestra serie (8,22% versus 26,03%).

Al examinar la expresión de las proteínas de los genes reparadores en nuestra serie, tan solo se detectó la pérdida conjunta de MLH1 y PMS2 en los tumores de 7 (9,59%) pacientes, 3 (12%) del grupo *Sin recaída* y 4 (8,33%) del grupo *Recaída* (Figura 21). En tres de los 7 pacientes en los que se detectó ausencia de expresión de las proteínas reparadoras, se detectó también la mutación del gen *BRAF*; uno en el grupo *Sin recaída* y 2 en el grupo *Recaída* (Figura 21). Curiosamente, los 4 únicos tumores inestables por pérdida de expresión de MLH1 y PMS2 del grupo *Recaída* mostraron negatividad para CDX2 en 2 casos y de SATB2 en los otros 2, una asociación coherente con los datos descritos en la literatura (Lugli et al, 2008; Bae et al, 2015; Konukiewicz et al, 2021; Ma et al, 2018; Lee et al, 2024). La mutación de *BRAF* se detectó en 3 de los 7 (42,8%) tumores con inestabilidad de microsatélites de nuestra serie. Aunque en nuestro estudio no se evidenció una asociación entre el estado mutacional de *BRAF* y los grupos *Sin recaída* o *Recaída*, se ha descrito que *BRAF* puede ser un biomarcador útil para identificar pacientes con CC lado derecho con mal pronóstico que podrían beneficiarse de un tratamiento más individualizado (Zlobec et al, 2010).

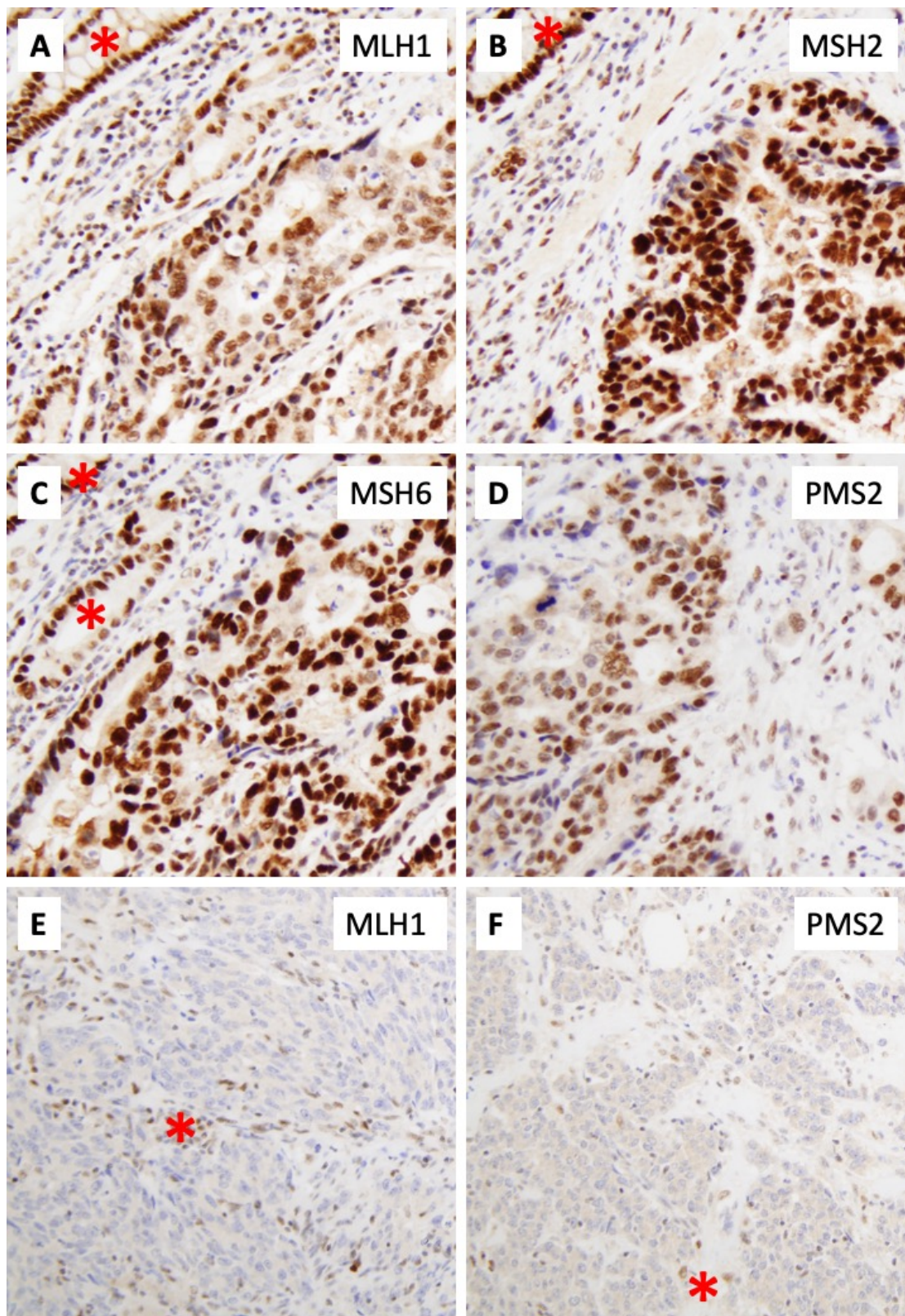
Las mutaciones de *TP53* al igual que las de los genes de la familia *RAS*, principalmente *KRAS*, participan en el desarrollo del CCR a través de la vía clásica APC/ $\beta$ -catenina en la secuencia de progresión adenoma-carcinoma. A partir del estudio inmunohistoquímico se detectó que la mutación más frecuente detectada en los tumores de la serie fue en el gen *TP53*, que estaba presente en el 82,19% de los casos; incluyendo 20 (80%) pacientes del grupo *Sin recaída* y en 40 (83,33%) en el grupo *Recaída* (Figura 19 y Tabla 23). En la presente serie las mutaciones de *NRAS* se detectaron exclusivamente en el 10,42% del grupo *Recaída* mientras que las mutaciones de *KRAS* fueron más frecuentes y se identificaron en el 52% y 56,25% de los grupos *Sin Recaída* y *Recaída*, respectivamente. La detección de mutaciones del promotor de *TERT* solamente en 2 casos de la serie es concordante con la baja frecuencia de este tipo de mutaciones en el CC (Vinagre et al, 2013).



**Figura 19.** Expresión inmunohistoquímica de p53. (A) Patrón de tinción para p53 normal (“wild-type”) con alternancia de núcleos negativos y positivos (de intensidad débil). (B). Patrón de tinción “block”, con tinción nuclear fuerte y difusa en todos los núcleos de las células tumorales (refleja la acumulación de una proteína p53 por mutación). (C) Patrón de tinción “null”, con ausencia completa de tinción nuclear en el tumor, lo cual refleja falta de la proteína p53 por mutación. Inmunotinción para p53; aumento original 200X, en el recuadro 400X.



**Figura 20.** Expresión inmunohistoquímica de CDX2 y SATB2. (A) Fuerte positividad nuclear (y citoplasmática) para CDX2 en las células tumorales, así como en glándulas no tumorales atrapadas por el tumor (asterisco). (B) La figura muestra negatividad del tumor para CDX2. (C) En la figura inferior izquierda hay positividad nuclear del tumor y células normales (asterisco) para SATB2. (D) La imagen de la derecha muestra positividad nuclear en las glándulas normales (asterisco) pero negatividad en las células tumorales. Inmunotinción para CDX2 (A y B) y para SATB2 (C y D); aumento original de 200X.

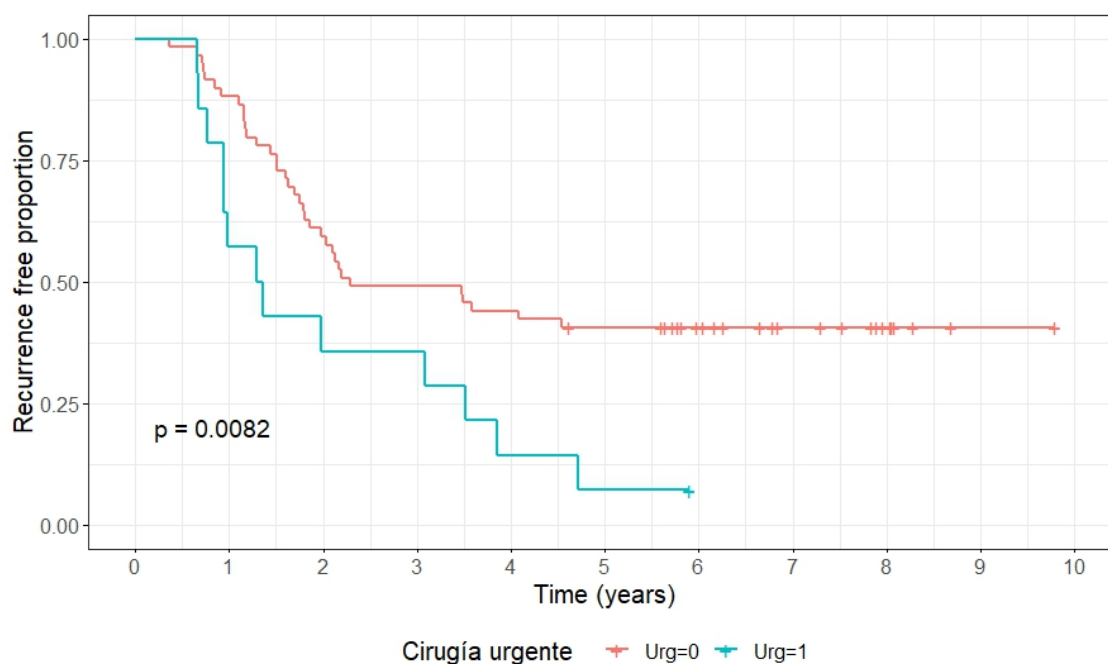


**Figura 21.** Expresión inmunohistoquímica de proteínas reparadoras del apareamiento del ADN (Mismatch Repair-MMR). Las figuras A-D muestran la positividad nuclear para las proteínas de los genes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 respectivamente, tanto en las células tumorales como en las células de glándulas no tumorales adyacentes (asteriscos). En las figuras inferiores (E y F) hay negatividad tumoral para MLH1 y PMS2, respectivamente, con expresión conservada en linfocitos y las células no tumorales del estroma (asterisco). Inmunotinciones para MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2; aumento original de 200X.

### 3. ANÁLISIS DEL IMPACTO EN LA SUPERVIVENCIA

La relación de la edad, sexo y variables clínicas de mal pronóstico con la supervivencia de los pacientes en nuestra serie se resume en la Tabla 24.

1. *Edad y sexo*: al evaluar mediante el análisis de riesgos proporcionales de Cox, no se encontró una asociación de estos parámetros y la supervivencia de los pacientes incluidos.
2. *Cirugía urgente*: al analizar en nuestra serie la SG de los pacientes en función del tipo de cirugía: “programada” versus “urgente”, solo 1 (4%) paciente en el grupo *Sin recaída* fue intervenido de urgencia frente a 13 (27%) en el grupo *Recaída*. Además, se analizó la supervivencia libre de enfermedad (SLE) de ambos grupos en función de esta variable objetivándose diferencias estadísticamente significativas. Como se muestra en la Figura 22. La realización de una cirugía de urgencia confiere un mayor riesgo de recaída ( $p= 0,0082$ ).



**Figura 22.** Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE en el grupo de pacientes que se sometieron a una cirugía urgente es inferior.

3. *Factores pronósticos clásicos*: se analizó el impacto de los factores pronósticos clásicos tales como la presentación clínica con perforación, presentación clínica con obstrucción, el aislamiento de menos de 12 ganglios tras la cirugía, presentación en estadio T4, alto grado histológico tumoral, presencia de invasión linfocelular (ILV), presencia de invasión perineural (IPN) y margen quirúrgico afectado al microscopio (R1). Mediante un análisis de riesgos proporcionales de Cox de dichas variables se detectó que la presencia de perforación, obstrucción, ILV y la IPN se asociaron de forma

estadísticamente significativa a un mayor riesgo de recaída y a una menor SLE (Tabla 24 y Figuras 23, 24, 25 y 26).

Tabla 24. Análisis de riesgos proporcionales de Cox. Edad, sexo y variables clínicas de mal pronóstico.

	Hazard ratio (HR)	IC, 95%, HR		P
Edad (años)	1,0311	0,9919	1,072	0,12155
Sexo	1,6737	0,8653	3,237	0,12597
Perforación	4,8222	1,3420	17,328	<b>0,01592*</b>
Obstrucción	2,8429	1,4168	5,705	<b>0,00328*</b>
<12 ganglios	1,3778	0,7050	2,693	0,34844
T4	1,2341	0,6204	2,455	0,54892
Alto grado	1,0905	0,4232	2,810	0,85762
I linfovascular	1,8160	0,9659	3,415	<b>0,06401*</b>
I perineural	2,3574	1,1562	4,807	<b>0,01832*</b>
R1	0,8788	0,1592	4,850	0,88218

IC, intervalo de confianza

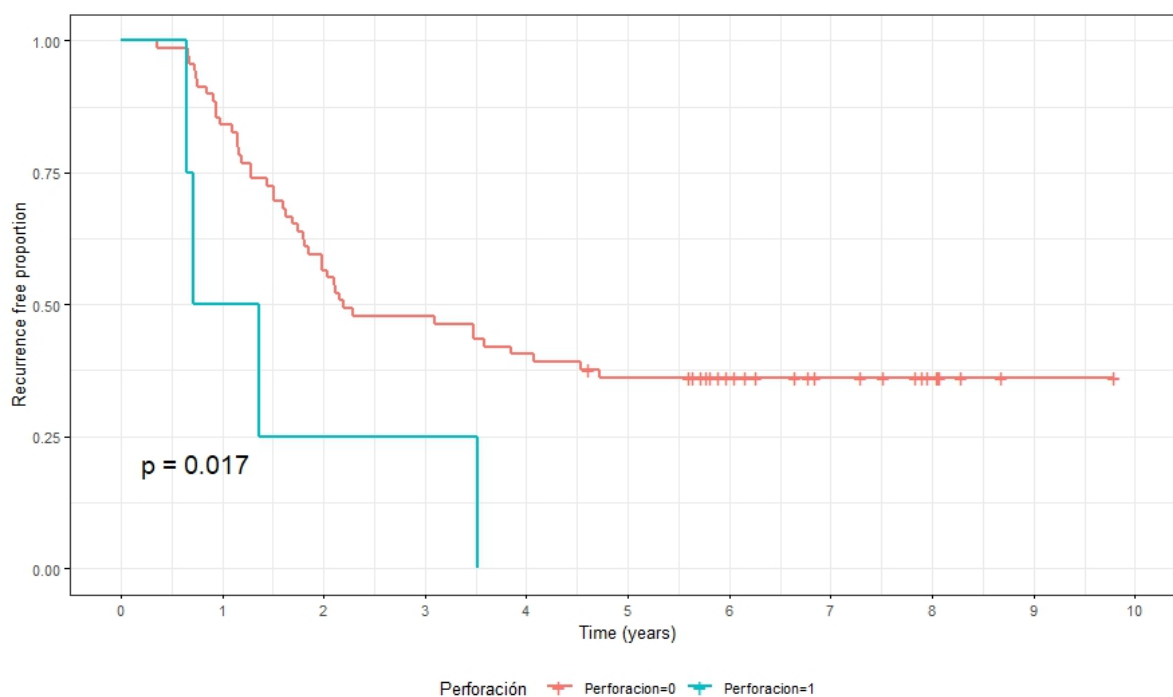


Figura 23. Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que debutaron con una perforación.

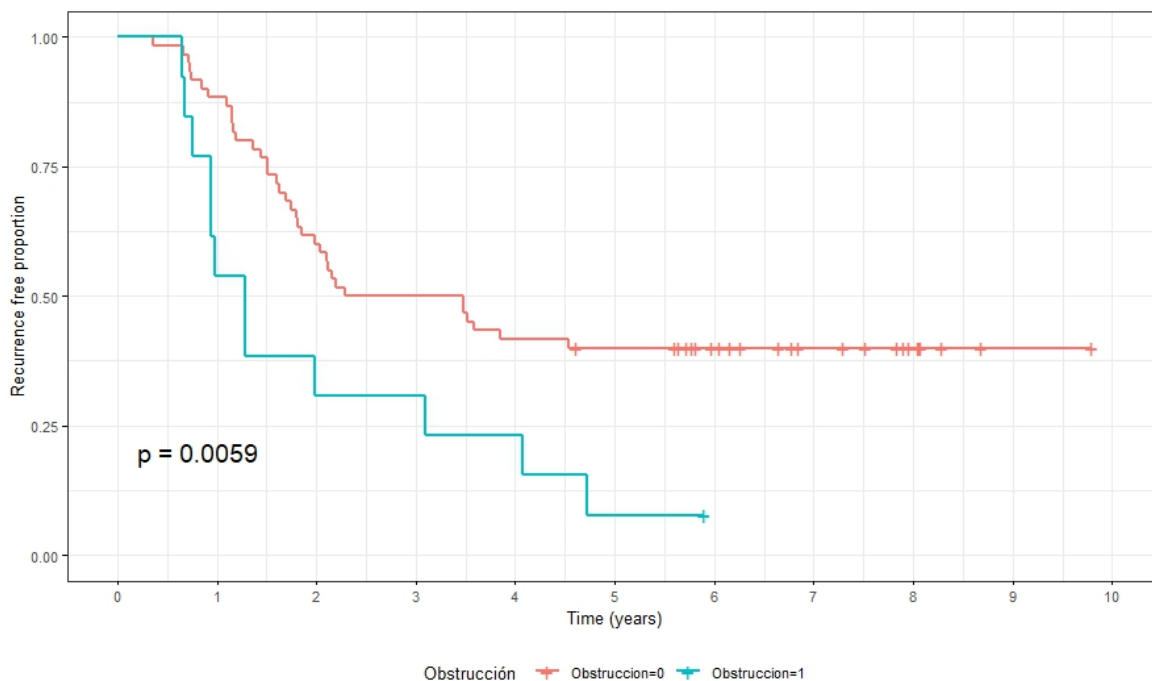


Figura 24. Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que debutaron con una obstrucción.

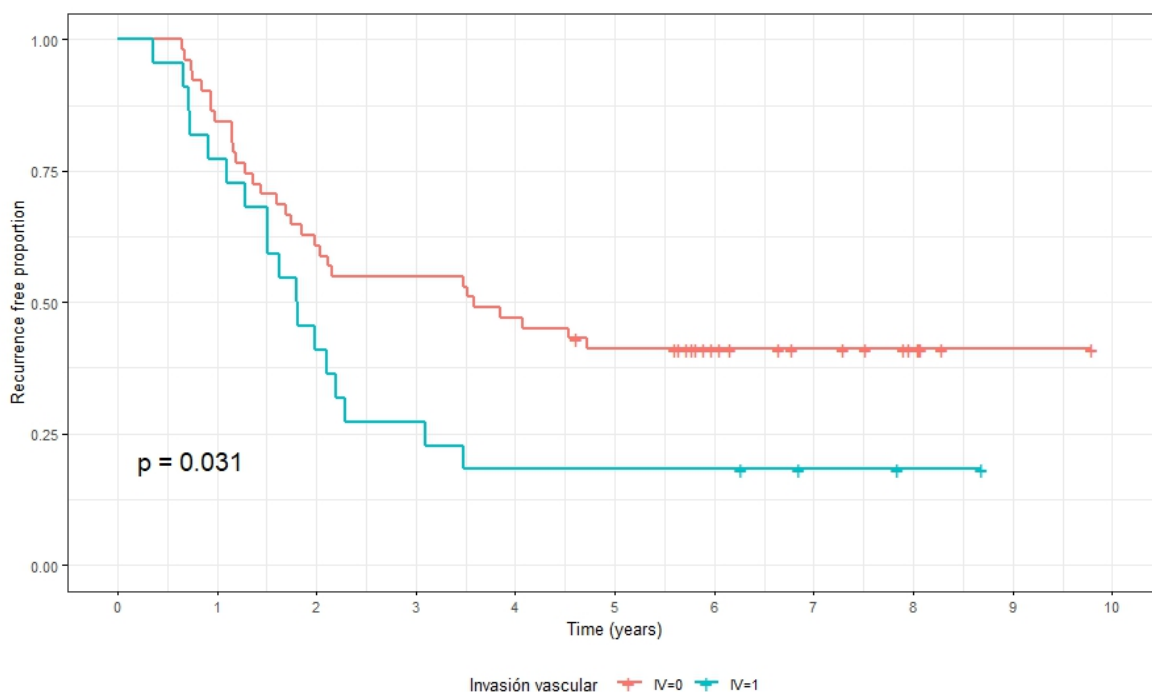
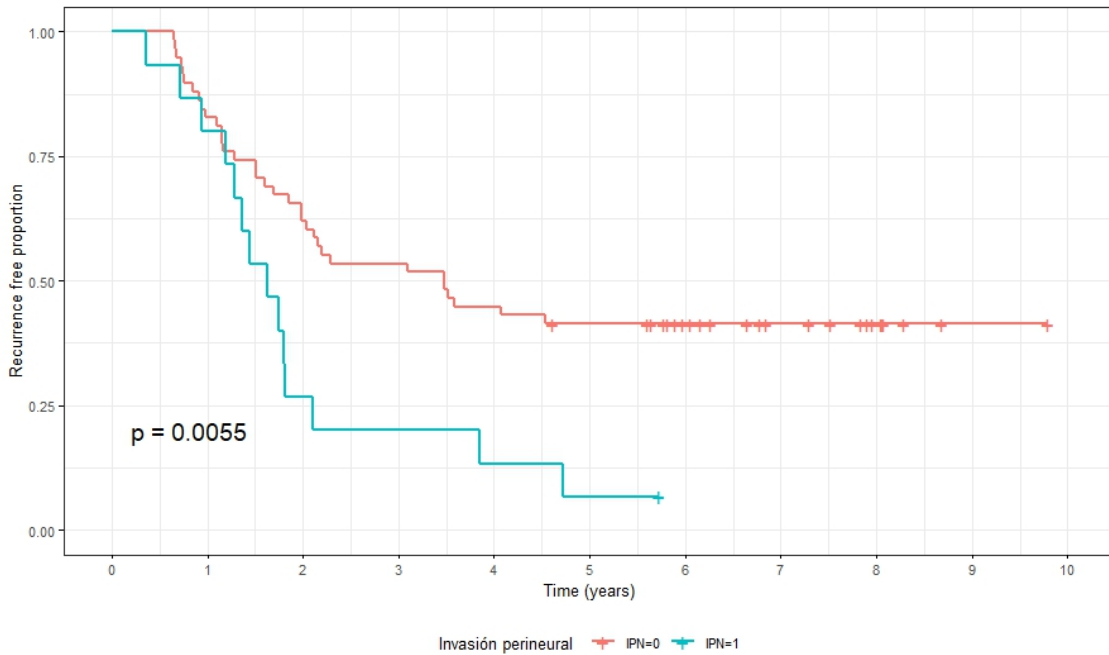
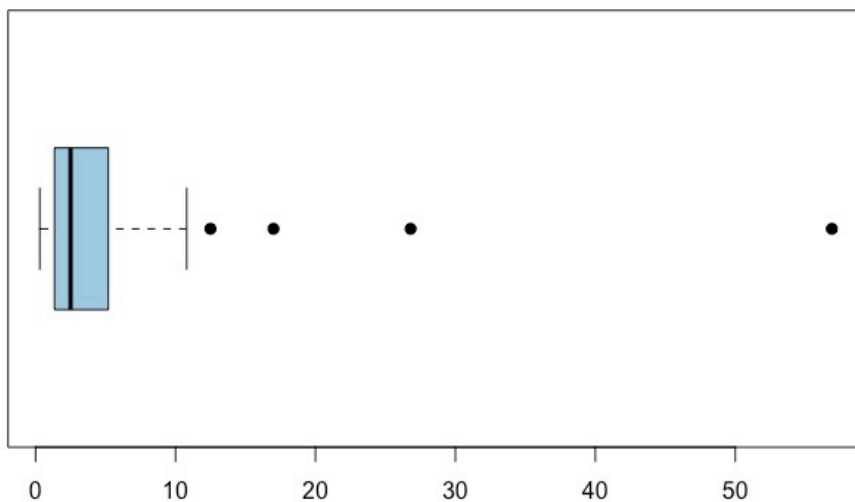


Figura 25. Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que presentaron ILV en la pieza quirúrgica.



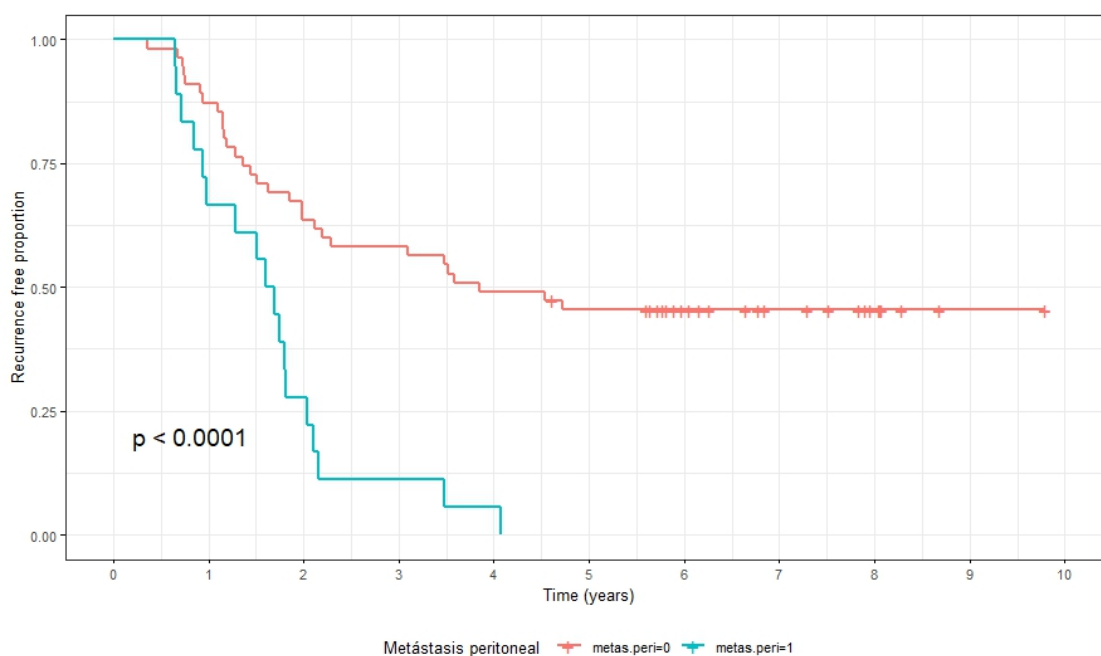
**Figura 26.** Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que presentaron IPN en la pieza quirúrgica.

4. *CEA*: aproximadamente el 70% de los pacientes incluidos en nuestro estudio presentaron niveles normales de *CEA* prequirúrgico. Cuando se analizó por subgrupos, se detectó en el grupo *Recaída* un claro mayor porcentaje de pacientes (35,89% vs 8%) que presentaron un *CEA* prequirúrgico por encima del límite de la normalidad (niveles de *CEA* mayor o igual a 5 ng/ml). En el diagrama de cajas que se muestra a continuación (Figura 27) se puede observar que 4 pacientes presentaron niveles prequirúrgicos muy elevados de *CEA*. Todos estos 4 pacientes presentaron posteriormente una recaída de su enfermedad.



**Figura 27.** Diagrama de cajas que muestra la dispersión de los niveles de *CEA* prequirúrgico en los pacientes incluidos en nuestra serie.

5. *Tratamiento adyuvante*: Del total de los 73 pacientes incluidos un 84,93% recibió tratamiento adyuvante tras la intervención ya fuese con FOLFOX/CAPOX o capecitabina en monoterapia. La administración de dichos tratamientos no mostró un impacto en la supervivencia de los pacientes incluidos de manera significativa probablemente debido al escaso número de pacientes incluidos en cada grupo.
6. *Tipo de recaída y localización*: El 61,64% de los pacientes incluidos presentaron una recaída. La localización más frecuente fue el hígado (41,67%), seguida del peritoneo (37,5%), el pulmón (22,92%) y la afectación ganglionar (16,67%). El 66,67% de los pacientes que recayeron fallecieron a causa del tumor. La presencia de una recaída hepática y peritoneal supuso una menor SLE de manera estadísticamente significativa comparada con otras localizaciones (Figura 28). Este impacto en supervivencia no alcanzó la significación estadística en el caso de la recidiva ganglionar y pulmonar.



**Figura 28.** Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE en el grupo de pacientes que recaen a nivel peritoneal es inferior a los que recaen en otras localizaciones.

7. *Datos inmunohistoquímicos y moleculares*: En cuanto a la expresión de CDX2, al analizar por subgrupos ya hemos mencionado como hay un porcentaje claramente superior de ausencia de tinción de este marcador en el grupo *Recaída*, aunque no alcanzó la significación estadística. De hecho, al analizar los datos de SLE en función de su expresión vemos como existe una tendencia no significativa a una menor SLE en aquellos pacientes sin expresión tumoral de CDX2 (Figura 29). Tampoco la presencia o ausencia de expresión de STAB2 se asoció a una menor SLE en los pacientes incluidos en nuestra serie (Figura 30).

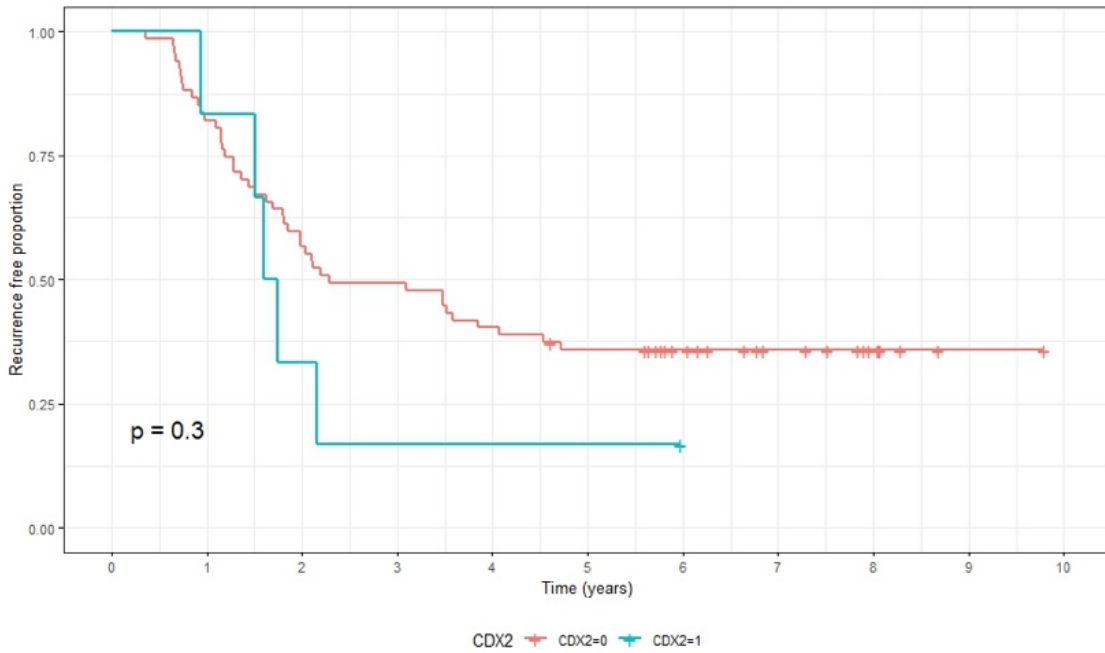


Figura 29. Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la ausencia o expresión inmunohistoquímica de CDX2.

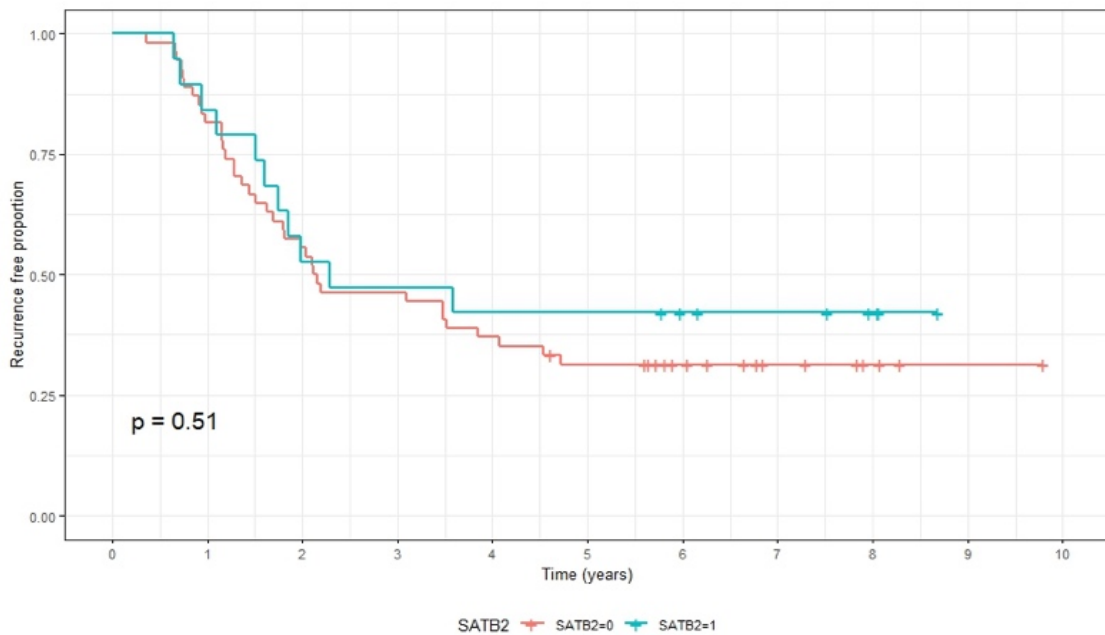


Figura 30. Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la ausencia o expresión IHQ de SATB2.

El estudio molecular de los tumores analizó las mutaciones más frecuentes como *BRAF*, *NRAS* o *KRAS*, así como otras alteraciones que se han postulado como de mal pronóstico en otros tumores como las mutaciones en la región promotora de *TERT* y en *TP53*. Se analizó la SLE de las mutaciones más frecuentes detectadas en nuestra serie, pero no se han encontrado diferencias en SLE de manera estadísticamente significativas en función de la presencia o ausencia de mutaciones en *KRAS* o *TP53* (Figuras 31 y 32).

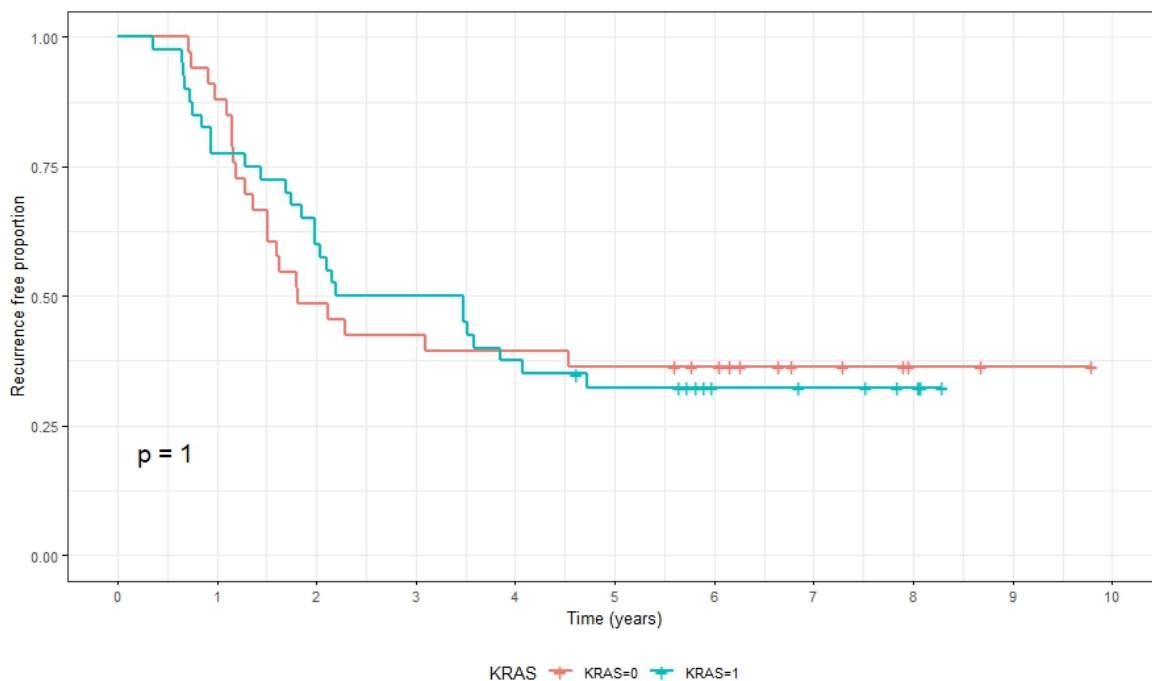


Figura 31. Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la presencia o no de mutación en *KRAS*.

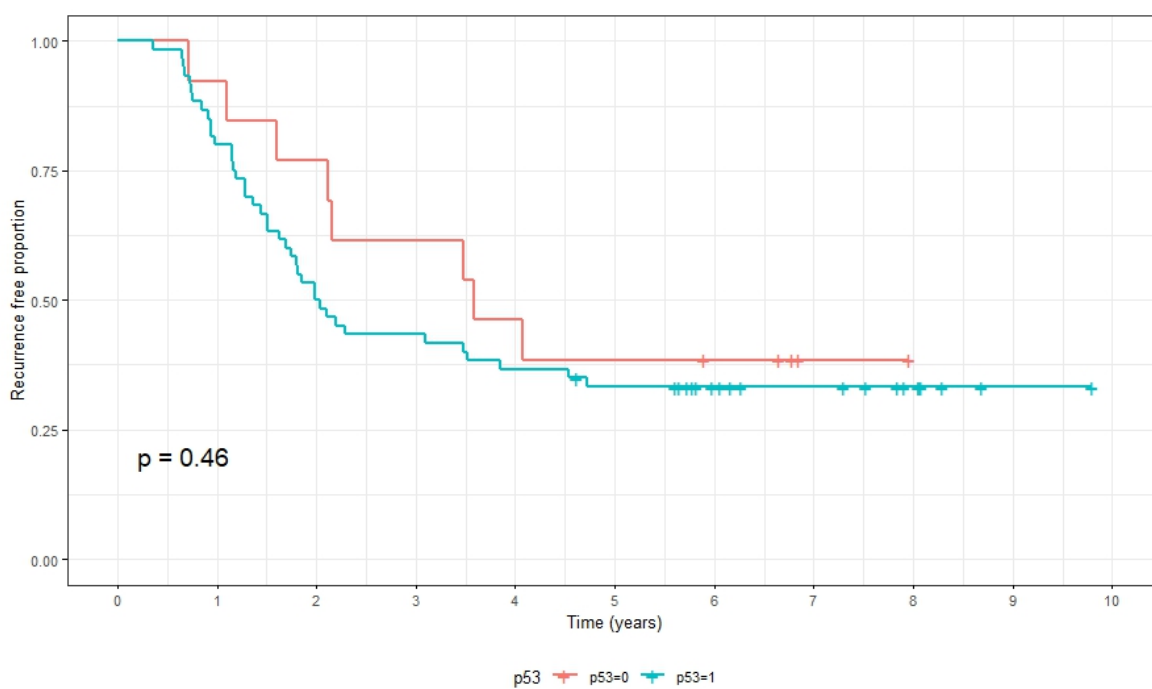


Figura 32. Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la presencia o no de mutaciones en *TP53*.

#### 4. ANÁLISIS PROTEÓMICO

El análisis proteómico se realizó sobre secciones de tejido tumoral de CC que habían sido FFIP. Incluyó un análisis de proteómica diferencial empleando un equipo triple TOF 6600 de Sciex (SCIEX, Foster City, CA, Estados Unidos), que permite realizar un análisis cualitativo (modo dependiente de datos-DDA) y cuantitativo a través del método de adquisición SWATH-MS. A continuación, se exponen y discuten los resultados del estudio cuantitativo y cualitativo realizado sobre las muestras seleccionadas.

##### 4.1. Estudio cuantitativo (SWATH-MS<sup>TM</sup>) de las proteínas significativamente desreguladas entre los grupos *Recaída* y *Sin recaída*

Se realizó un análisis cuantitativo SWATH-MS usando “pooles” de las muestras pertenecientes a cada grupo para generar la librería. Una vez obtenida esta librería y creado el método de búsqueda SWATH-MS se procedió al análisis de cada muestra por espectrometría de masas. Los tiempos de retención se ajustaron en la aplicación Peakview y se procedió a la extracción de las áreas de cada una de las proteínas en cada muestra. Estas áreas correspondieron a 10 péptidos por proteína y 7 rupturas por péptido. Las áreas se analizaron en el programa Marker View en el que se realizó el análisis de los componentes principales (PCA) para ver las diferencias entre grupo. Así consideraremos diferencialmente expresadas las proteínas con un  $p < 0,05$  y FC (Fold Change)  $> 1,5$  o  $< 0,6$ . Por otra parte, las áreas normalizadas del SWATH-MS se analizaron con el GraphPad Prism 9, para visualizar mejor los cambios de interés y se analizaron mediante un test Anova. Además, para estudiar como las proteínas pueden separar los grupos y ver la existencia de muestras "outliers" se realizó un análisis de PCA. En este caso se encontró que la separación en PC1 es de más del 80.4% lo que indicó una buena separación de los grupos (Figura 33). Encontramos 4 muestras que tienen un comportamiento distinto del resto de las muestras; aunque no las excluyeron del estudio por considerar que reflejan la gran heterogeneidad de los tejidos tumorales. Estas muestras solo presentaron comportamiento anómalo al estudiar con más detenimiento, algunas proteínas como se puede ver más adelante. De hecho, tras revisar más detenidamente el historial clínico se encontró que estos pacientes tenían enfermedades inflamatorias que podían estar alterando las proteínas relacionadas con el sistema inmune y justificar estos "outliers".

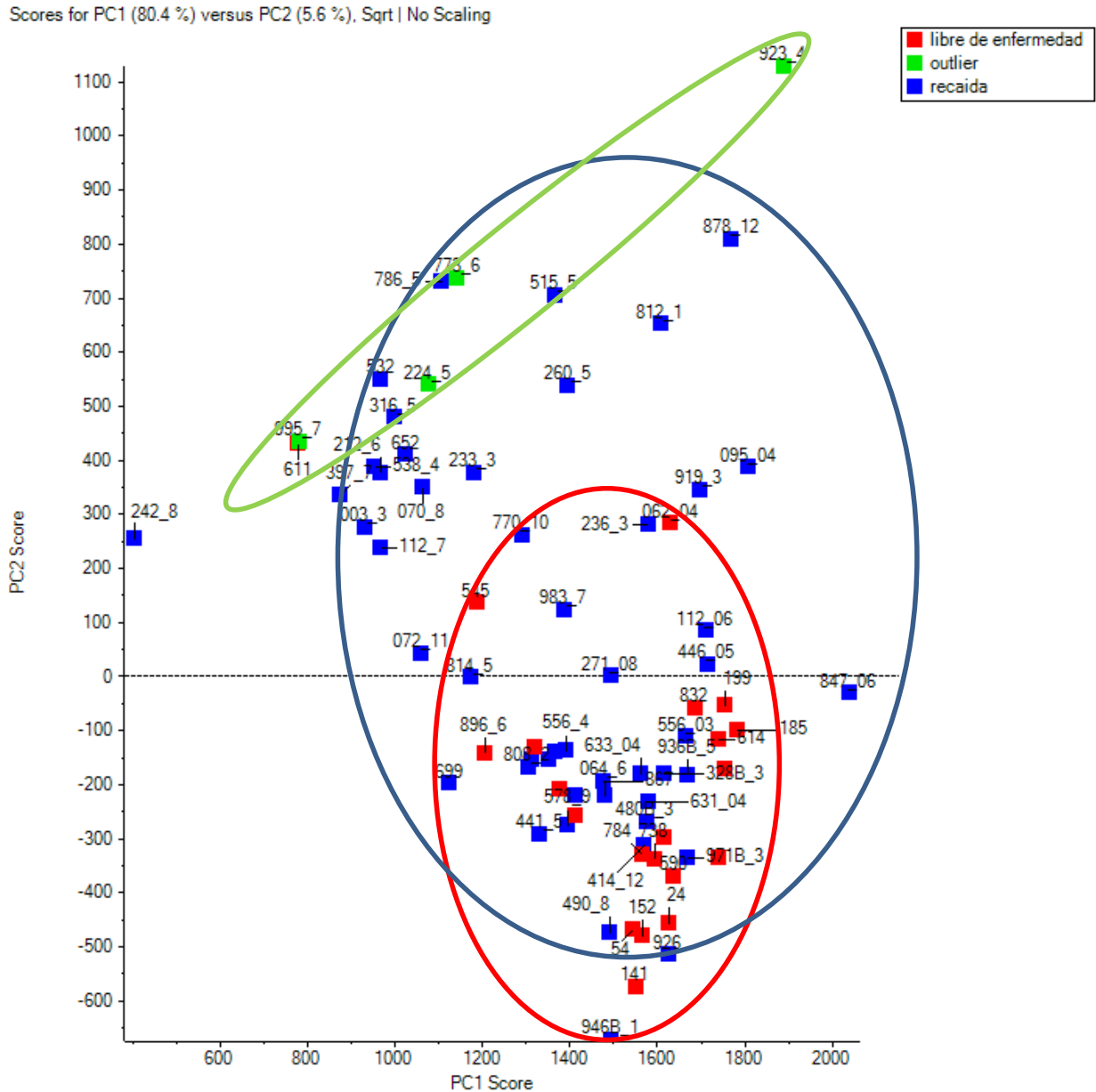
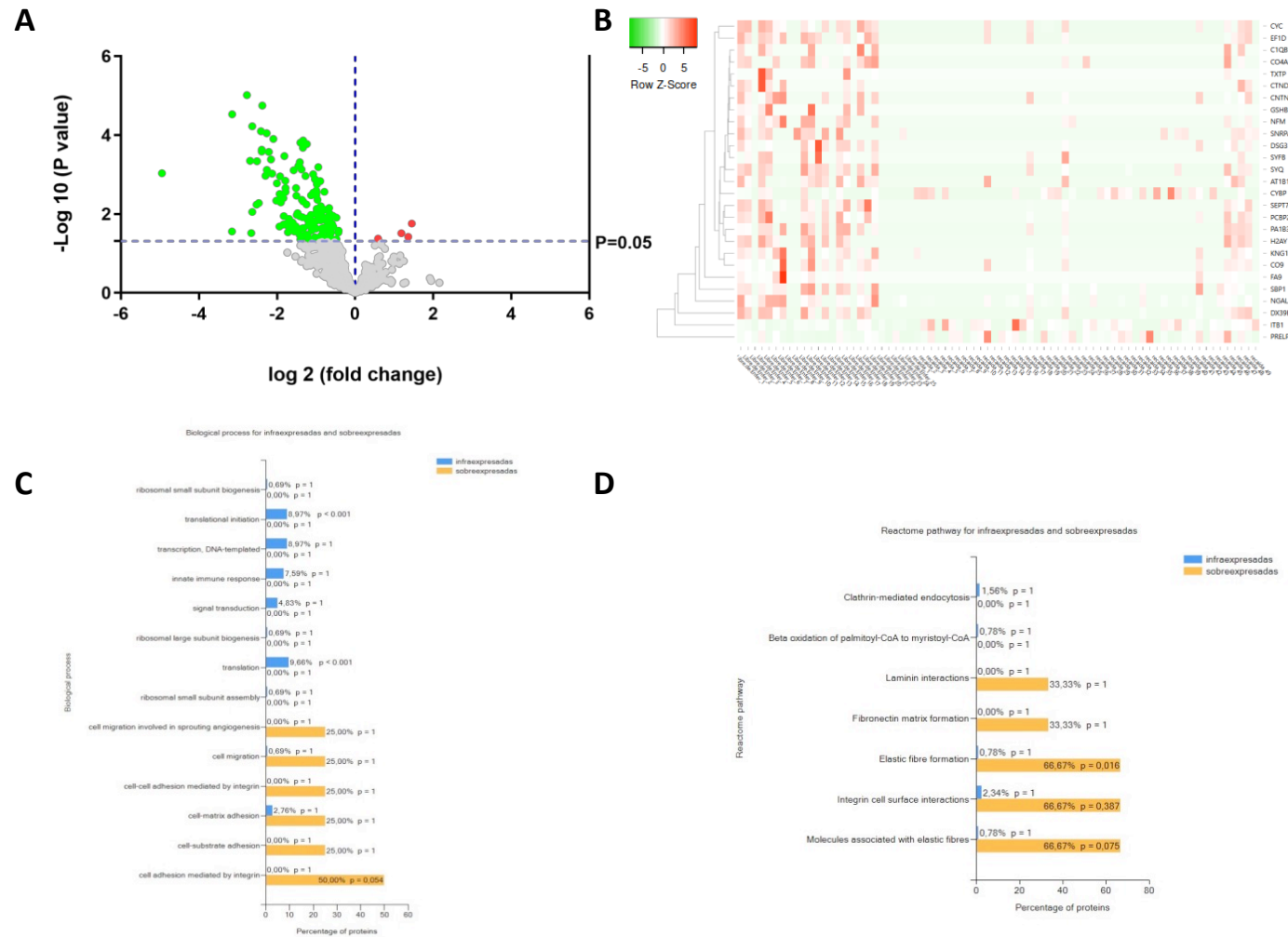


Figura 33. Análisis de componentes principales de los datos del estudio. La figura ilustra los dos componentes principales (PC1 y PC2) que explican la mayoría de las variaciones en el conjunto de datos. En este caso el análisis muestra un 80.4% de separación en PC1.

El análisis SWATH mostró 4 proteínas sobreexpresadas en el grupo de Recaída y 150 proteínas infraexpresadas (Figura 34-A y Figura 34-B).

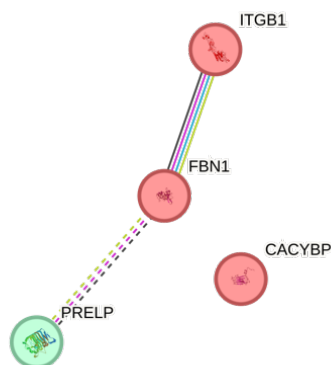


**Figura 34.** Proteínas sobreexpresadas e infraexpresadas en tumores de pacientes con recaída. A) Volcano plot en el que se ven las proteínas significativamente ( $p < 0.05$ , línea punteada) sobreexpresadas (rojo) e infraexpresadas (verde) en tumores de pacientes con recaída. B) Heat map en el que se representan las proteínas sobreexpresadas y las proteínas infraexpresadas con menos de  $FC < 0.2$  (debido al gran número de proteínas infraexpresadas se opta por representar únicamente las que tienen un FC más pequeño, más infraexpresadas). C) Análisis funcional de los procesos biológicos más alterados en ambos grupos de proteínas encontradas sobreexpresadas e infraexpresadas (FunRich). D) Análisis funcional de las "pathways" más alteradas en ambos grupos de proteínas encontradas sobreexpresadas e infraexpresadas (FunRich).

En el estudio de los procesos biológicos más alterados comparando ambos grupos (Figura 34-C), encontramos en el grupo de proteínas sobreexpresadas, proteínas mayoritariamente implicadas en migración y angiogénesis así como con procesos de adhesión célula-matrix y célula-sustrato; mientras que el grupo de las proteínas infraexpresadas participa mayoritariamente en procesos de translacion, transcripción, ribosomas, traducción de la señal y respuesta inmune. Con respecto a las "pathways" más alteradas (Figura 34-D) entre las proteínas sobreexpresadas encontramos proteínas relacionadas con la formación de fibras elásticas, formación de fibronectina, laminina e interacciones integrina-membrana celular, mientras que entre las vías de señalización asociadas a las proteínas infraexpresadas se encuentran la endocitosis mediada por clathrin y la beta-oxidación.

#### 4.1.1. Resultados y discusión del análisis de proteínas significativamente sobreexpresadas en el grupo Recaída

Mediante el uso de la base de datos String se analizaron las interrelaciones de las 4 proteínas sobreexpresadas (con un intervalo de confianza de 0,9) en los tumores de los pacientes que presentaron recaída (CACYBP, PRELP, ITGB1 y FBN1). Como se muestra en la Figura 35, se encontró una fuerte interacción entre las proteínas ITGB1 y FBN1. Para facilitar la descripción y discusión de los resultados del análisis con la base de datos String, se hará referencia al nombre del gen en lugar de la proteína para referirse a los agregados (*clusters*) e interacciones.

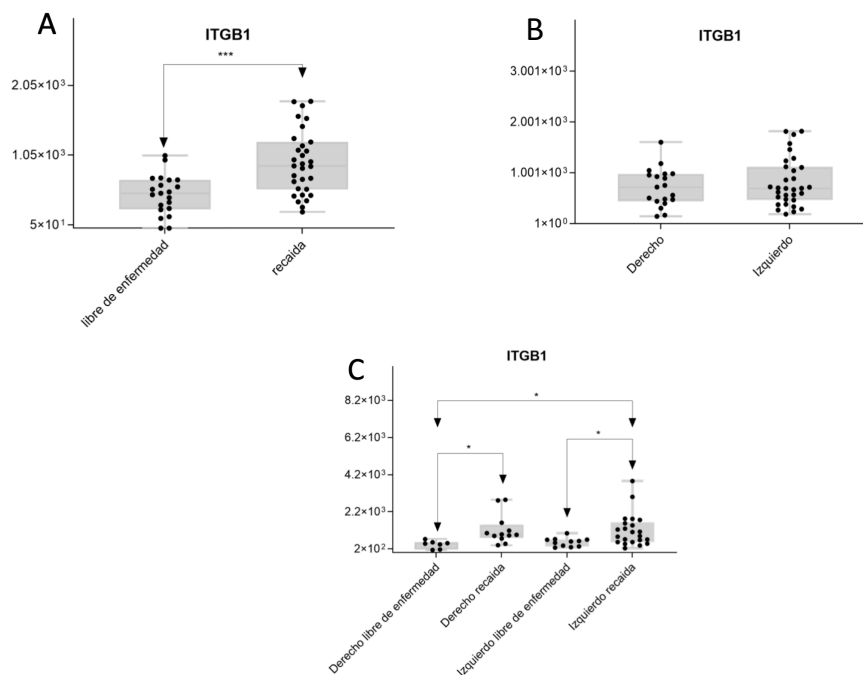


**Figura 35.** Proteínas sobreexpresadas en tumores de pacientes con recaída. Representación de las interacciones mediante el análisis con la base de datos String.

Las proteínas ITGB1 y FBN1 presentan una fuerte interacción y están relacionadas con fenómenos de adhesión y migración celular así como la transducción de señales a través de la vía de TGF-B. Ambas proteínas se postulan como biomarcadores pronósticos de CC en nuestro estudio.

- **ITGB1:** La integrina  $\beta 1$  es una proteína codificada en humanos por el gen *ITGB1*. Se trata de un receptor de membrana que está implicado en fenómenos de adhesión, migración y diferenciación celular (Zhang et al, 2012) y en la transducción de señales a través de la vía de PI3K/AKT (Cordes et al, 2006). Actúa como receptor de múltiples

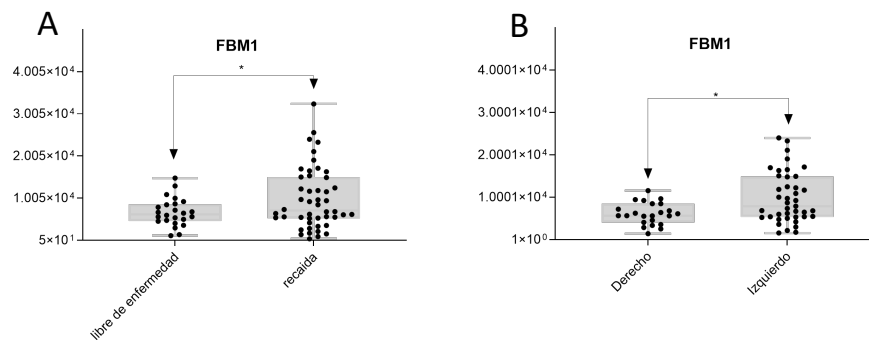
ligandos como la IL1B o la fibrilina 1 (Bax et al, 2003). Un estudio realizado en pacientes con CC mostró una menor supervivencia en aquellos con una alta expresión de esta proteína (Liu et al, 2015). Otro estudio sobre el papel de la Ropivacina como inhibidor de la proteína integrina  $\beta 1$  en líneas celulares de CC mostró como la inhibición de ITGB1 se asoció a una menor proliferación y migración de las células tumorales a través de la vía AKT (Wang et al, 2021). Esto concuerda con los datos obtenidos en nuestra serie en la que se objetivó una mayor expresión de ITGB1 en los tumores que presentaron recaída (Figura 36-A). No se encontraron diferencias en la expresión de ITGB1 en el análisis global por lateralidad (Figura 36-B). Sin embargo, al estratificar los datos por lateralidad y recaída se objetiva una expresión diferencial significativa (Figura 36-C) en ambos lados, lo que apoya su uso como biomarcador.



**Figura 36.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de ITGB1 se función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del area obtenida en el análisis SWATH-MS para ITGB1 en una muestra.

- FBN1:** La fibrilina 1 es una proteína que forma parte de las microfibrillas que componen la matriz extracelular (Sakai et al, 1991). Tiene propiedades reguladoras a través de su interacción con factores del crecimiento y (Jensen et al, 2016)<https://www.uniprot.org/citations/27026396> del control de la adhesión celular, a través de su unión a los receptores de la superficie celular de las integrinas ITGAV:ITGB3 y ITGA5:ITGB1 (Bax et al, 2003; Jovanovic et al, 2007)<https://www.uniprot.org/citations/17158881>). No se han establecido datos en cuanto al papel de FBN1 como factor pronóstico en CC, aunque se ha postulado la hipermetilación del promotor del gen *FBN1* como un posible método de screening de CC en muestras de heces (Guo et al, 2013). Se ha evaluado el papel de FBN1 en la progresión del cáncer gástrico evidenciándose una mayor expresión de FBN1 en aquellas neoplasias

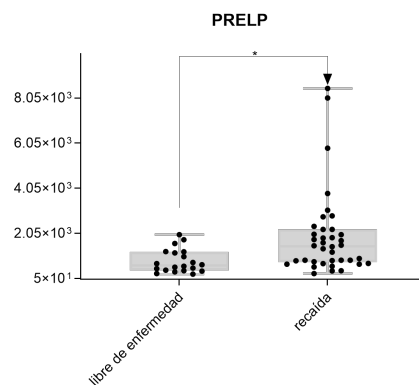
con menor supervivencia (Wang et al, 2022). La interacción de FBN1 con las integrinas se ha asociado con la activación de TGF $\beta$ 1 y de distintas vías intracelulares como PI3K/AKT, relacionadas con fenómenos de transición epitelio-mesénquima (Salvo et al, 2014; Kindlund et al, 2017). Es conocido que estos mecanismos de progresión y vías de activación, son más frecuentes en los tumores del lado izquierdo (Guinney et al, 2015), lo que concuerda con nuestros hallazgos (Figura 37-A y 37-B).



**Figura 37.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de FBN1 en función de: A) presencia de recaída o libre de enfermedad y B) lateralidad.

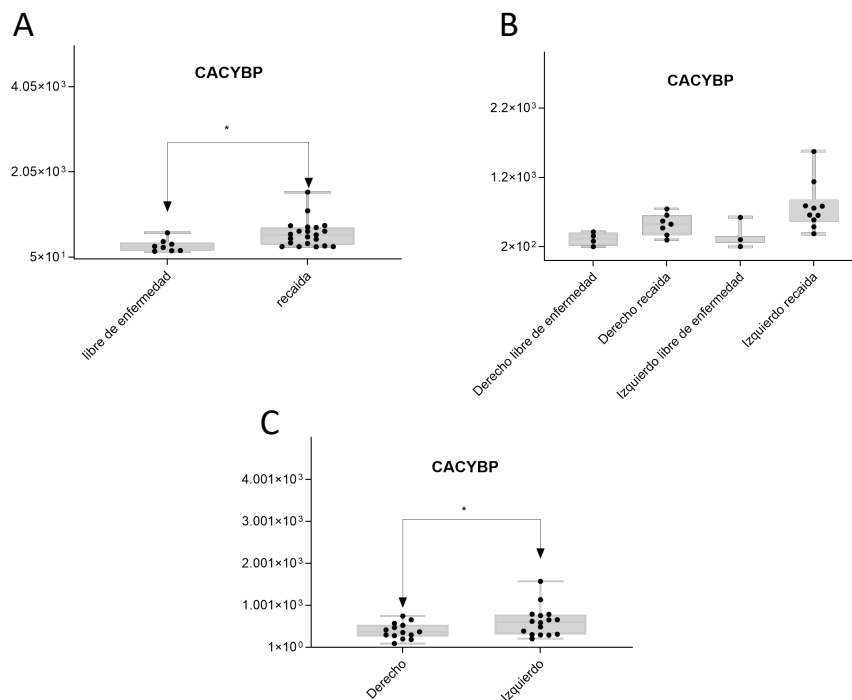
Nuestro estudio identificó una interacción débil entre la proteína PRELP y FBN1.

- **PRELP:** La prolargina es una proteína que funciona como punto de anclaje entre las membranas basales y el tejido conectivo subyacente. Se ha correlacionado como marcador de buen pronóstico en múltiples tumores (p. ej. hepatocarcinoma y adenocarcinoma ductal pancreático) por su acción supresora tumoral (Chiavarina et al, 2022; Chen et al, 2015). Al analizar nuestros datos, objetivamos una marcada sobreexpresión de PRELP en 4 pacientes con respecto al resto de la serie lo que sesgó los valores del análisis global. Los 2 pacientes con mayor expresión de PRELP presentaron enfermedades autoinmunes activas (Figura 38). Por ello y a pesar de las diferencias encontradas, no hemos considerado a PRELP como un posible biomarcador.



**Figura 38.** Diagrama de cajas se muestra que muestra la expresión diferencial de PRELP en el grupo recaída y libre de enfermedad. Se observa como 4 pacientes presentan resultados excepcionalmente elevados de PRELP en el grupo recaída.

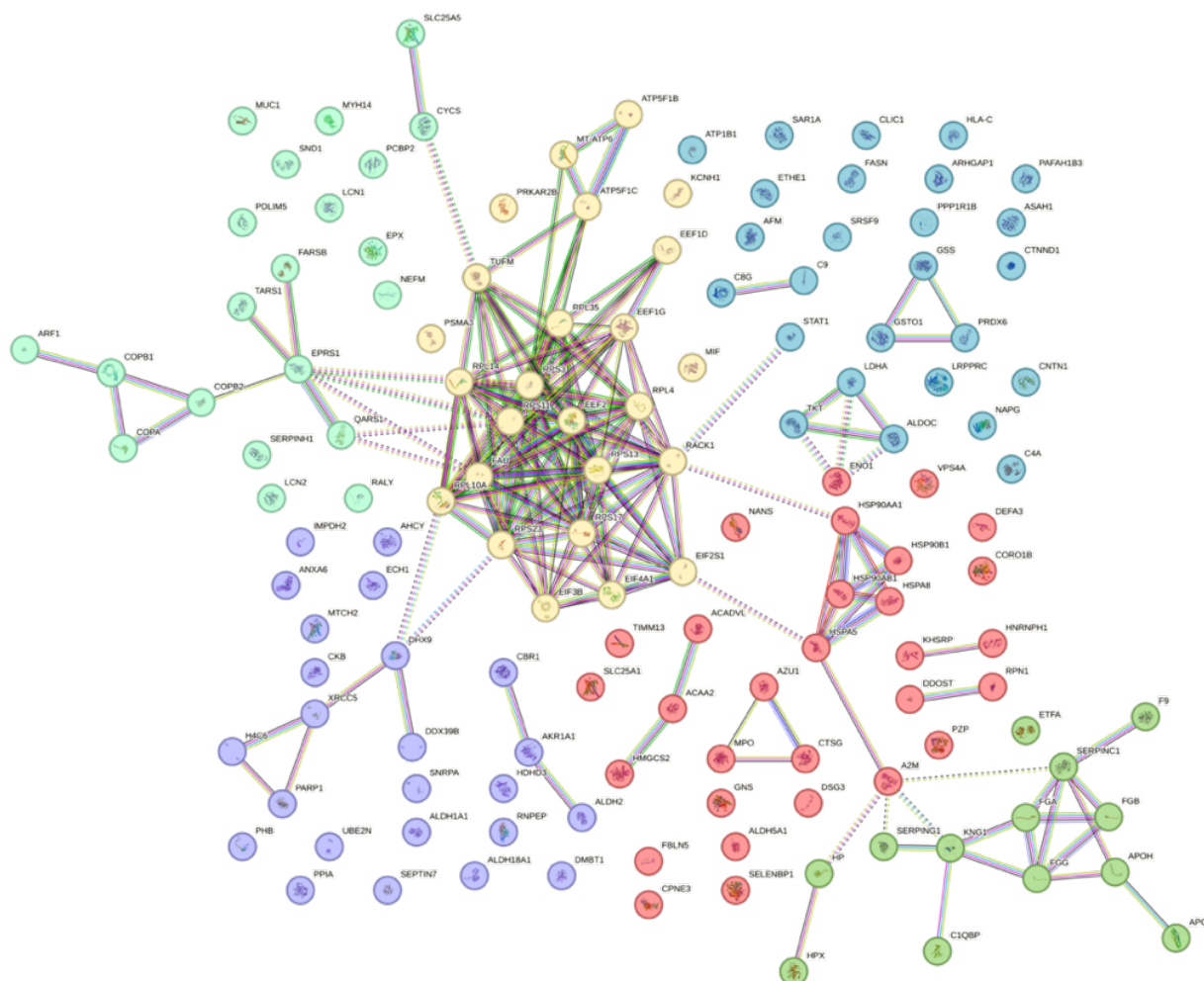
- CACYBP:** La proteína CACYBP o proteína de unión a calciclina está implicada en la ubiquitinación dependiente de calcio y posterior degradación proteasomal de las proteínas diana y participa en la degradación de la beta-catenina (CTNNB1) mediada por ubiquitina (Santelli et al, 2005). Varios investigadores han mostrado que la proteína CacyBP/SIP desempeña funciones importantes en procesos celulares como la ubiquitinación, proliferación, diferenciación, reordenamiento del citoesquelético, regulación de la transcripción y tumorigénesis (Wang et al, 2015). Un estudio mostró que esta proteína se encuentra sobreexpresada en muestras tumorales de CC (Zhai et al, 2017). Se ha descrito que niveles elevados de calcio dan lugar a la translocación de la proteína CACYBP al núcleo y esto se ha relacionado con un aumento de la degradación de p27 (Zhai et al, 2017). P27 o el inhibidor 1B de quinasa dependiente de ciclina funciona como punto de control del ciclo celular impidiendo el paso de la fase G1 a S (Graña et al, 1995; Yew et al, 2001). La infraexpresión de p27 se ha correlacionado con mal pronóstico en CC (Liu et al, 1999). Los datos de la literatura concuerdan con nuestros hallazgos y postulan a CACYBP como un posible biomarcador de mal pronóstico. De hecho, al analizar los datos teniendo en cuenta la lateralidad vemos como existe una tendencia no significativa a una mayor expresión de CACYBP en el grupo *Recaída* y una mayor expresión en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 39).



**Figura 39.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de CACYBP se función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del area obtenida en el análisis SWATH-MS para CACYBP en una muestra y C) en función de la lateralidad.

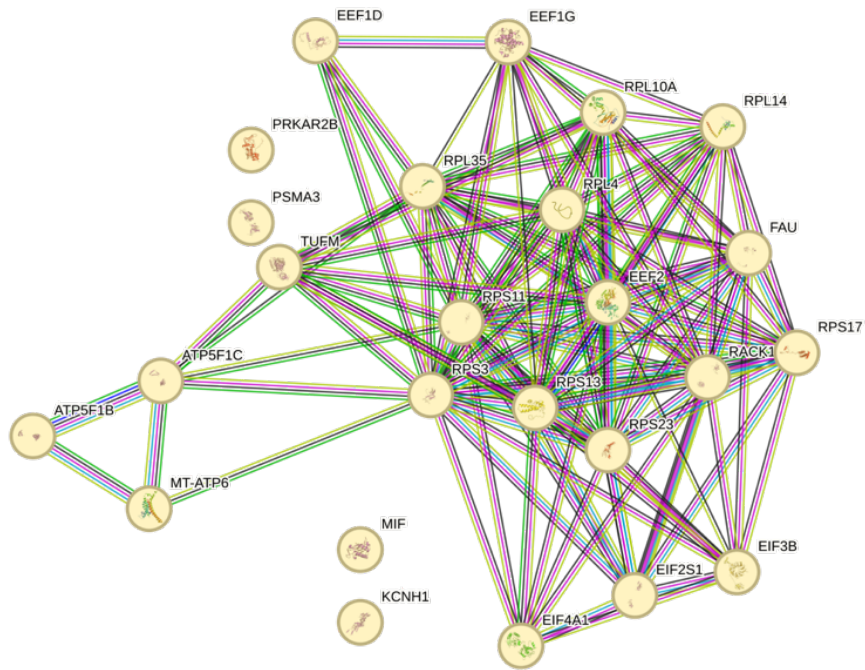
#### 4.1.2. Resultados y discusión del análisis de proteínas significativamente infraexpresadas en el grupo Recaída

A partir de la base de datos String se analizaron las interrelaciones de las 150 proteínas infraexpresadas en los tumores de los pacientes que presentaron recaída con un intervalo de confianza de 0,9. El análisis cuantitativo permitió evidenciar un importante *cluster* central de interacciones que conecta otros *clusters* más pequeños (Figura 40).



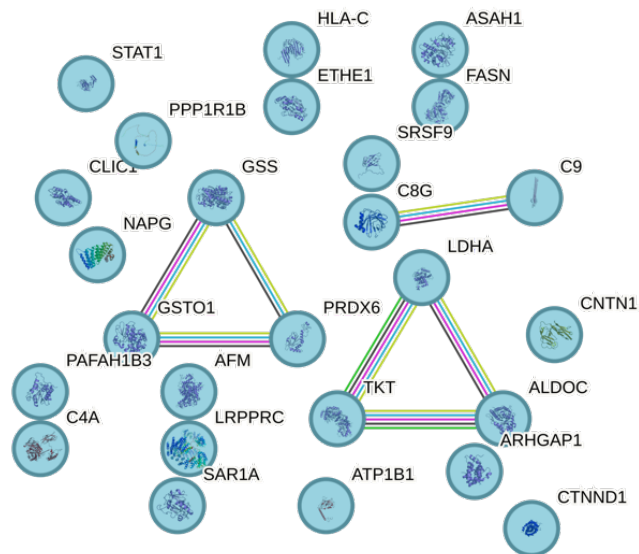
**Figura 40.** Representación mediante String de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con Recaída. Se identifican seis *clusters* principales de interacciones proteína-proteína.

El *cluster* más grande (*cluster* 1) incluyó 21 proteínas infraexpresadas en el grupo de recaída en comparación con el de no recaída. Este *cluster* 1 (EEF1D, EEF1G, EEF2, TUMF, FAU, RPL10A, RPL14, RPL35, RPS17, RPL4, RPS11, RPS3, RPS13, RPS23, RACK1, EIF4A1, EIF2S1, EIF3B, ATP5F1C, ATP5F1B, MT-ATP6) está compuesto por proteínas que forman parte de subunidades ribosómicas y factores de iniciación de la síntesis proteica implicados en fenómenos de traducción del ARN mensajero (Figura 41).



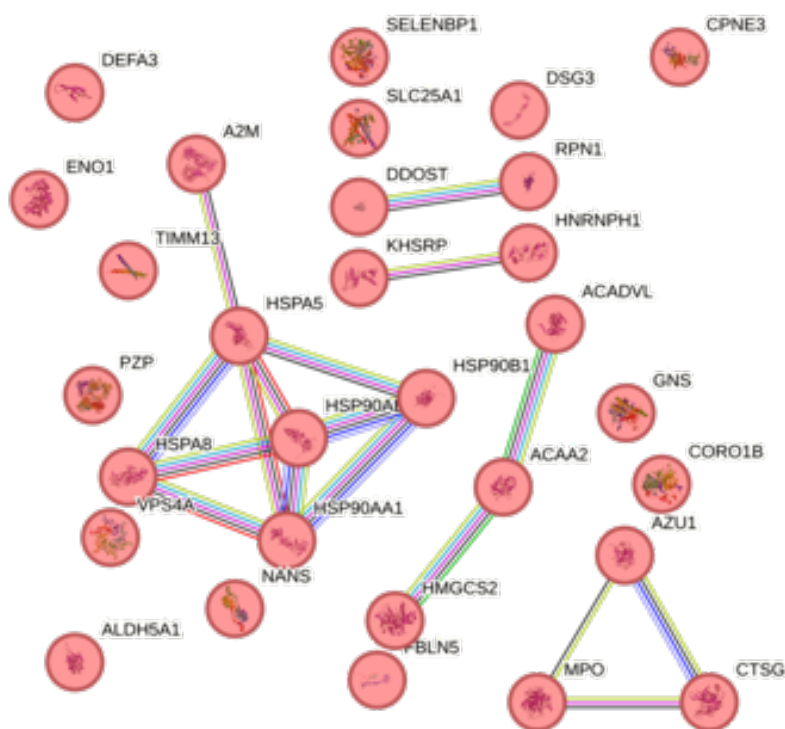
**Figura 41.** Representación del cluster principal (*cluster 1*) de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

Este *cluster* central principal (*cluster 1*) (Figura 40) interactúa con otro más pequeño (*cluster 2*) a través de STAT1 y está formado por 8 proteínas (TKT, ALDOC, LDHA, C8G, C9, GSTO1, PRDX6, GSS) que están implicadas en fenómenos relacionados con el metabolismo de las células tumorales (TKT, ALDOC, LDHA, GSTO1, PRDX6, GSS) y en fenómenos implicados con la activación del complemento (C8G, C9) (Figura 42).



**Figura 42.** Representación del *cluster 2* de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

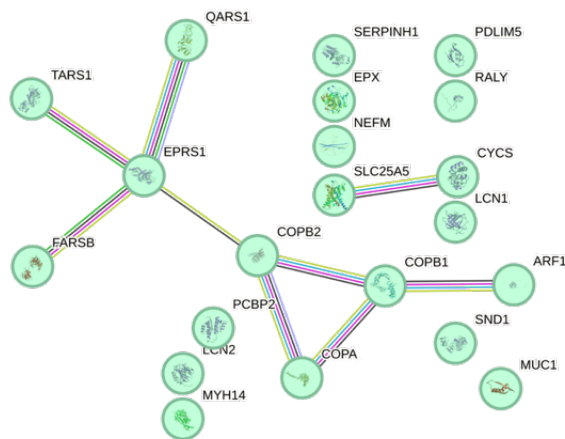
Además, el *cluster* central o *cluster* 1 interacciona, a través de las proteínas HSP90AA1 y HSPA5, con otro *cluster* (*cluster* 3) (Figura 43), menos agregado, que a su vez interacciona también con el *cluster* 2 a través de la proteína ENO1.



**Figura 43.** Representación del *cluster* 3 de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

Dentro del *cluster* 3 se ha encontrado una fuerte asociación entre las proteínas HMGCS2, ACAA2 y ACADVL implicadas en la beta-oxidación mitocondrial, así como entre las proteínas MPO, AZU1 y CTSG implicadas fundamentalmente en la regulación del sistema inmune. También se ha observado una fuerte interacción entre las proteínas A2M, cuya función es la inhibición de proteasas y/o el transporte de citocinas con capacidad para inhibir cascadas inflamatorias, con las proteínas HSPA5, HSPA8, HSP90AB1, HSP90AA1 y HSP90B1. Las proteínas de choque térmico (Heat Shock Protein) HSPA5, HSPA8, HSP90AB1, HSP90AA1 y HSP90B1, al igual que las proteínas DDOST y RPN1, están implicadas en el plegamiento y el procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático. Además, se observa una fuerte interacción entre las proteínas KHSRP y HNRP1, ambas implicadas en la regulación de ARN (Figura 43).

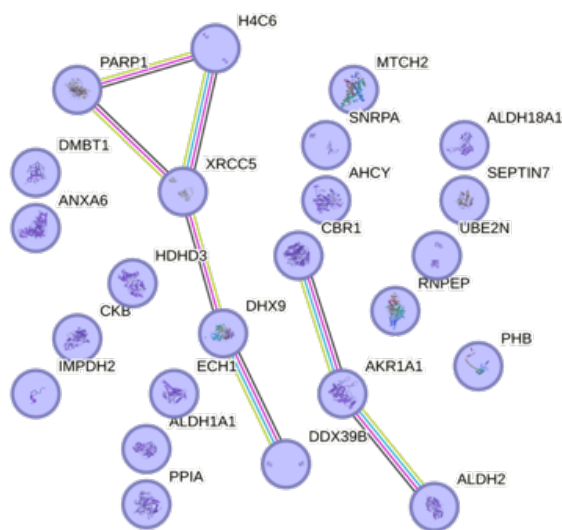
Desde el *cluster* principal (*cluster* 1) también hay conexión con otro *cluster* (*cluster* 4) a través de su interacción con las proteínas EPRS y QARS1.



**Figura 44.** Representación del *cluster 4* de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

En el *cluster 4* existe una fuerte interacción entre las proteínas TARS1, EPRS1, FARSB y QARS1 implicadas en fenómenos de catálisis del ARNt. Estas proteínas, a su vez, interactúan con las proteínas COPB2, COPA, COPB1, ARF1 que están implicadas en el transporte, formación y eliminación de vesículas en el aparato de Golgi. También se ha objetivado una fuerte interacción entre las proteínas SLC25A5 y CYCS que están implicadas en la respiración mitocondrial y en vías relacionadas con la muerte celular programada (Figura 44).

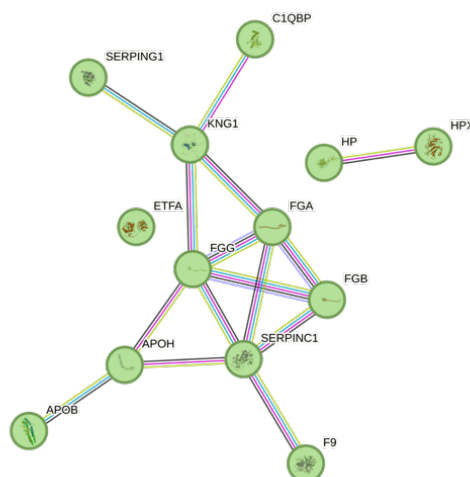
El *cluster principal (cluster 1)* interactúa también con otra agrupación proteica (*cluster 5*) a través de la proteína DHX9. Se visualiza una fuerte asociación entre las proteínas PARP1, H4C6, XRCC5, DDX39B implicadas en el procesamiento del RNA y entre las proteínas AKR1A1, CBR1 y ALDH2. Las proteínas AKR1A1, CBR1 y ALDH2 son proteínas aldehído reductasas implicadas en la oxidación del alcohol (Figura 45).



**Figura 45.** Representación del *cluster 5* de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.



El otro *cluster* identificado (*cluster* 6) está conectado con el *cluster* 3 a través de A2M pero no con el *cluster* principal (*cluster* 1). Está formado por 12 proteínas (SERPING1, C1QBP, KNG1, FGG, FGA, FGB, SERPINC1, APOH, APOB, F9, HP y HPX) implicadas, fundamentalmente, en fenómenos relacionados con la coagulación (Figura 46).



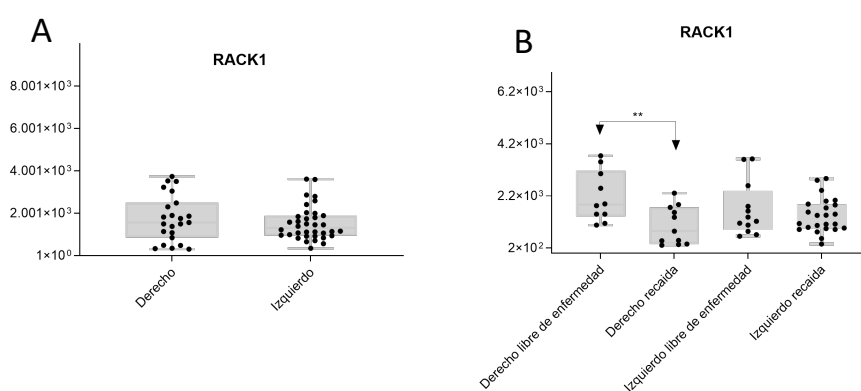
**Figura 46.** Representación del *cluster* 6 de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

Aunque el objetivo principal del presente estudio de proteómica diferencial es la búsqueda de biomarcadores pronósticos en pacientes con diagnóstico de CC localizado o localmente avanzado, también hemos evaluado de manera exploratoria la expresión proteica diferencial en función de la lateralidad (colon derecho *versus* colon izquierdo) del tumor en las proteínas más relevantes. Para ello, se analizó el papel de cada una de las proteínas infraexpresadas de los *clusters* previamente descritos como se muestra a continuación:

**CLUSTER 1:** El *cluster* principal (*cluster* 1) de las proteínas infraexpresadas en los pacientes con recaída está formado principalmente por subunidades ribosómicas y factores de iniciación de la síntesis proteica implicados fundamentalmente en fenómenos de traducción (Figura 41). Tras revisión de la literatura se analizó el papel de estas proteínas y su implicación en fenómenos relacionados con la progresión tumoral en CC. Como se describe a continuación, se identificaron las siguientes proteínas como posibles biomarcadores pronósticos, evaluando también la expresión diferencial de algunas de las proteínas más relevantes en función de la lateralidad.

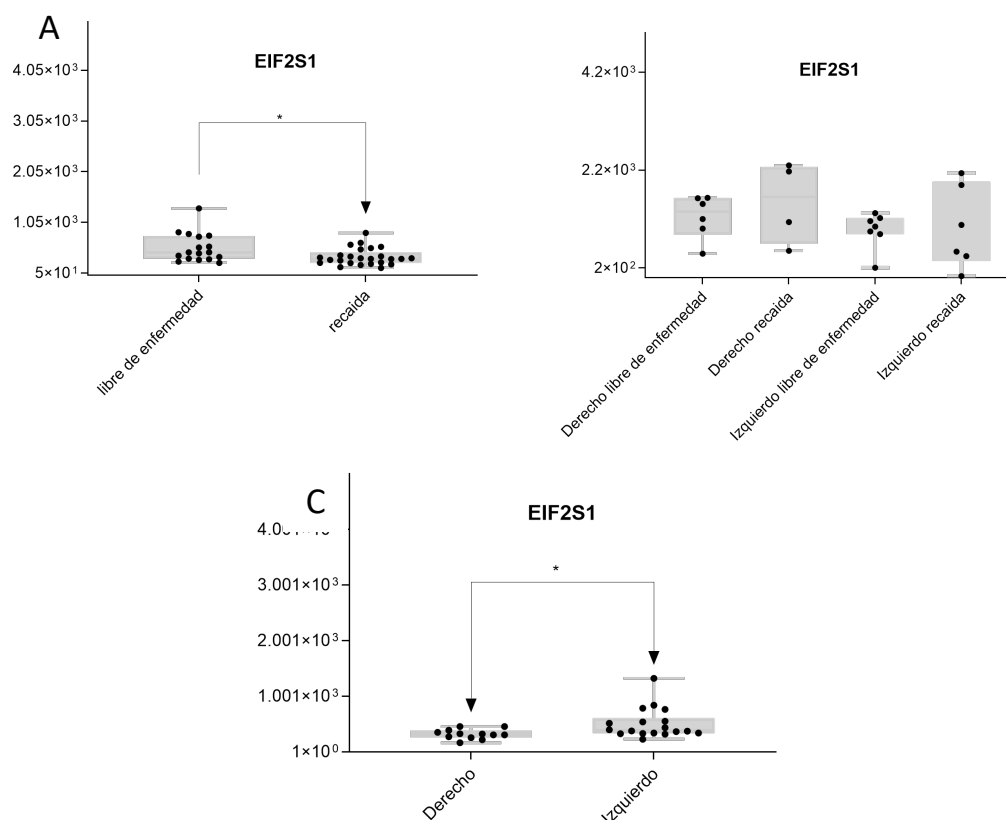
- **RACK1:** El receptor para la quinasa 1 C activada, también conocido como subunidad beta-2 similar a 1 de la proteína de unión a nucleótidos de guanina, está codificado por el gen *RACK1*, también denominado *GNB2L1*. Se trata de una proteína de anclaje que forma parte de la subunidad 40s del ribosoma y que está implicada en fenómenos de represión de la transcripción. Se ha descrito su participación en el control del crecimiento celular en CC y cáncer gástrico a través

de la inhibición de Src y su acción en la vía Wnt/beta-catenina (Swaminathan et al, 2012; Yu et al, 2021). De hecho, el bloqueo de la ubiquitinización de RACK1 suprime la hiperactivación de la vía Wnt/beta-catenina y la progresión del cáncer gástrico (Yu et al, 2021). En nuestra serie se ha objetivado una menor expresión de RACK1 en los pacientes que habían presentado recaída lo que concuerda con lo descrito en la literatura. No se han identificado diferencias en cuanto a la lateralidad de manera global. Sin embargo, al evaluar la expresión de RACK1 en función de la lateralidad vemos como existe una menor expresión de RACK1 en los tumores con recaída localizados en el lado derecho de manera significativa (Figura 47). Por ello, se postula como un posible biomarcador de riesgo en aquellos tumores localizados en el lado derecho.



**Figura 47.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína RACK1 en función de: A) su lateralidad y B) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad.

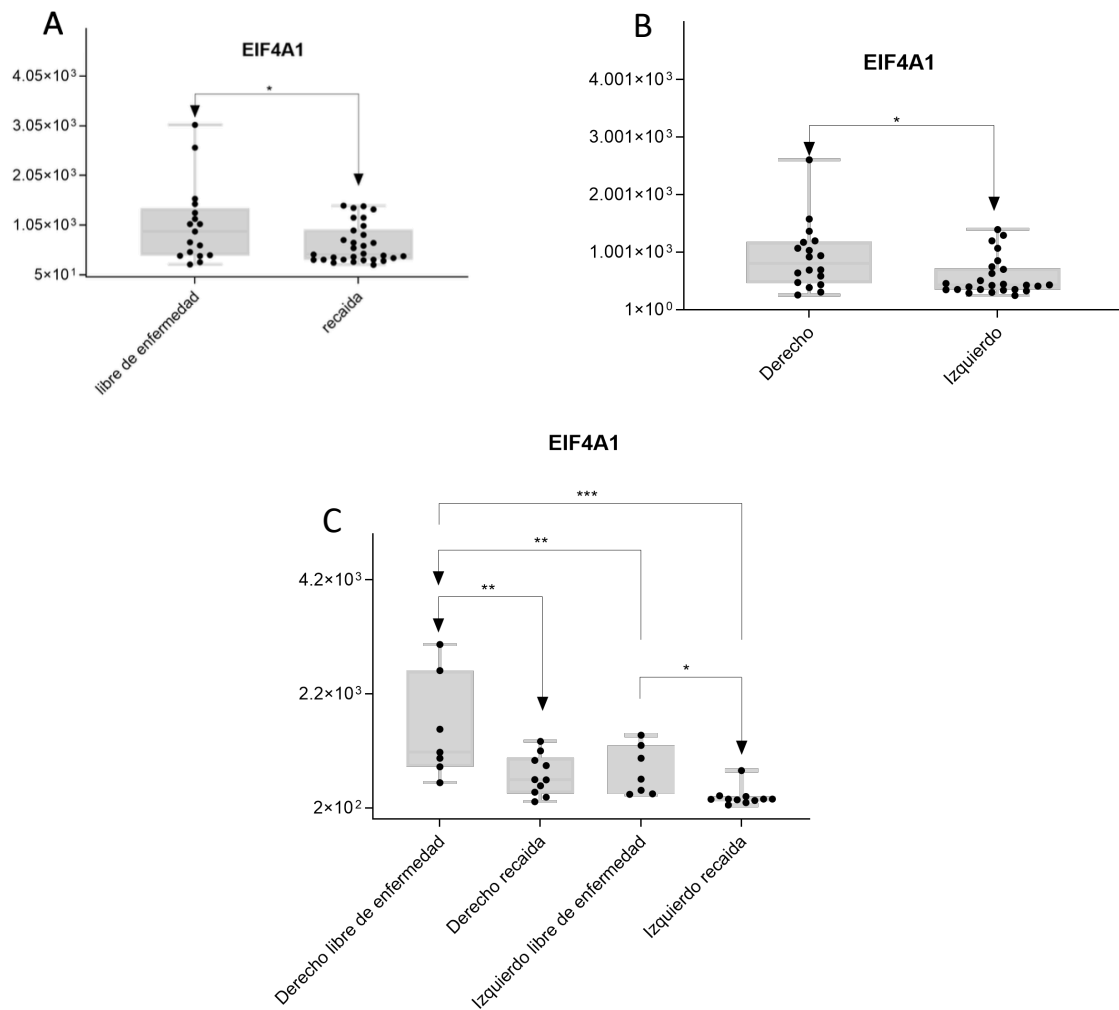
- EIF2S1:** La subunidad 1 del factor 2 de iniciación de la traducción eucariota es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF2S1/EIF2A*. Es un miembro del complejo eIF2 que funciona en los primeros pasos de la síntesis de proteínas formando un complejo ternario con GTP y B RNt iniciador (Mikami et al, 2006). En el cáncer de páncreas la expresión de EIF2S1 se asoció a un menor tiempo de SLE (Chen et al, 2023). Se ha descrito EIF2A como una proteína esencial para la supervivencia de las células tumores. Los niveles elevados de EIF2S1 se correlacionaron con mal pronóstico en cáncer de mama (Chen et al, 2019). Por el contrario, en adenocarcinomas nasosinusales de tipo intestinal, la menor expresión de EIF2S1 se correlacionó con un peor pronóstico (estadios más avanzados) (Schatz et al, 2021). Al analizar la muestra de manera global, vemos como EIF2S1 se encuentra menos expresada en el grupo de pacientes con recaída. Sin embargo, al analizar los datos teniendo en cuenta la lateralidad, vemos como existe una tendencia a una mayor expresión de EIF2S1 en el grupo de peor pronóstico, lo que concuerda con los resultados publicados en cáncer de páncreas y cáncer de mama. Además, se objetivó una mayor expresión de EIF2S1 en los tumores localizados en el lado izquierdo frente al lado derecho (Figura 48).



**Figura 48.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EIF2S1 en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para ITGB1 en una muestra y C) en función de la lateralidad.

- EIF3B:** La subunidad B del factor 3 de iniciación de la traducción eucariótica es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF3B*. Esta subunidad es una de las 12 que componen el complejo EIF3 implicado en la fase de iniciación de la traducción proteica (Zhou et al, 2008) y que forma parte de su núcleo principal. Aunque algunos estudios sugieren que una mayor expresión de EIF3B se asocia con una mayor proliferación celular (Wang et al, 2012); es la interrelación así como la expresión entre las distintas subunidades que forman este complejo l que condicionan el desarrollo de una proteína anómala que altera la fase de traducción proteica y que se ha visto implicada en el desarrollo de múltiples enfermedades como el cáncer. En nuestra serie, EIF3B se encuentra infraexpresada en aquellos pacientes que presentan recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.
- EIF4A1:** El factor de iniciación de la traducción eucariota 4A1 es una ARN helicasa dependiente de ATP necesaria para la unión del ARNm al ribosoma, codificada por el gen *EIF4A1* (Loh et al, 2009). Esta sobreexpresada en el cáncer renal (Wu et al, 2021) y aunque el aumento de su expresión se ha correlacionado con un peor

pronóstico en el carcinoma renal de células claras (Zhang et al, 2022), estos datos no han sido confirmados en el CC. Un estudio mostró una disminución de expresión de EIF4A1 en tejido tumoral frente a tejido sano (Söylemez et al, 2021). La expresión de EIF4A1 también se ha relacionado con estadios más precoces de CC lo que podría explicar los resultados de nuestra serie (Bednarczyk et al, 2017). A mayor desdiferenciación, peor pronóstico y menor expresión de EIF4A. Estos datos se sostienen en el análisis de expresión teniendo en cuenta la lateralidad, donde además, objetivamos una mayor expresión de EIF4A1 en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 49).

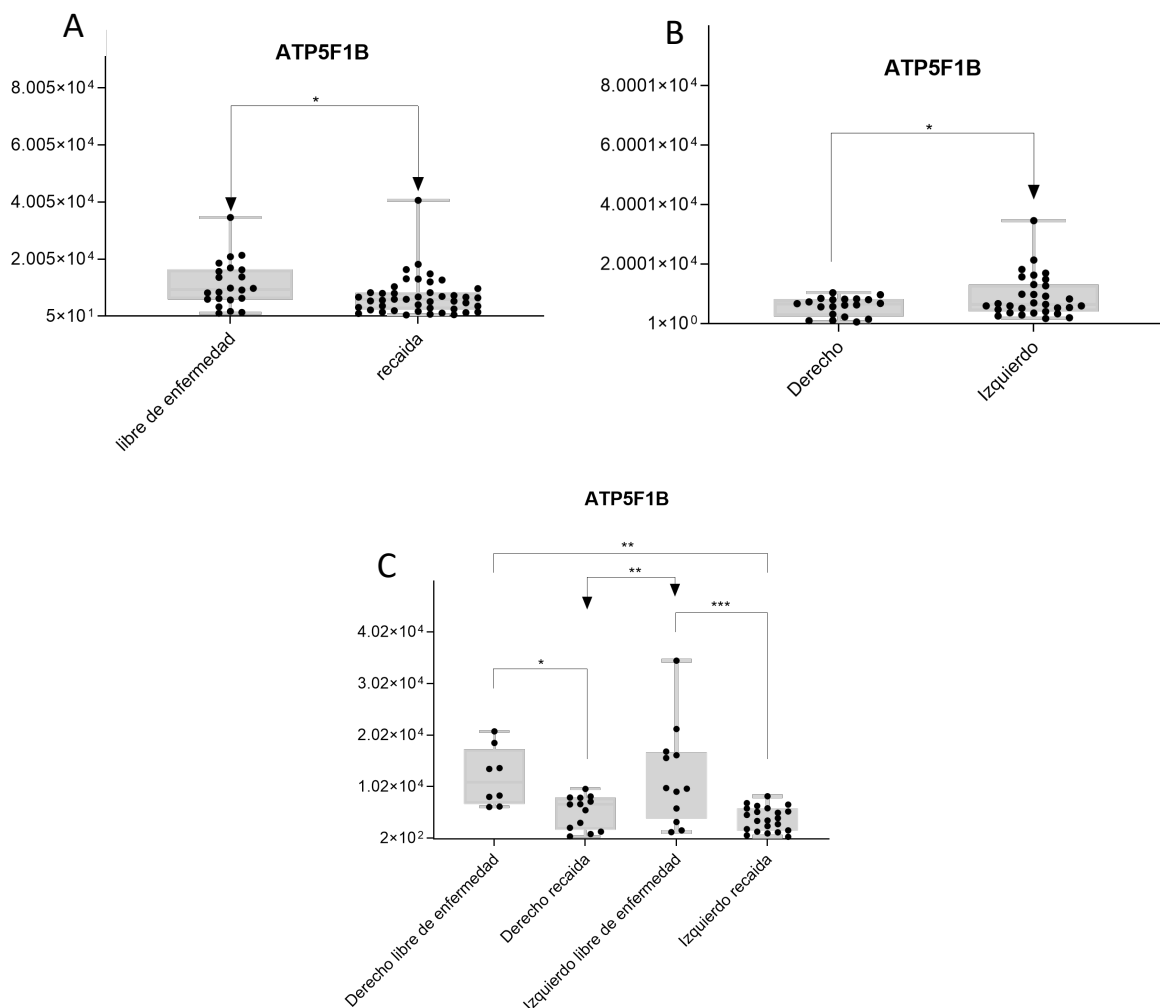


**Figura 49.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EIF4A1 en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del area obtenida en el análisis SWATH-MS para EIF4A1 en una muestra.

- **ATP5F1B:** La ATP sintasa F1 subunidad beta, es una enzima mitocondrial (ATP sintasa) que en humanos está codificada por el gen *ATP5F1B*. Esta proteína se encuentra infraexpresada en múltiples tumores frente al tejido normal y su



infraexpresión se ha relacionado con una mayor expresión de proteínas relacionadas con la obtención de energía a través de la glicólisis aerobia (Cuezva et al, 2002). Un estudio sobre el papel del metabolismo mitocondrial en CC concluyó que el mayor riesgo de progresión está relacionado con una menor expresión de ATP5F1B y por lo tanto, una mayor represión de la vía mitocondrial como método de obtención de energía (Sánchez-Aragó et al, 2010). Estos datos concuerdan con los resultados de nuestro estudio. En nuestra serie ATP5F1B se encuentra infraexpresada en los tumores con recaída y su expresión es mayor en los tumores localizados en el lado izquierdo. Al evaluar los niveles de expresión de ATP5F1B en función de la lateralidad y recaída vemos como las diferencias son más significativas en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 50). Por lo tanto, postulamos ATP5F1B como un posible biomarcador de mal pronóstico.



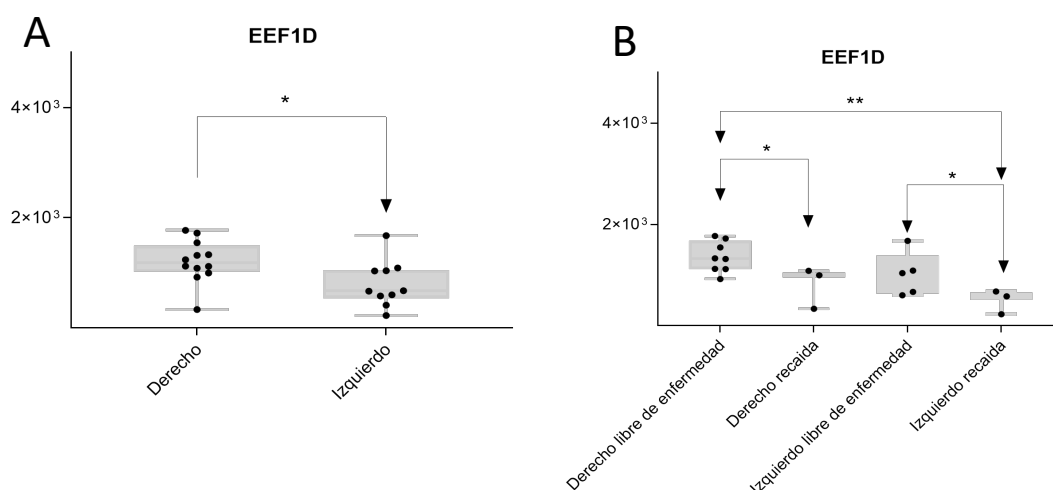
**Figura 50.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de ATP5F1B en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para ATP5F1B en una muestra.

oxidativa. Un estudio reciente en pacientes con cáncer de mama objetivó una mayor expresión de ATP5F1C en las metástasis frente al tumor primario (Fiorillo et al, 2021). En nuestra serie ATP5F1C se encuentra infraexpresada en aquellos pacientes que presentan recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

- **MT-ATP6:** *MT-ATP6* es un gen mitocondrial con el nombre completo de subunidad 6 de la membrana de la ATP sintasa implicada en la fosforilación oxidativa. Las mutaciones en MT-ATP6 se han relacionado con enfermedades neurodegenerativas o cardiovasculares. Su implicación en fenómenos de carcinogénesis no está muy clara aunque es posible que se relacione con mecanismos de obtención de energía y formación de ROS (Niedzwiecka et al, 2016). En nuestro caso se evidenció una menor expresión de MT-ATP6 en los tumores que presentaban un peor pronóstico. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

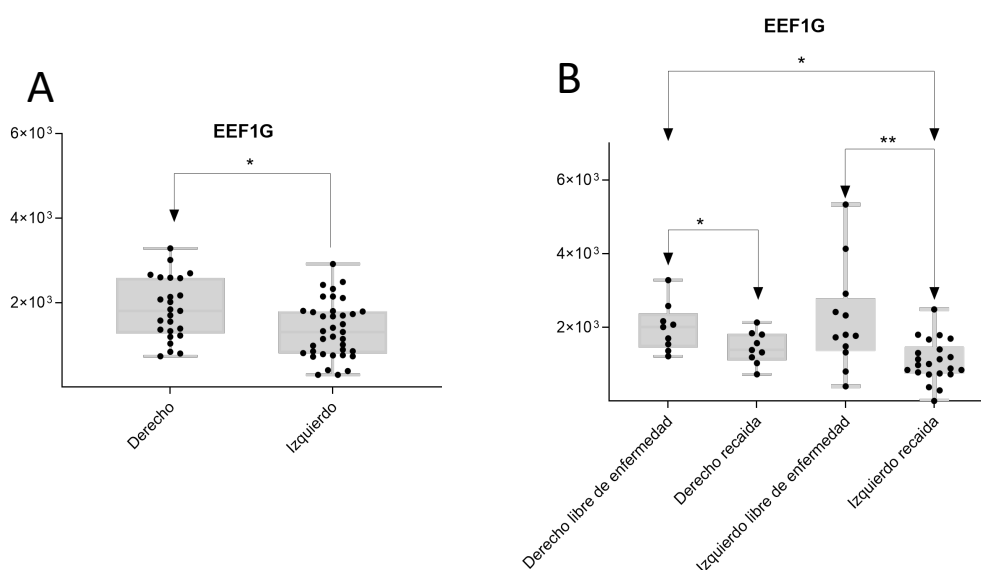
Los factores de elongación del complejo eucariótico (EEF) son proteínas que participan en la síntesis proteica durante el proceso de traducción génica. Algunos estudios han relacionado las proteínas del complejo EEF con el proceso de carcinogénesis a través de la expresión aberrante de ARN no codificante y la producción de proteínas o péptidos derivados de pseudogenes con actividad alterada (Biterge-Sut et al, 2019; Cristiano et al, 2021).

- **EEF1D:** El factor de elongación 1-delta es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EEF1D*. El papel de esta proteína en el tejido sano no está claro. Suele estar infraexpresada en las glándulas adrenales, hipófisis y colon con respecto a otros órganos como el cerebro, hígado o corazón. Se ha relacionado el aumento de la expresión de EEF1D con peor pronóstico en algunas neoplasias (p. ej.: hepatocarcinomas y meduloblastomas) a través fenómenos de transformación epitelio-mesenquimal (EMT) y la vía PI3K/AKT (Xie et al, 2020; De Bortoli et al, 2006), pero esto no ha sido demostrado en el CC. No obstante, Shen et al. correlacionaron los niveles de expresión de EEF1D con lateralidad en CC. La expresión de EEF1D fue mayor en el CC del lado derecho (Shen et al, 2013) lo que concuerda con los hallazgos de nuestra serie como se muestra en la figura 51. También se evaluó la expresión de esta proteína en los pacientes con recaída o libres de enfermedad de nuestra serie estratificando por lateralidad. Evidenciamos una relación significativa entre la menor expresión de EEF1D y un mayor riesgo de recaída. No encontramos datos en la literatura que apoyen estos resultados.



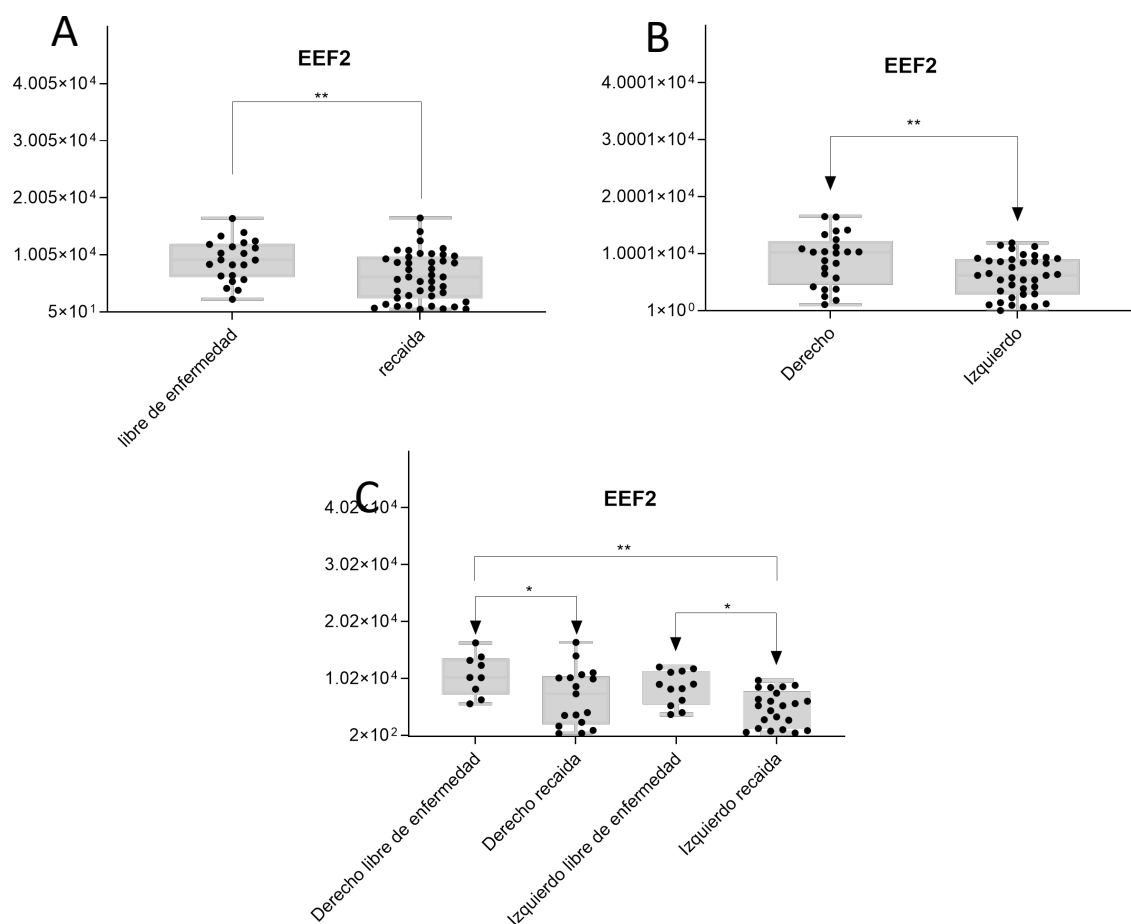
**Figura 51.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EEF1D en función de: A) lateralidad y B) recaída en función de lateralidad.

- **EEF1G:** El factor de elongación 1-gamma es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EEFIG*. Un estudio realizado en líneas celulares de CC mostró una co-regulación de los niveles de EEF1 y TRAP1 en estas células tumorales, de manera que si baja TRAP1 también baja EEF1G y viceversa (Matassa et al, 2013). El descenso de TRAP1 se ha asociado con fenómenos de transición epitelio-mesénquima (Amoroso et al, 2016), un aumento del metabolismo oxidativo mitocondrial, de las IL6 y IL8, la motilidad celular, un mayor grado tumoral, un mayor estadio al diagnóstico y una menor supervivencia en cáncer de ovario (Matassa et al, 2013). En cultivos celulares y tejido tumoral de CC humano se ha descrito la implicación de EEF1G en la vía AKT/p70S6K (Agriarulo et al, 2015). Todos estos datos de la literatura concuerdan con nuestros resultados. La menor expresión de EEF1G se correlaciona con un peor pronóstico y por ello se postula como un posible biomarcador. Los fenómenos de transición epitelio-mesénquima (EMT) son una vía de progresión tumoral potenciada en el subtipo molecular CMS4 (mesenquimal), que es más frecuente en el lado izquierdo. En nuestra serie se objetivó una menor expresión de EEF1G en los tumores localizados en el colon izquierdo (Figura 52-A) y en los que presentaron recaída independientemente de la lateralidad (Figura 52-B).



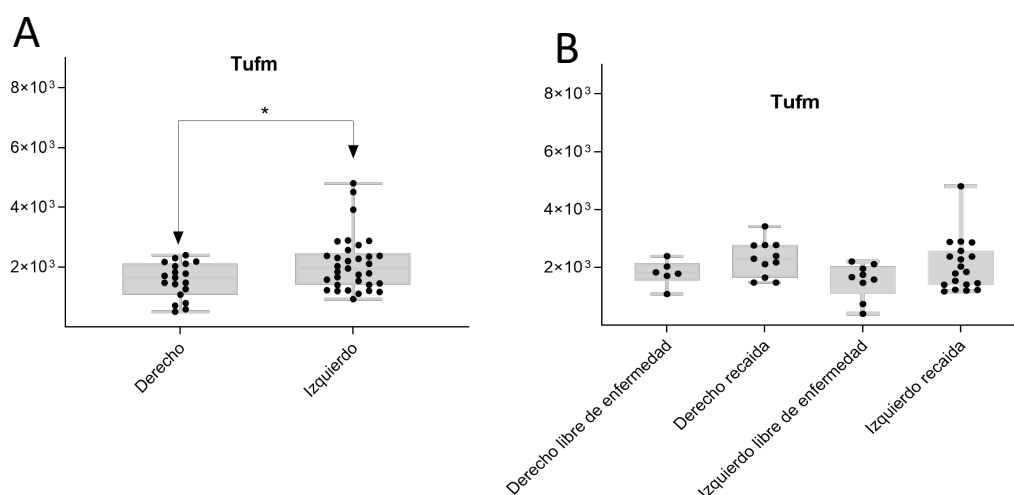
**Figura 52.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína EEF1G a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) lateralidad y B) en función de su recurrencia por lateralidad siendo las diferencias más significativas en el lado izquierdo.

- **EEF2:** El factor de elongación eucariota 2 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EEF2*. Se ha propuesto que *EEF2* puede jugar un papel como supresor tumoral en CC humano (Xie et al, 2014). En nuestra serie los pacientes que habían recaído presentaron una menor expresión de EEF2 frente a los que no recayeron. Nuestros datos concuerdan con el estudio Tung H. Ng et al. (Ng et al, 2019) que correlacionó la menor expresión de la proteína EEF2k, cuyo sustrato es EEF2, con una menor supervivencia en los pacientes con CC. En nuestra serie se ha objetivado una menor expresión de EEF2 en los tumores con recaída y en los localizados en el lado izquierdo. Al evaluar los niveles teniendo en cuenta la recaída y la lateralidad vemos como estos resultados se mantienen (Figura 53). Por este motivo postulamos que la ausencia o la baja expresión de EEF2 podría considerarse también como un factor de riesgo de recaída independiente de la lateralidad.



**Figura 53.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína EEF2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para EEF2 en una muestra.

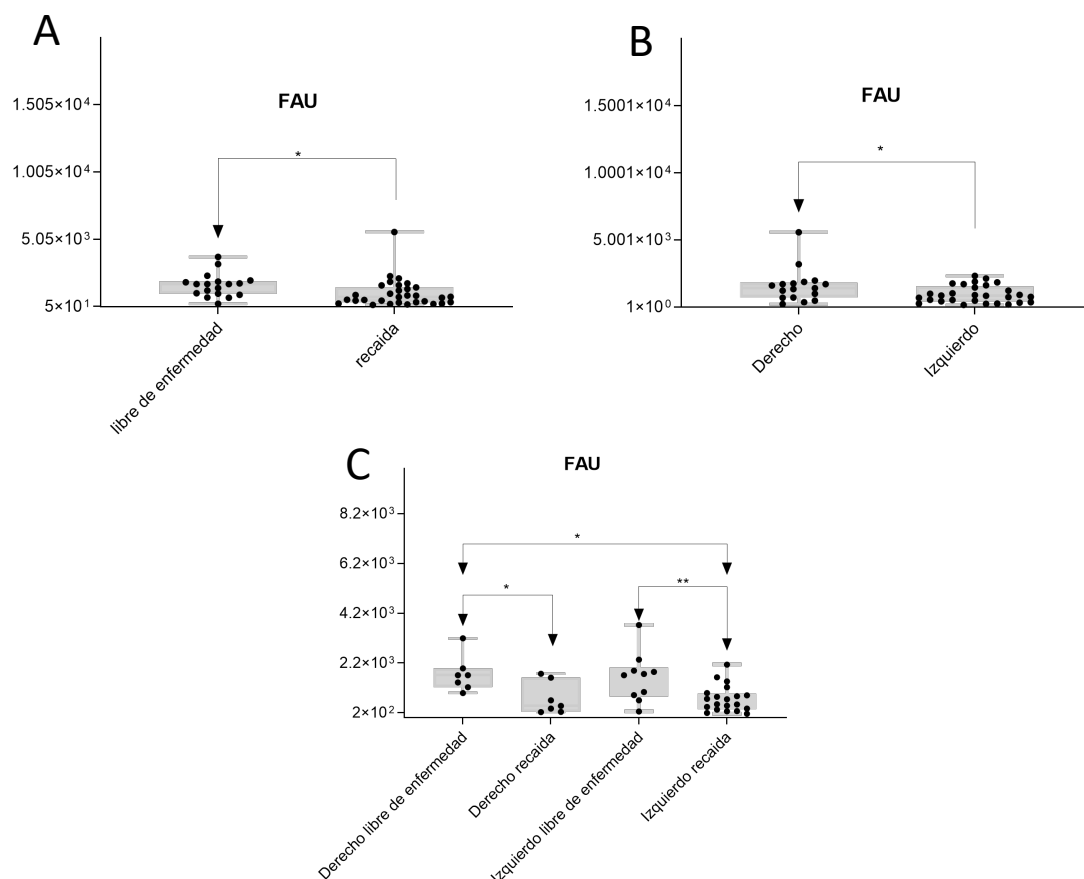
- TUFM:** El factor de elongación Tu, mitocondrial, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *TUFM*. Promueve la unión dependiente de GTP de aminoacil-tRNA al sitio A de los ribosomas durante la biosíntesis de proteínas. También juega un papel en la regulación de la autofagia y la inmunidad innata. Recluta a ATG5-ATG12 y NLRX1 en las mitocondrias y sirve como punto de control de la vía RIGI-MAVS e inhibe el interferón tipo I (IFN1) mediado por RLR mientras promueve la autofagia. Un estudio correlacionó un aumento de expresión inmunohistoquímica de TUFM con mayor riesgo de recaída (Shi et al, 2012); estos datos concuerdan con los de nuestra serie. Objetivamos una tendencia no estadísticamente significativa a una mayor expresión de TUFM en aquellos pacientes que presentaron recaída al analizar los grupos en función de lateralidad. También objetivamos una mayor expresión de esta proteína en el lado izquierdo de manera significativa (Figura 54). Dada la función inhibitoria de IFN1 parece razonable que se encuentre una menor expresión en el lado derecho.



**Figura 54.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína TUFM a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) recaída en función de lateralidad.

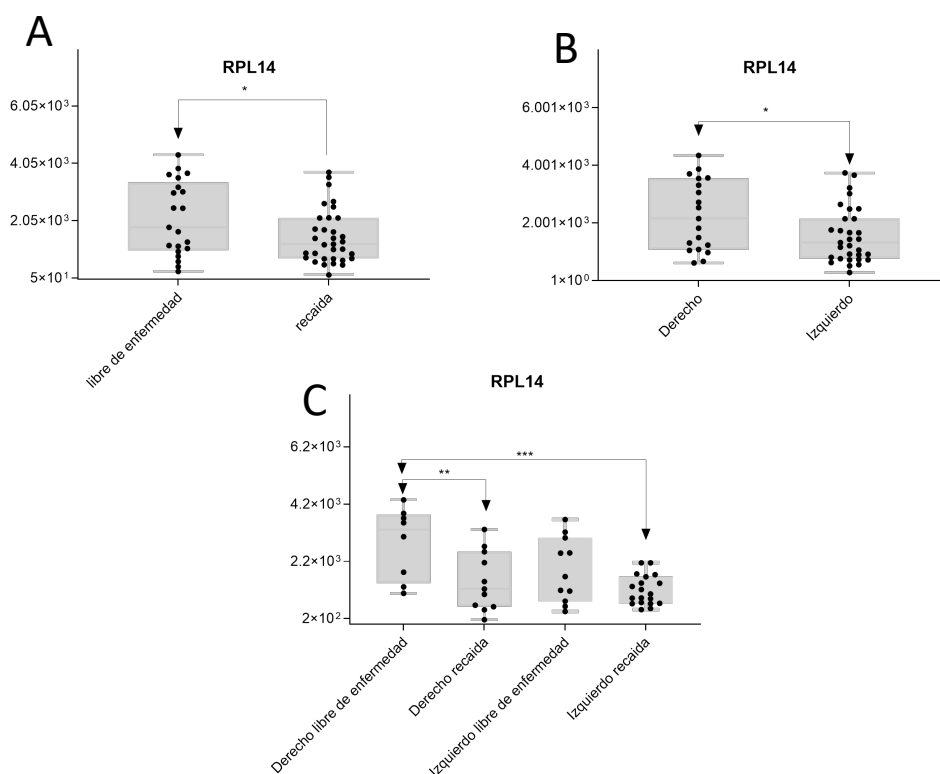
Los ribosomas son orgánulos celulares cuya función es la síntesis proteica. Su implicación en el desarrollo de neoplasias ha tenido un interés creciente en los últimos años. El proceso de formación de los ribosomas o biogénesis de ribosomas tiene múltiples puntos de control (Donati et al, 2012). Las alteraciones en estos puntos de control pueden dar lugar a la hiperactivación de la biogénesis promoviendo la transcripción de oncogenes que favorecen la progresión y desdiferenciación celular (Elhamamsy et al, 2022). En nuestra serie, se encontró una marcada desregulación de distintas subunidades ribosómicas que están infraexpresadas en el grupo *Recaída*.

- **FAU:** Es una proteína ubiquitin-like que forma parte de la subunidad 40S del ribosoma y está codificada por el gen *FAU*. El estudio de líneas celulares de cáncer de próstata (Pickard et al, 2010) y de mama (Pickard et al, 2009), ha propuesto a *FAU* como un gen supresor de tumores que actuaría a través de su interacción con Bcl-G aumentando la apoptosis basal de líneas celulares humanas de células T (Pickard et al, 2011). Además, se ha correlacionado una baja expresión de FAU con peor pronóstico en pacientes con cáncer de mama (Pickard et al, 2009). Aunque no hemos detectado estudios sobre CC este sentido, los resultados de nuestra serie han objetivado una menor expresión de FAU en el grupo de pacientes con recaída (Figura 55). Esto concuerda con su papel supresor tumoral y postula a FAU como un posible biomarcador de mal pronóstico.



**Figura 55.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína FAU a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para FAU en una muestra.

- RPL14:** La proteína ribosomal L14 es una proteína de la subunidad 60S de los ribosomas, codificada por el gen *RPL14* e implicada en la síntesis de proteínas (Anger et al, 2013). Algunos estudios han postulado *RPL14* como un gen supresor de tumores en cáncer de pulmón y carcinoma escamoso de cavidad oral (Shriver et al, 1998). RPL14 también ha sido propuesta como un biomarcador de diagnóstico precoz en el carcinoma epidermoide de esófago (Huang et al, 2006) y se identificó como una proteína clave en el desarrollo de CC con inestabilidad de microsatélites (Yu et al, 2019). En nuestra serie, la proteína RPL14 se encuentra infraexpresada en pacientes con recaída lo que es coherente con la función supresora tumoral descrita y postula a RPL14 como un posible biomarcador. Además, su asociación con la inestabilidad de microsatélites, más frecuente en el lado derecho, podría explicar en parte, su mayor expresión a ese nivel donde las diferencias son más significativas (Figura 56).

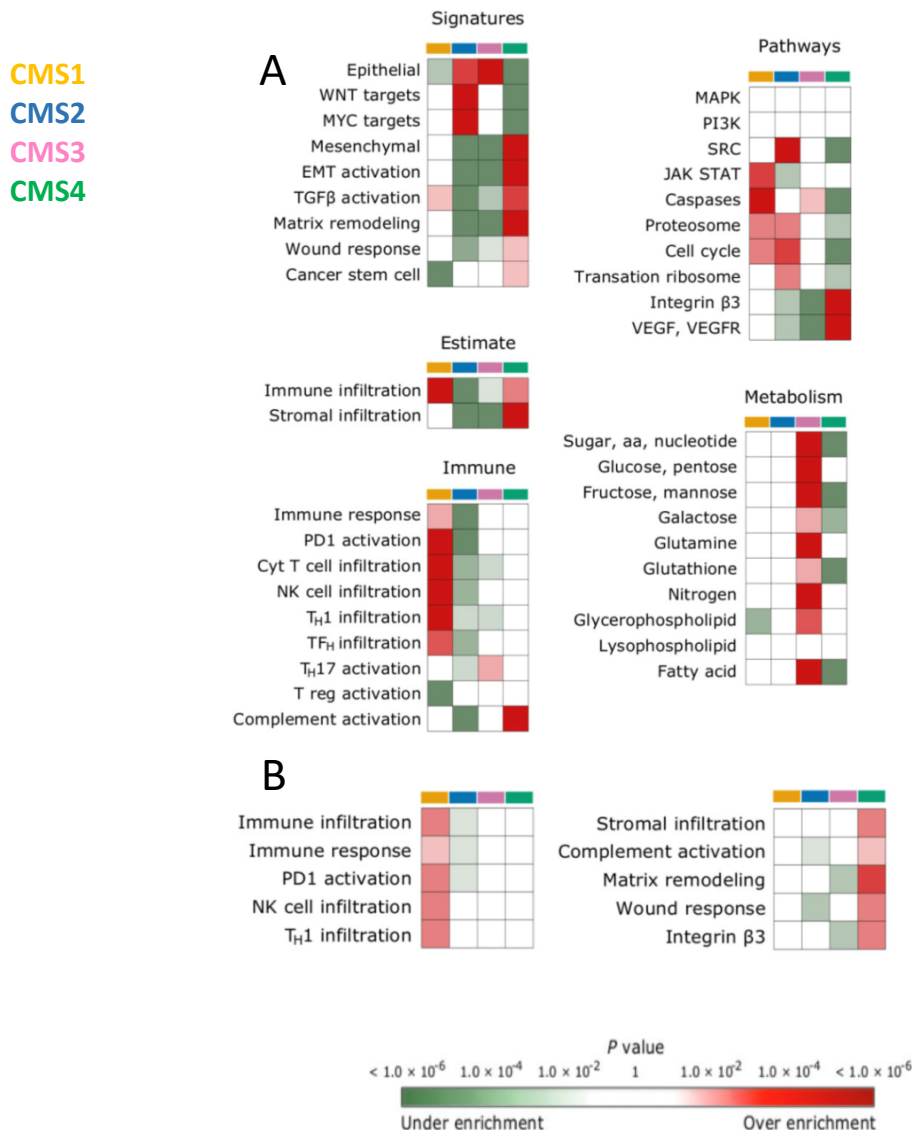


**Figura 56.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína RPL14 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída o libre de enfermedad, B) lateralidad y C) recidiva y lateralidad.

- **RPS11:** La proteína ribosomal 40S S11 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *RPS11* (Singh et al, 2021). Se ha descrito la interacción de RPS11 con RACK1 en hepatocarcinoma. (Fan et al, 2022) RACK1 estaría implicada en fenómenos de TEM a través de la estabilización de la E-cadherina (Swaminathan et al, 2012; Yu et al, 2021) como ya se ha comentado previamente. En nuestra serie RPS11 se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. Sin embargo, no hemos encontrado en la literatura ninguna asociación de RPS11 con CC.
- **RPL35:** La proteína ribosomal 60S está codificada en humanos por el gen *RPL35* y está implicada en la síntesis de proteínas. Su valor pronóstico en CC apenas ha sido estudiado aunque se han descrito unos mayores niveles de expresión de RPL35 en muestras de tumores de CC frente al tejido normal (Lau et al, 2014). En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- **RPL10A:** La proteína ribosomal 60S L10a está codificada en humanos por el gen *RPL10A* y está implicada en la síntesis de proteínas. En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

- **RPS17:** La proteína ribosomal 40S S17 está codificada en humanos por el gen *RPS17* (Anger et al, 2013) y está implicada en la síntesis de proteínas. En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- **RPL4:** La proteína ribosomal 60S L4 en humanos está codificada por el gen *RPL4* y está implicada en la síntesis de proteínas (Liang et al, 2020). La expresión de RPL4 en CC no parece tener implicaciones en el pronóstico o el desarrollo tumoral (He et al, 2020).
- **RPS3:** La proteína ribosomal 40S S3 está codificada en humanos por el gen *RPS3* y está implicada en la síntesis de proteínas. En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- **RPS13:** La proteína ribosomal 40S S13 está codificada en humanos por el gen *RPS13* y está implicada en la síntesis de proteínas. En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- **RPS23:** La proteína ribosomal 40S S23 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *RPS23* y está implicada en la síntesis de proteínas (Paolini et al, 2017). En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.

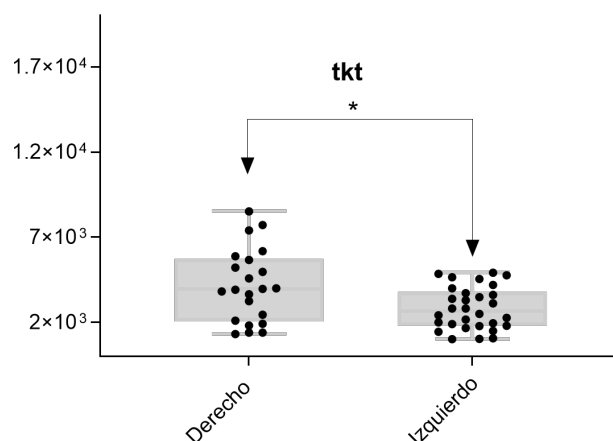
**CLUSTER 2:** El *cluster 2* está formado por proteínas implicadas en fenómenos relacionados con el metabolismo de las neoplasias. Las células tumorales se caracterizan por un aumento del consumo de glucosa para generar lactato y otros sustratos aún en presencia de oxígeno a través de un proceso conocido como efecto Warburg o glicólisis aerobia (DeBerardinis et al, 2016). Sin embargo, recientemente se ha observado que no todos los tumores adoptan este tipo de metabolismo, sino que pueden presentar un fenotipo completamente opuesto, de tipo respiratorio con un incremento en la fosforilación oxidativa mitocondrial (Ghesquière et al, 2014). Como ya se mencionó en la introducción, en el CC se han definido 4 subtipos moleculares en función de sus características a nivel clínico, molecular y transcriptómico: CMS1 (MSI-inmune, 14%), CMS2 (canónico, 37%), CMS3 (metabólico, 13%) y CMS4 (mesenquimal, 23%), con un grupo adicional con heterogeneidad intratumoral (mixto, 13%) (Guinney et al, 2015). El subgrupo CMS3 se caracteriza por un gran enriquecimiento para múltiples firmas metabólicas (Figura 55) y la presencia de mutaciones activadoras de *KRAS* descritas como inductoras importantes de la adaptación metabólica (Brunelli et al, 2014; Son et al, 2013). Sin embargo, el subgrupo CMS3 apenas representa en torno al 13% de los tumores de CC. Una baja representatividad de este subgrupo en nuestra serie podría explicar que algunas de las proteínas implicadas en procesos metabólicos se encuentran infraexpresadas.



**Figura 57.** Imágenes adaptadas del artículo: Guinney et al, 2015 en el que se muestra: A) Análisis de enriquecimiento de ARNm de conjunto de genes: firmas de especial interés en CCR, algoritmo ESTIMATE30 para inferir mezcla de células inmunes y estromales en muestras de tumores, vías canónicas, firmas inmunes y vías metabólicas. B) Análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes de datos proteómicos TCGA.

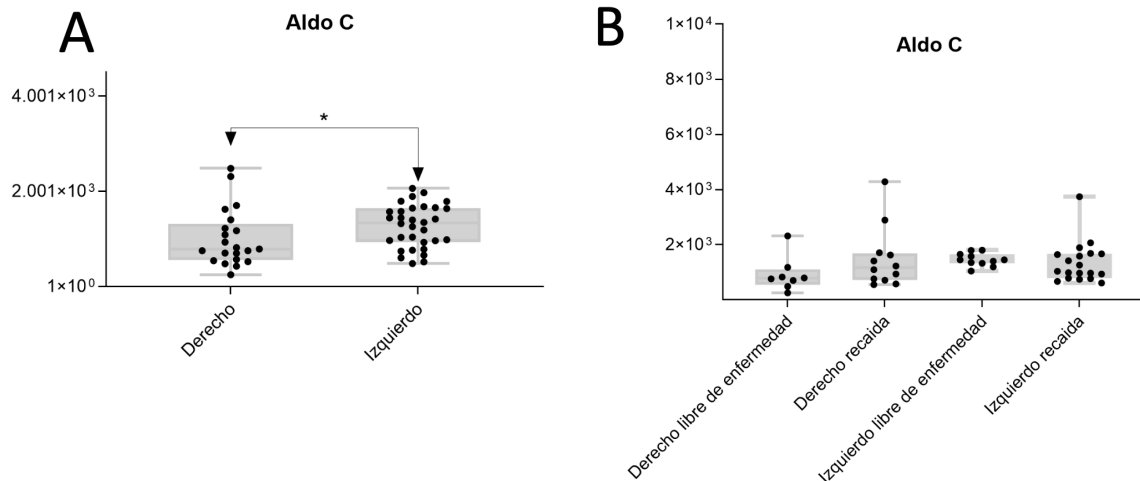
- **TKT:** La transketolasa es una enzima codificada en humanos por el gen *TKT*. Participa en la ruta de la pentosa fosfato, que está estrechamente relacionada con la glucólisis. Durante la glucólisis se utiliza la glucosa para generar ribosa, que es necesaria para la biosíntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos. En esta vía también se obtiene poder reductor en forma de NADPH que se usará como coenzima de enzimas propios del metabolismo anabólico (Boyle et al, 2016). Las células cancerosas experimentan un aumento del estrés oxidativo. La vía de la pentosa fosfato es importante debido a que genera NADPH antioxidante. La enzima TKT es necesaria para el crecimiento del cáncer debido a su capacidad de afectar la producción de NADPH para contrarrestar el estrés oxidativo. En cáncer de esófago

la sobreexpresión de TKT se asoció a peor supervivencia (Chao et al, 2016). Otro estudio ha propuesto que TKT puede promover el desarrollo de hepatocarcinoma en una manera no metabólica a través de su localización nuclear y la vía EGFR (Qin et al, 2019). Aunque un estudio reciente ha relacionado una mayor expresión de TKT con un peor pronóstico en el CC (Li et al, 2022), no hemos podido validar estos hallazgos en nuestra serie. Sin embargo, encontramos una mayor expresión de la proteína TKT en los pacientes con CC derecho (Figura 58).



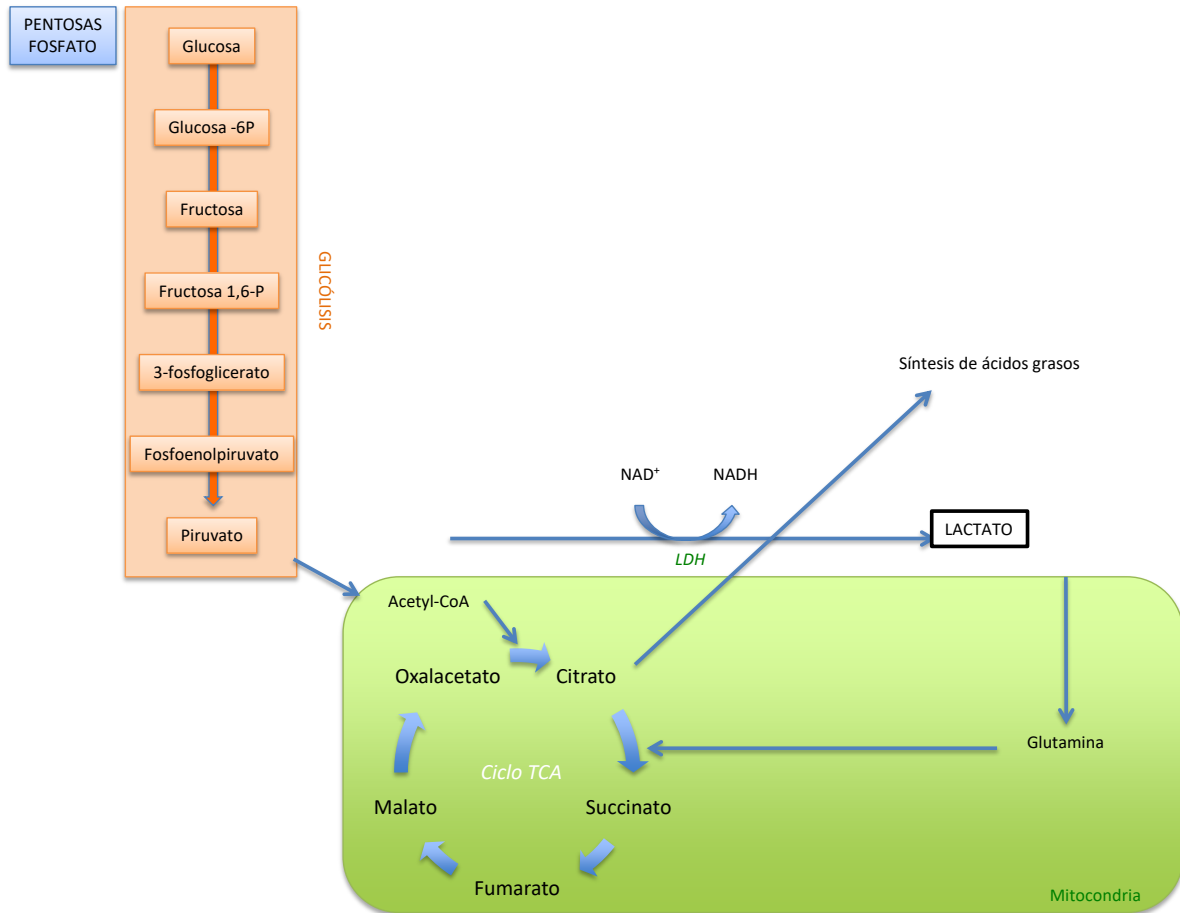
**Figura 58.** Diagrama de cajas donde se evidencia una mayor expresión de transketolasa (TKT) en los tumores del colon derecho de forma significativa.

- **ALDOC:** La aldolasa C fructosa-bifosfato, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *ALDOC/ALDC*. Este gen codifica un miembro de la familia de genes de fructosa-bisfosfato aldolasa de clase I. Se trata de una enzima con funciones glucolíticas que se encuentra en el tejido nervioso, principalmente hipocampo y células de Purkinje (Arakaki et al, 2004). La sobreexpresión de ALDOC en cáncer de pulmón de células no pequeñas se asoció con la presencia de metástasis ganglionares, un mayor estadio patológico y peor pronóstico (Shang et al, 2023). Estos efectos fueron mediados a través de MYC y la vía Wnt/ $\beta$ -catenin (Shang et al, 2023). También se ha correlacionado una mayor expresión de ALDOC con una mayor carga mutacional (TMB), la inestabilidad de microsatélites (MSI) y un peor pronóstico en cáncer gástrico (Chen et al, 2023). Un estudio reciente con células de CC mostró que la sobreexpresión del gen *BRD9* promueve la glucólisis y la progresión tumoral a través de su interacción con ALDOC y ENO2 (Zuh et al, 2023). En nuestro estudio la expresión de ALDOC ha sido significativamente mayor en los casos de colon izquierdo (Figura 59A). Curiosamente, el subtipo CMS2 presenta una mayor dependencia de la vía Wnt y MYC y se asocia a tumores localizados en el lado izquierdo. En nuestra serie, no se encontraron diferencias en cuanto al riesgo de recaída en el análisis por lateralidad (Figura 59B).



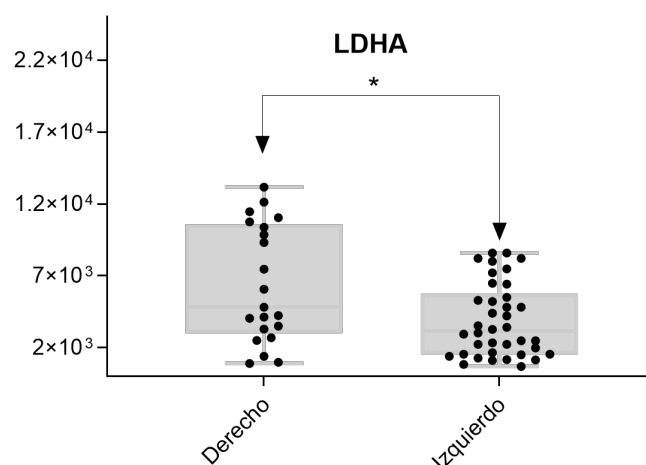
**Figura 59.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína ALDOC en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- LDHA/LDHB:** La proteína lactato deshidrogenasa A (LDHA) cataliza la conversión reversible de piruvato en lactato con la oxidación concomitante de NADH a NAD en la glucólisis anaeróbica. La proteína lactato deshidrogenasa B (LDHB) cataliza la interconversión de piruvato y lactato con la interconversión concomitante de NADH y  $\text{NAD}^+$  en un proceso post-glucólisis. Ambas proteínas participan en la interconversión de L-lactato y NAD a piruvato y NADH al final de la glicólisis anaerobia y la glucólisis aerobia en las células tumorales (Sharma et al, 2022). La mayoría de las células tumorales se caracterizan por una mayor tasa de glucólisis mediada por un proceso de fermentación en condiciones de aerobiosis que garantiza una mayor cantidad de lactato y sustratos para las rutas anabólicas (DeBerardinis et al, 2016) (Figura 60). El exceso de lactato crea una acidosis extracelular que facilita la invasión, la angiogénesis, las metástasis y afecta a la respuesta inmune (Sharma et al, 2022).



**Figura 60.** Representación esquemática de la generación de lactato mediada por la vía de la glucólisis aerobia. Elaboración propia.

- **LDHA:** La proteína lactato deshidrogenasa A es una enzima que en humanos está codificada por el gen *LDHA*. Se ha demostrado que la sobreexpresión de LDHA y LDHB promueve la transformación maligna de las células del epitelio gástrico al promover el efecto Warburg (glucólisis aeróbica) durante la exposición prolongada a compuesto de N-nitroso (Liu et al, 2023). También se ha evidenciado un incremento de la actividad glicolítica en pólipos colorrectales apoyada en una mayor expresión de LDHA (Rebane-Klemm et al, 2023). Sin embargo, aunque se ha postulado que el aumento de LDHA aumentaría la diseminación tumoral, estudios que evaluaron la inhibición del efecto Warburg a través de LDHA no lograron inhibir el crecimiento tumoral en células de melanoma; de hecho, dichas células mostraron una activación de la vía de mTOR para compensar la inhibición de LDHA (Pathria et al, 2018). La mayor concentración de LDHA en los tumores del lado derecho de nuestra serie, indicó una mayor dependencia de esta vía para la obtención de energía en estos tumores (Figura 61).



**Figura 61.** Diagrama de cajas que muestra la mayor expresión de LDHA en carcinomas colónicos del lado derecho.

- GSTO1:** La glutatión S-transferasa omega-1 es una enzima que en humanos está codificada por el gen GSTO1. Esta proteína citoplasmática participa en el metabolismo de carcinógenos y su mecanismo de acción se ha descrito como promotor y como supresor tumoral. Estudios en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas asociaron la sobreexpresión de GSTO1 con mayor proliferación y diseminación tumoral a través de la vía de JAK/STAT3 (Wang et al, 2021). Sin embargo, otro estudio reciente concluyó que GSTO1 confiere protección contra la formación de tumores colorrectales (Tummala et al, 2021). Tummala et al. describieron la implicación de GSTO1 en la activación de NLPR3 inflammasoma que a su vez, media la activación de IL1beta e IL18, produciendo un aumento de interferón gamma (IFN-gamma) y de la expresión de STAT1, actuando como un supresor tumoral (Figura 62). En nuestra serie, hemos encontrado una menor expresión de GSTO1 y de STAT1 en los pacientes con peor pronóstico, lo que concuerda con los datos de la literatura. En cuanto a la lateralidad, la expresión de GSTO1 es mayor en los tumores localizados en el lado derecho en donde su papel como posible biomarcador de riesgo parece más relevante (Figura 63).

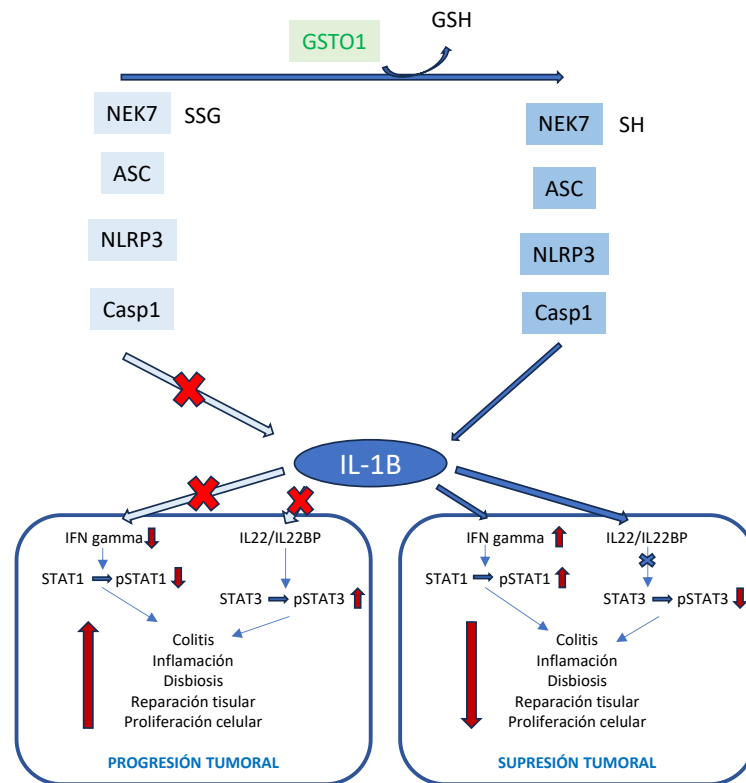


Figura 62. Representación esquemática del papel funcional de GSTO1 en la activación de la vía de NLRP3 inflammasoma. Elaboración propia a partir del artículo de Tummala et al, 2021.

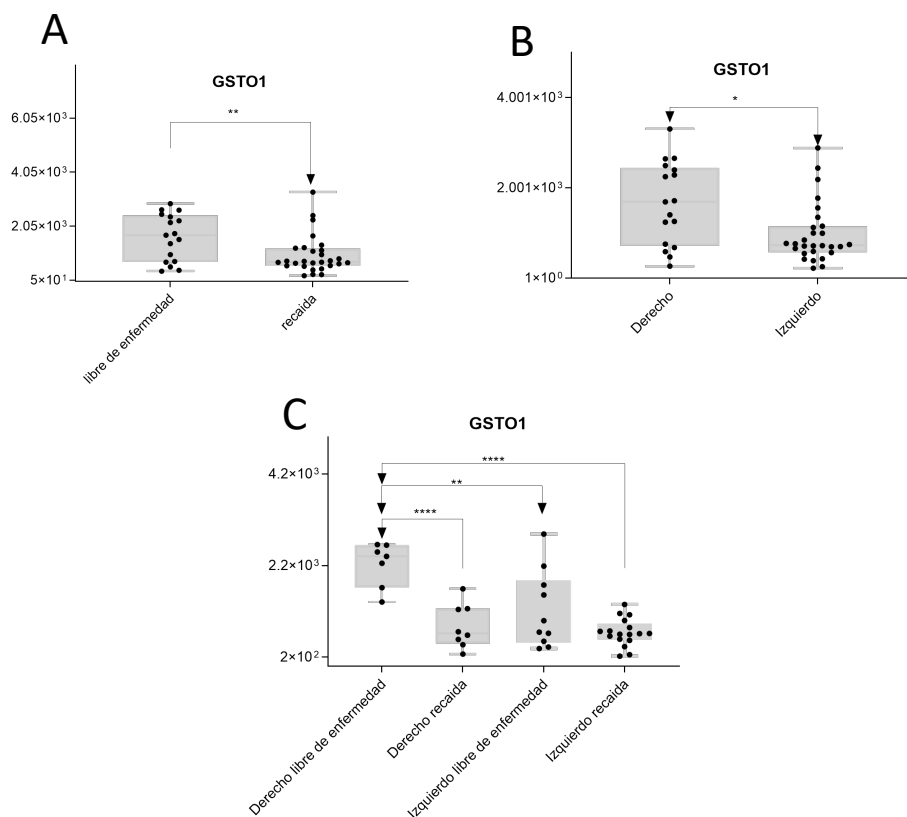


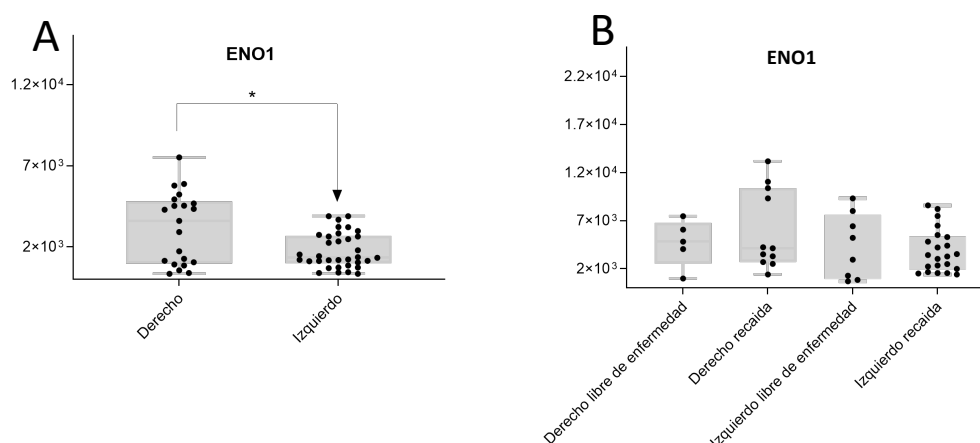
Figura 63. Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína GSTO1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- **PRDX6:** La peroxirredoxina-6 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *PRDX6*. Se trata de una peroxidasa que cataliza la reducción de hidrógenos e hidroperóxidos orgánicos a agua y alcoholes, y que además actúa como fosfolipasa. En un estudio sobre el papel de PRDX6 en 30 pacientes con CC sólo un 40% mostró un aumento de la expresión de esta proteína (Falidas et al, 2021). Se objetivó una correlación positiva de la expresión de PRDX6 con el estadio tumoral. En nuestra serie encontramos infraexpresión de PRDX6 en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.
- **GSS:** La glutatión sintetasa es la segunda enzima en la ruta de biosíntesis del glutatión. Cataliza la condensación de gamma-glutamylcisteína y glicina para formar glutatión y es un potente antioxidante (Gali et al, 1995; Polekhina et al, 1999). GSS está implicada en la regulación de la vía de la ferroptosis que se basa en la acumulación de peróxidos lipídicos, provenientes de la peroxidación de PL-PUFAs inducida por el ion ferroso. Aunque se ha relacionado el aumento de expresión de proteínas implicadas en esta vía con tumores de peor pronóstico, estos datos no se confirmaron en nuestra serie. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.
- **C8G:** La subunidad gamma del factor 8 del complemento forma parte del complejo de ataque a membrana del complemento (Schreck et al, 2000). En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.
- **C9:** Es una proteína que forma parte del complejo de ataque a membrana del complemento y tiene un papel clave en la respuesta inmune y adaptativa mediante la formación de poros en la membrana plasmática de la célula diana Witzel-(Schlömp et al, 1998). Aunque se ha descrito una mayor expresión de C9 en CC frente a tejido sano, no se ha descrito su papel como factor pronóstico (Chantaraamporn et al, 2020). Algunos estudios sugieren que la hipoxia restringe la expresión del componente 9 del complemento en macrófagos asociados a tumores promoviendo el crecimiento celular (Li et al, 2018). En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

**CLUSTER 3:** El *cluster* 3 está fundamentalmente implicado en fenómenos de empaquetado de proteínas.

- **ENO1:** La enolasa 1, más comúnmente conocida como alfa-enolasa, es una enzima glicolítica expresada en la mayoría de los tejidos y que está codificada por el gen *ENO1*. Es una de las isozimas de la enolasa. Cada isoenzima es un homodímero compuesto por 2 subunidades alfa, 2 gamma o 2 beta que funcionan como una enzima glucolítica. La sobreexpresión de ENOA está asociada con el desarrollo de tumores

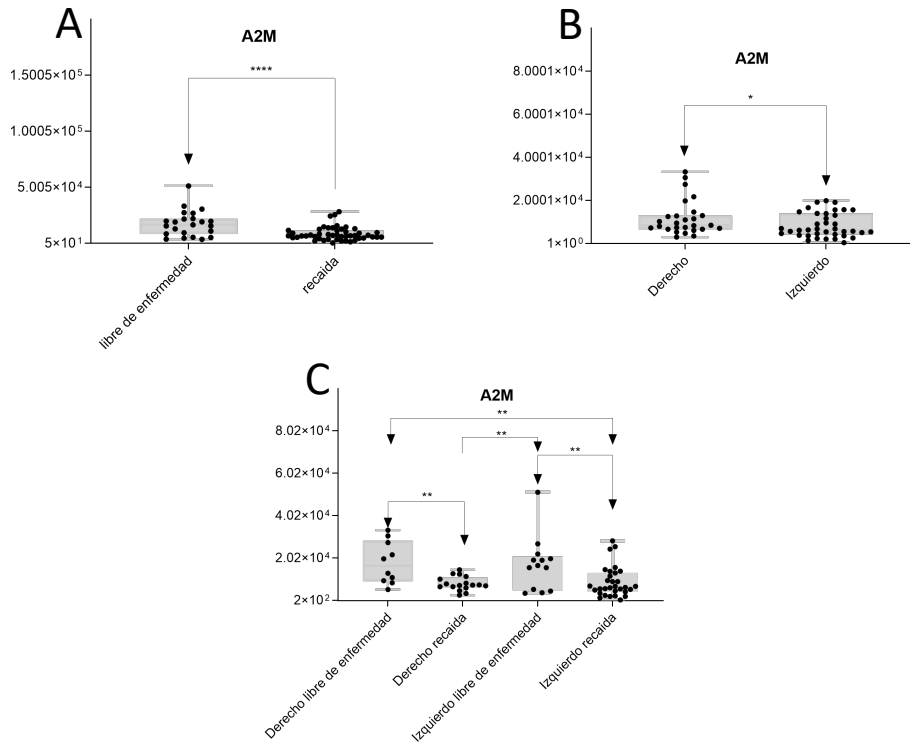
a través del efecto Warburg (Capello et al, 2011). En las células tumorales, ENOA se sobreexpresa en su superficie, donde actúa como una proteína clave en el desarrollo de la metástasis, promoviendo el metabolismo celular en condiciones aeróbicas e impulsando la invasión tumoral a través de la activación del plasminógeno y la degradación de la matriz extracelular. También muestra un patrón característico que regula las funciones de las proteínas y la inmunogenicidad (Capello et al, 2011). Se ha demostrado la asociación entre el subgrupo CMS1 (MSI-immune) y los cambios en el metabolismo energético a nivel transcriptómico (aumento de expresión de genes relacionados con la glucólisis como ENO1) en el CC en el contexto de la activación de la vía inmune (Fedorova et al, 2019). El CC subtipo CMS1 se caracteriza por ser tumores del lado derecho, asociarse a mutaciones de *BRAF* y a la alteración del estado de las proteínas reparadoras (MSI) (Lee MS et al, 2017). En nuestro estudio, se objetivó también una mayor expresión de la proteína ENO1 en el lado derecho, lo que concuerda con la clasificación genómica y transcriptómica del CC. Al analizar los datos en función de la lateralidad, existe una tendencia a una mayor expresión de ENO1 en los tumores con recaída localizados en el lado derecho aunque esta no es estadísticamente significativa (Figura 64).



**Figura 64.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ENO1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la lateralidad y B) la lateralidad y recaída.

- **A2M:** La alfa-2-macroglobulina es un inhibidor de proteasas y un transportador de citocinas codificada por el gen *A2M/A2MD*. Algunos estudios en adenocarcinoma de pulmón sugieren que una menor expresión de A2M puede favorecer la progresión tumoral a través de fenómenos de TEM y alteraciones de tipo inmunitario (Lee et al, 2022). Esto se debe a que en condiciones normales A2M actuaría como un inhibidor de la señalización Wnt/beta-catenina (Linder et al, 2010) e interaccionaría también con la vía PI3K-AKT (Kurz et al, 2017) favoreciendo una disminución de A2M durante la progresión tumoral y el desarrollo de metástasis. De forma coherente con la literatura, en nuestra serie A2M se encuentra infraexpresada A2M en los pacientes

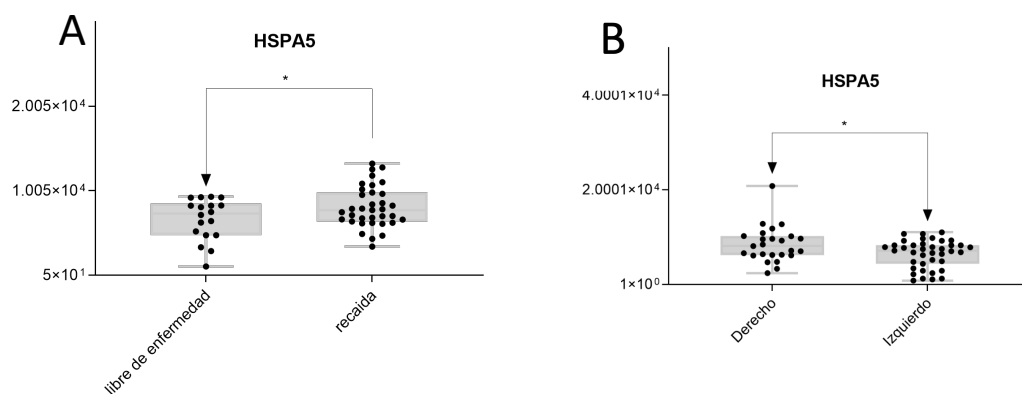
con recaída independientemente de la lateralidad. Además, se encuentra una mayor expresión de A2M en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 65).



**Figura 65.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína A2M a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para A2M en una muestra.

- HSPA5:** La proteína de inmunoglobulina de unión también conocida como proteína regulada por glucosa de 78 kDa (GRP78) o proteína de choque térmico 5 de 71 kDa es una proteína que en humanos está codificada por el gen *HSPA5* (Dana et al, 1990). Se trata de una chaperona del retículo endoplásmico que desempeña un papel clave en el plegamiento de proteínas y como punto de control en el retículo endoplásmico (Guo et al, 2023). Como factor central en la regulación del plegamiento de proteínas, HSPA5/GRP78 desempeña un papel fundamental en los procesos celulares necesarios para la tumorigénesis, como la proliferación, las metástasis, la antiapoptosis, el escape inmunológico y la quimiorresistencia. La sobreexpresión de HSPA5/GRP78 está estrechamente relacionada con la tumorigénesis y el mal pronóstico en varios tumores malignos (Guo et al, 2023). La evaluación del comportamiento de células del CC en función de la expresión de HSPA5 en la superficie celular objetivó un mayor índice de proliferación y capacidad de diseminación en los subgrupos que no expresaban GRP78 (Hardy et al, 2012). Otro estudio encontró una mayor expresión de HSPA5 en pacientes con CC más jóvenes (menores de 65 años) (Guan et al, 2021). En nuestra serie, la proteína HSPA5 se encontró sobreexpresada en los tumores de pacientes con recaída y en los tumores

localizados en el lado derecho lo que concuerda con los datos de la literatura y lo postula como un posible biomarcador (Figura 66).



**Figura 66.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína HSPA5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída y B) en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para HSPA5 en una muestra.

- HSPA8:** La proteína 8 de choque térmico de 70 kDa, está codificada en humanos por el gen *HSPA8*. Es una chaperona implicada en una amplia variedad de procesos celulares, incluida la protección del proteoma contra el estrés, el plegamiento y transporte de polipéptidos recién sintetizados, la autofagia mediada por chaperonas, la activación de la proteólisis de proteínas mal plegadas y la formación y disociación de complejos proteicos (Chiang et al, 1989; Yamamoto et al, 2010; Grove et al, 2011). HSPA8 está significativamente incrementada en el CC (Guan et al, 2021). Se ha correlacionado una mayor expresión de HSPA8 con un mayor infiltrado linfocitario, postulándose como un predictor de respuesta al tratamiento con inmunoterapia (Yang et al, 2023; Yin et al, 2022). El aumento de su expresión se ha asociado a promoción del crecimiento en el hepatocarcinoma (Guan et al, 2021). Otro estudio reciente mostró que HSPA8 está regulado transcripcionalmente de forma positiva en CC con *BRAF* mutado, lo que promueve la degradación dependiente de chaperonas de caveolina-1 (CAV1) para liberar  $\beta$ -catenina en el núcleo y, por lo tanto, activar la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, contribuyendo a las metástasis y la progresión tumoral (Li et al, 2024). Otra publicación ha mostrado expresión de HSPA8 asociada a los primeros estados de la progresión clínica del CC (Guan et al, 2021). En nuestra serie se encontró infraexpresada HSPA8 en los pacientes con recaída y en los localizados en el lado izquierdo (Figura 67A). Estas diferencias fueron mayores cuando analizamos los resultados en función de la lateralidad, lo que apoya esta proteína como un posible biomarcador (Figura 67B).

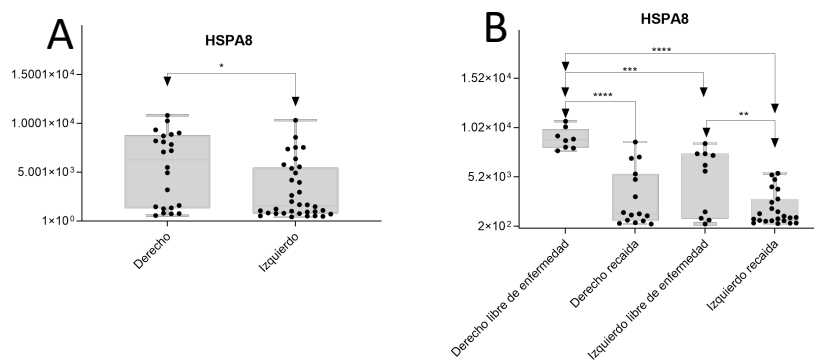


Figura 67. Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HSPA8 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- HSP90AA1:** La proteína de choque térmico HSP 90-alfa es una proteína que en humanos está codificada por el gen *HSP90AA1*. Es una chaperona que promueve la maduración, el mantenimiento estructural y la regulación adecuada de proteínas diana específicas involucradas en el control del ciclo celular y la transducción de señales (Forsythe et al, 2001; Yang et al, 2005). Aunque hay datos contradictorios, un estudio en pacientes con CC evidenció mayor expresión de HSP90AA1 en los pacientes con mejor pronóstico (Drecoll et al, 2014). Estos datos coinciden con lo reflejado en nuestra serie donde se objetivó una menor expresión de HSP90AA1 en los tumores con recaída y en los localizados en el lado izquierdo (Figura 68). Estos resultados se mantiene en el análisis de expresión de HSP90AA1 en función de lateralidad y recaída y lo postulan como un posible biomarcador.

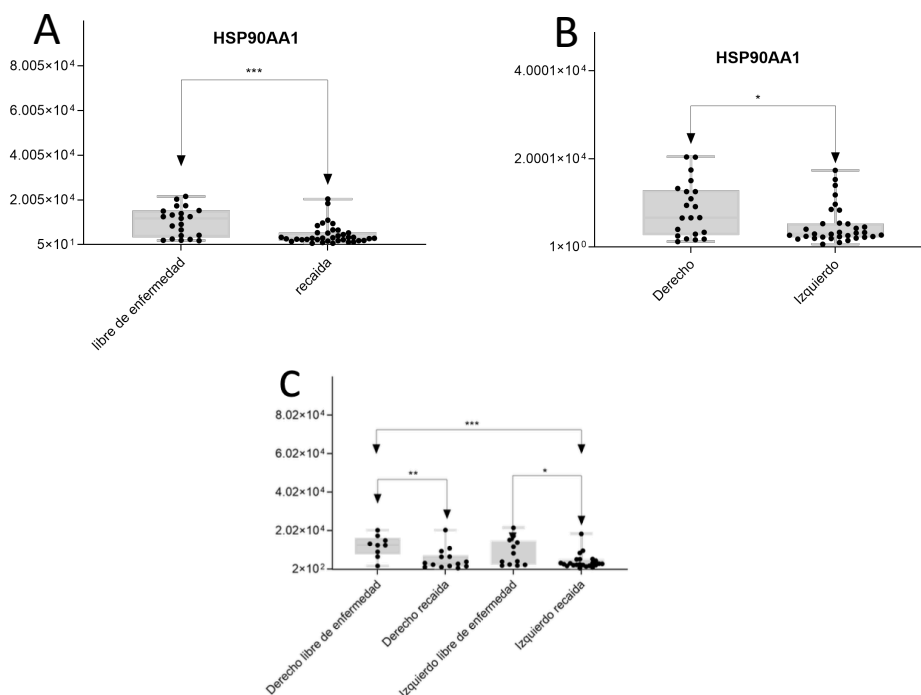
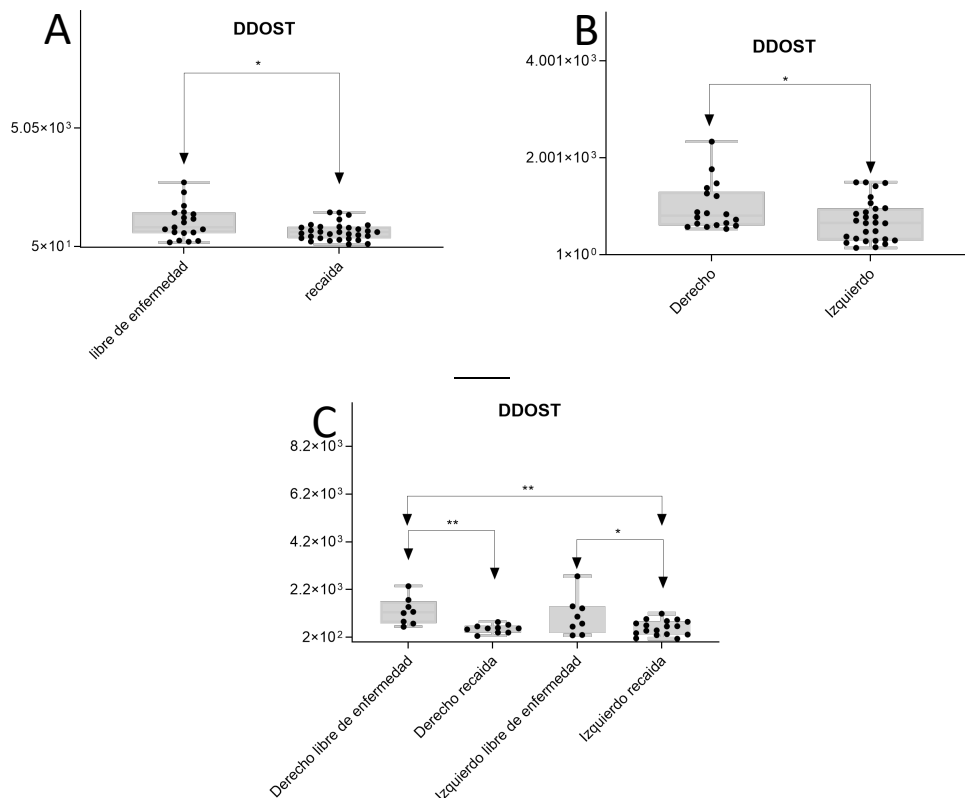


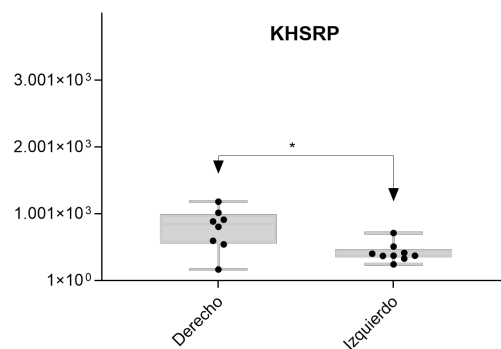
Figura 68. Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína HSP90AA1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para HSP90AA1 en una muestra.

- HSP90B1:** La proteína de choque térmico HSP 90-beta, también llamada HSP90beta, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *HSP90AB1*. Es una chaperona que promueve la maduración, el mantenimiento estructural y la regulación adecuada de proteínas diana específicas involucradas en el control del ciclo celular y la transducción de señales (Chadli et al, 2006; Retzlaff et al, 2009). En nuestra serie se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- DDOST:** La subunidad de 48 kDa de la proteína glicosiltransferasa de dolichil-difosfooligosacárido es una enzima que en los seres humanos está codificada por el gen *DDOST*. Esta proteína forma parte del complejo oligosacárido transferasa y está implicada en la glicosilación proteica a nivel del retículo endoplasmático rugoso (RER). En hepatocarcinomas se ha evidenciado una correlación entre la mayor expresión inmunohistoquímica de DDOST, mayor riesgo de progresión tumoral y peor respuesta a la inmunoterapia (Li et al, 2024). Otro estudio en CC mostró la menor expresión del gen *DDOST* se correlacionaba con una peor supervivencia (Hu et al, 2019). Estos datos concuerdan con los datos de nuestra serie, en donde los pacientes de peor pronóstico presentaban una menor expresión de DDOST, independientemente de lateralidad (Figura 69). Además, existe una mayor expresión de DDOST en los tumores localizados en el lado derecho.



**Figura 69.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína DDOST a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para DDOST en una muestra.

- **RPN1:** Dolichyl-difosfooligosacárido, la subunidad 1 de la proteína glicosiltransferasa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *RPN1*. Este gen codifica la glucoproteína transmembrana riboforina integral de tipo I que actúa como un almacén por el que la proteína recién sintetizada pasa de los ribosomas al interior del RER. Esta proteína forma parte del complejo oligosacárido transferasa (OST). En CC se ha implicado a RPN1 en fenómenos de progresión a través de su interacción con la isoforma de la proteína SIGIRR<sup>ΔE8</sup> (Bodaszewska-Lubas et al, 2022). En nuestra serie RPN1 se encontró infraexpresada en el grupo recaída por lo que parece que no guardaría relación con dicho mecanismo de acción.
- **KHSRP:** Esta proteína reguladora de empalme tipo KH (“KH-type splicing regulatory protein”) es una proteína de unión a ARN multifuncional codificada por el gen *KHSRP*. Está implicada en una variedad de procesos celulares, incluida la transcripción, el empalme alternativo de pre-ARNm y la localización del ARNm. KHSRP está también implicada en mecanismos de regulación de ARN y del ADN (Briata et al, 2016). Como consecuencia, regula funciones como la proliferación celular, diferenciación, metabolismo de lípidos y la regulación del sistema inmunitario (Briata et al, 2016). Aunque se le han atribuido distintas funciones en cáncer, un estudio realizado en pacientes con glioblastoma multiforme correlacionó una menor expresión de esta proteína con un desarrollo multifocal de esta neoplasia y un peor pronóstico (Yang et al, 2013; Boucas et al, 2015). De hecho, el silenciamiento de la proteína KHSRP se ha correlacionado con fenómenos de TEM inducida por el factor de crecimiento beta (TGF-beta) y migración tumoral (Puppo et al, 2016). En nuestra serie la proteína KHSRP se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída, lo que concuerda con una posible mayor activación de factores implicados con fenómenos de migración. Además, se han encontrado diferencias en cuanto a su lateralidad con un significativo aumento de su expresión en los tumores del lado derecho (Figura 70).

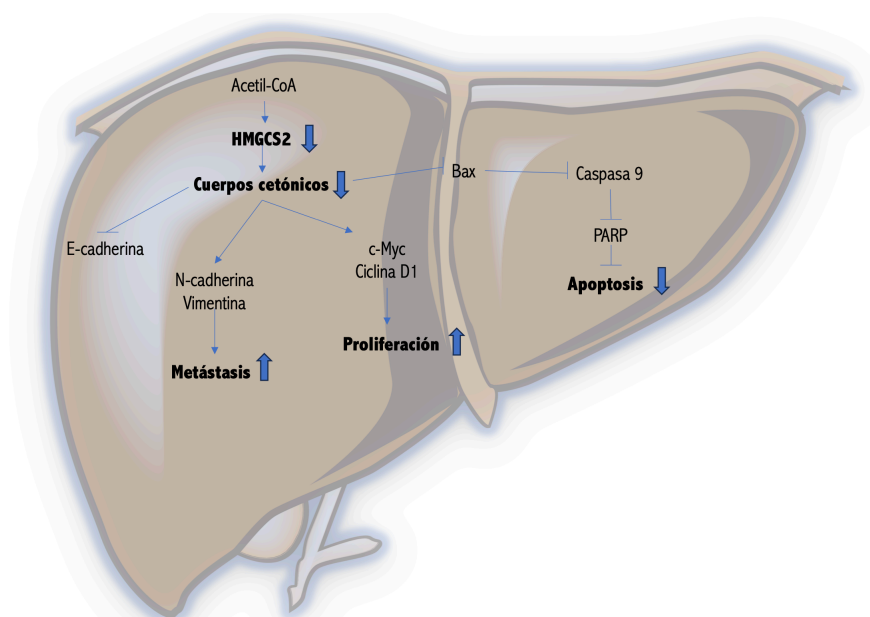


**Figura 70.** Diagrama de cajas que muestra la mayor expresión de KHSRP en carcinomas colónicos del lado derecho.

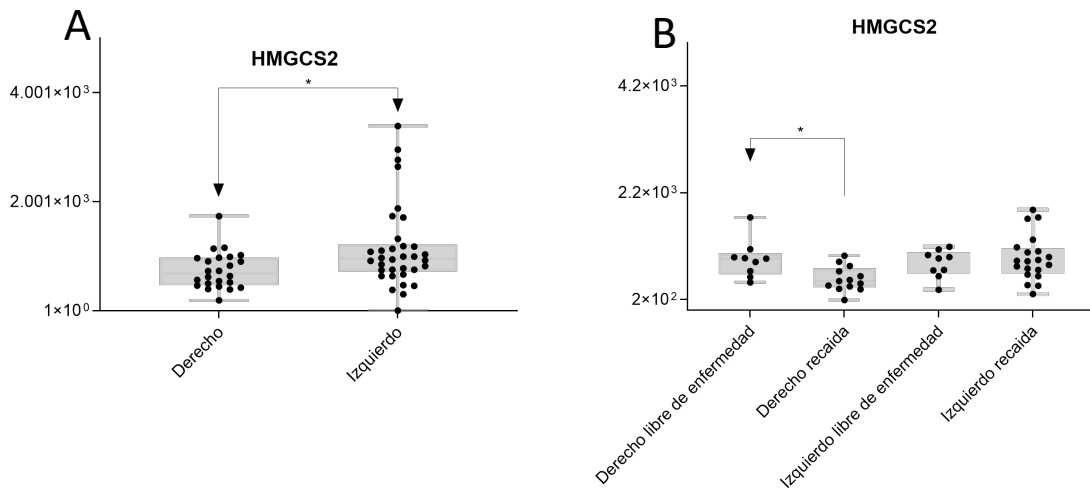
- **HNRNPH1:** La ribonucleoproteína H nuclear heterogénea es una proteína que en humanos está codificada por el gen *HNRNPH1*. Está implicada en el splicing del preRNA, en la estabilización y en el transporte de mRNA (Han et al, 2010). Un

estudio de proteómica comparó la expresión HNRNP1 en el tejido colónico normal frente a tejido tumoral objetivando una menor expresión de esta proteína en el CC (Krasnov et al, 2009). En nuestra serie HNRNP1 se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

- HMGCS2:** La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa 2 es una enzima mitocondrial codificada en humanos por el gen *HMGCS2*. Cataliza el primer paso irreversible en la cetogénesis, condensando acetil-CoA en acetoacetyl-CoA para formar HMG-CoA, que es convertido por la HMG-CoA reductasa (HMGCR) en mevalonato (Bouchard et al, 2001). En pacientes con hepatocarcinoma, se ha evidenciado que la supresión de HMGCS2 disminuye la producción de cuerpos cetónicos y promueve la proliferación, la migración celular a través de la vía c-Myc/cyclinD1, la TEM e inhibe la apoptosis a través de la vía de las caspasas (Wang et al, 2019) (Figura 71). Esta vía de acción, ya se había postulado como promotora del CC dependiente de la vía Myc en otros estudios (Camarero et al, 2006; Kim et al, 2023). Estos datos apoyan los resultados de nuestra serie en la que HMGCS2 se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída. Este efecto sería atribuible a la mayor activación de la TEM y por ello, una mayor migración celular. Al evaluar la expresión de HMGCS2 en función de su lateralidad, se observó mayor expresión de HMGCS2 en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 72-A). Además, se mostró una diferencia significativa al evaluar los datos por subgrupos teniendo en cuenta la diferente localización tumoral en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 72B). Por este motivo, postulamos a HMGCS2 como un posible biomarcador de riesgo de recidiva en los tumores localizados en el lado derecho.

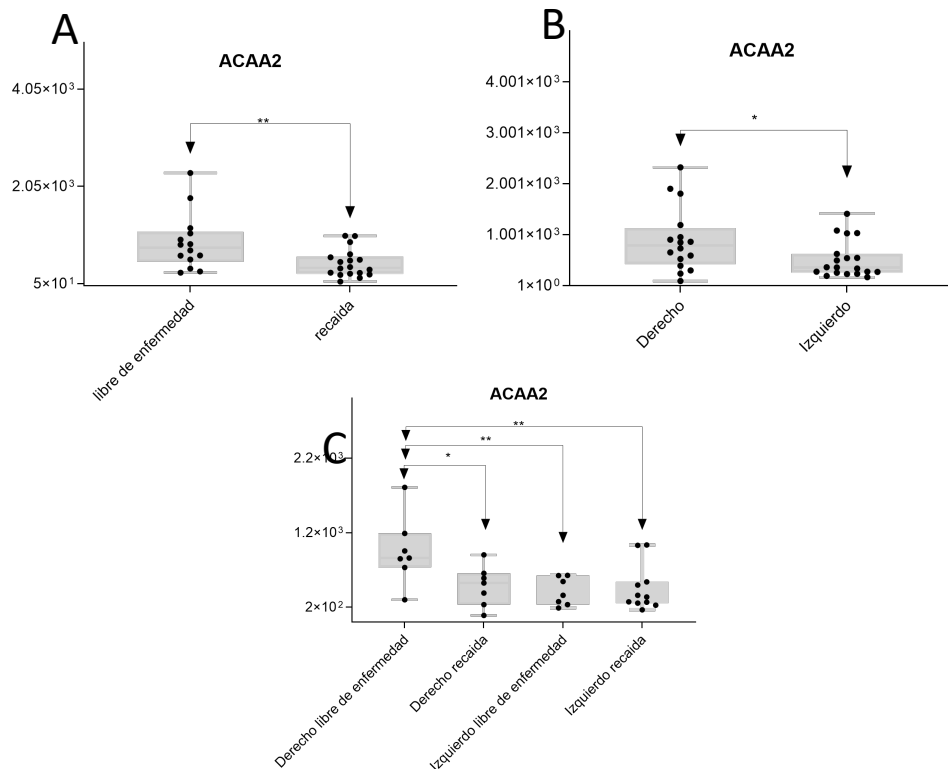


**Figura 71.** Representación esquemática del papel funcional de HMGCS2 y su implicación en la vía MYC en el desarrollo del hepatocarcinoma. Elaboración propia basada en el artículo de Wang et al, 2019.



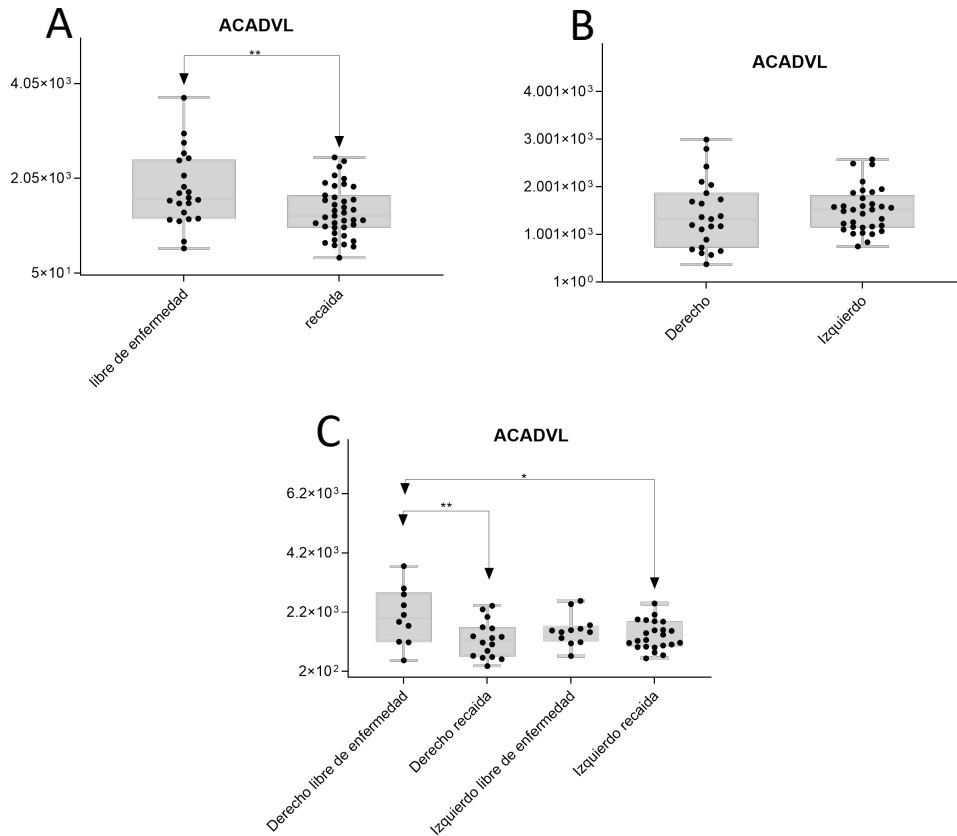
**Figura 72.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HMGCS2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- ACAA2:** La 3-cetoacil-CoA tiolasa mitocondrial, también conocida como acetil-coenzima A aciltransferasa 2, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *ACAA2*. Está implicada en la producción de energía a partir de los ácidos grasos catalizando el último paso de la beta-oxidación mitocondrial. El análisis de supervivencia de los pacientes en el conjunto de datos de CC del atlas del genoma del cáncer (TCGA) reveló que una mayor expresión de *ACAA2* se asocia a mejor pronóstico (Guo et al, 2017). La supresión de *ACAA2* en CC se ha correlacionado en diversos estudios con un peor pronóstico, un mayor índice de proliferación y el desarrollo de resistencia a cetuximab (Yuan et al, 2023). Los mecanismos que subyacen a estos hallazgos probablemente son similares a los descritos para la proteína HMGCS2. Otro estudio en cáncer renal postuló a *ACAA2* como un supresor de tumores y se asoció con una mayor infiltración inmune y una expresión elevada de PD-1 de las células T CD8+ (Li et al, 2023). De forma coherente con los datos de la literatura, en nuestra serie la menor expresión de *ACAA2* se objetivó en el grupo *Recaída* (Figura 73A). *ACAA2* está más expresada en los tumores del lado derecho donde las diferencias de expresión son significativas (Figura 73B Y 73C) y se postula como un posible biomarcador.



**Figura 73.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ACAA2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- ACADVL:** La acil-CoA deshidrogenasa mitocondrial específica de cadena muy larga es una enzima que en humanos está codificada por el gen *ACADVL*. Se trata de una acil-CoA deshidrogenasa que cataliza el primer paso de la beta-oxidación mitocondrial de ácidos grasos (Aoyama et al, 1995). No se ha descrito su asociación con el desarrollo o proliferación del CC, pero sí en otros tumores. Un estudio en tejidos de cáncer de páncreas humano y en modelos murinos evidenció mayor acumulación de ácidos grasos de cadena larga debido a la infraexpresión de ACADVL, con una menor activación de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> (Manzo et al, 2020). Estos datos indican una correlación fuerte entre estas alteraciones mecanismos metabólicas y la inmunidad antitumoral. Además, la infraexpresión ACADVL en carcinomas adrenocorticales se ha postulado como un marcador diferencial entre adenomas suprarrenales frente adenocarcinomas suprarrenales (Soon et al, 2008). En nuestra serie la proteína ACADVL se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída (Figura 74-A). Estas diferencias fueron más significativas en los tumores localizados en el colon derecho, en donde esta vía parece más relevante para su progresión. No se encontraron diferencias en función de la lateralidad (Figura 74- B y 74-C).

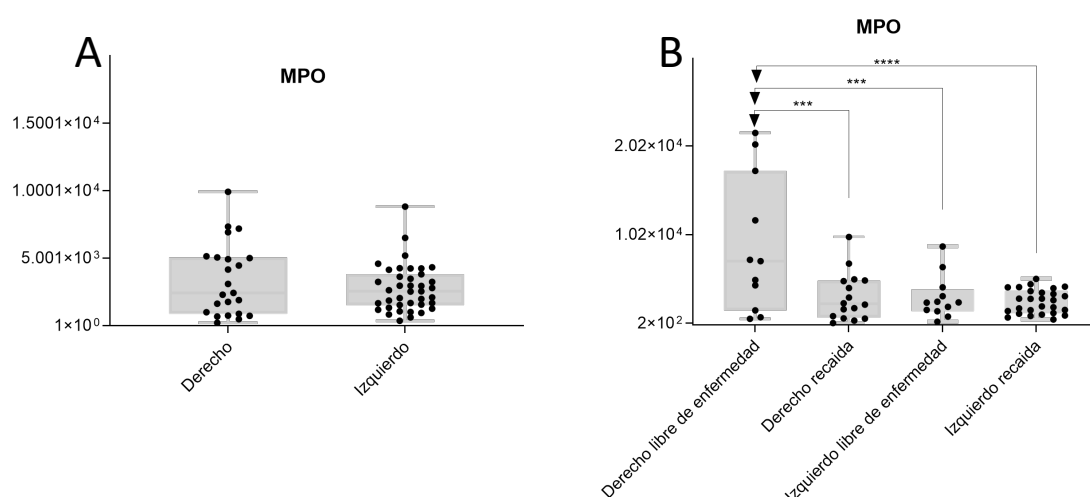


**Figura 74.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ACADVL a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

Se ha encontrado una fuerte asociación entre las proteínas MPO, AZU1 y CTSG, implicadas en fenómenos de inmunidad.

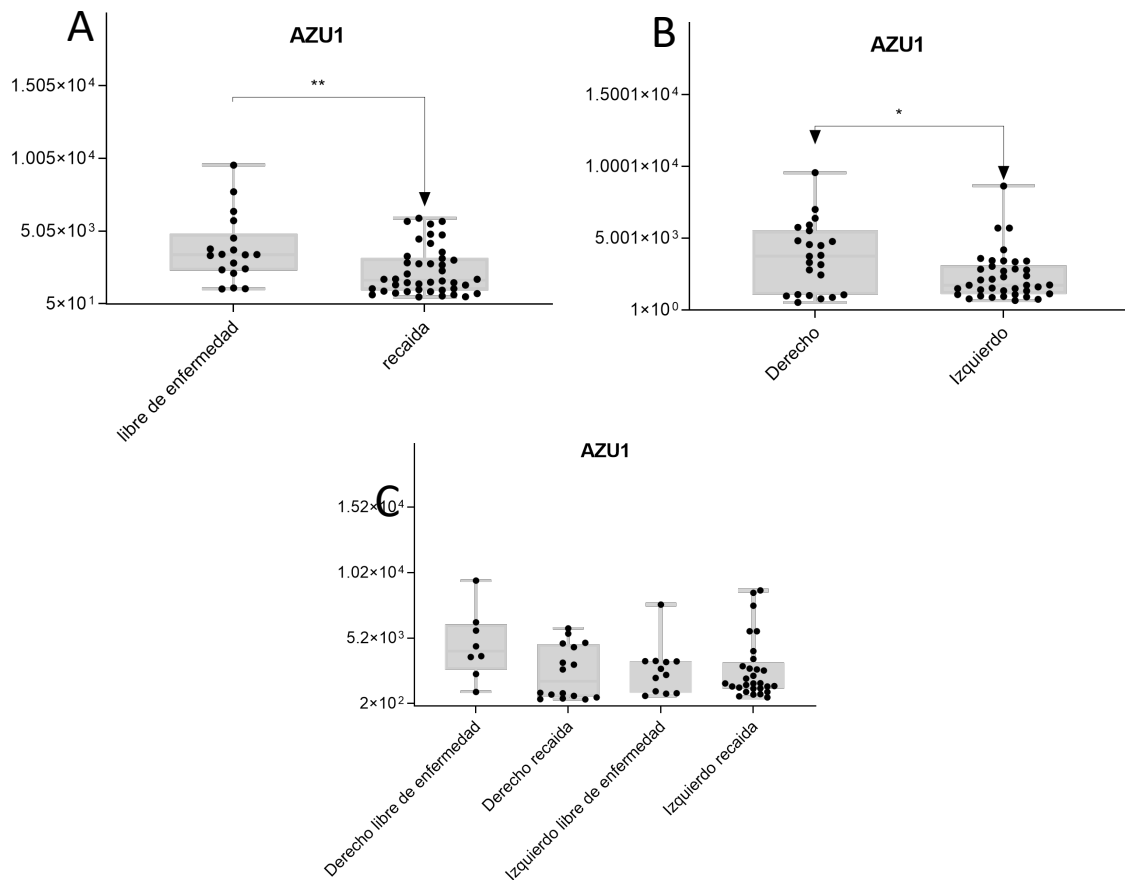
- MPO:** La mieloperoxidasa es una proteína hemo sintetizada durante la diferenciación mieloide que está codificada por el gen *MPO*. Constituye el componente principal de los gránulos azurófilos de los neutrófilos y forma parte del sistema de defensa de los polimorfonucleares (PMN). La MPO cataliza la producción de ácidos hipohalosos y ácido hipocloroso, así como otros intermediarios tóxicos en situaciones fisiológicas para potenciar la actividad antimicrobiana de los PMN (Furtmüller et al, 1998). Se ha propuesto a MPO como un promotor o supresor tumoral en diferentes tumores (Hagerling et al, 2019; Valadez-Cosmes et al, 2022), aunque no hemos encontrado datos sobre su implicación en CC. En nuestra serie MPO se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída, lo que postula a MPO como un posible supresor tumoral. En otros tumores, se han descrito varios mecanismos que explicarían estos resultados: 1) mayor velocidad de crecimiento tumoral en melanoma con la infraexpresión o inhibición de la MPO a través de la inhibición secundaria de NF- $\kappa$ B (Liu et al, 2021); 2) propiedades antitumorales de los PMN a través de la producción de HOCL por su capacidad de inducir muerte

celular (Pottgiesser et al, 2015; Jaganjac et al, 2010); y 3) mecanismo inmunitario a través de la producción de HOCL que promueve la infiltración del tejido tumoral por linfocitos TCD8+, monocitos y PMN (Liu et al, 2021). En nuestra serie se ha evaluado la expresión de MPO en función de la lateralidad pero no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, su posible papel como biomarcador pronóstico parece más relevante en los tumores localizados en el lado derecho en donde las diferencias son más significativas al evaluar los resultados teniendo en cuenta la lateralidad (Figura 75).



**Figura 75.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína MPO a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- **AZU1:** La azurocidina, también conocida como proteína antimicrobiana catiónica CAP37 o proteína de unión a heparina, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *AZU1*. Esta proteína se ha correlacionado con mecanismos inhibidores de la proliferación a través de la vía de las caspasas en cáncer de mama triple negativo (Lei et al, 2023). También se ha correlacionado una mayor expresión de AZU1 con mayor sensibilidad a la inmunoterapia en pacientes con cáncer de cérvix (Liu et al, 2022). Aunque no se ha establecido su papel en el CC todos estos datos apoyan los resultados obtenidos en nuestra serie. En el análisis por lateralidad objetivamos una mayor expresión de AZU1 en los tumores localizados en el lado derecho. En el análisis por subgrupos en función de lateralidad existe una tendencia a una menor expresión de AZU1 en el grupo *Recaída* aunque esta no es significativa (Figura 76).



**Figura 76.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína AZU1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- CTSG:** La catepsina G es una proteína que en humanos está codificada por el gen *CTSG*. Es una de las tres serina proteasas de la familia de las quimotripsinas que se almacenan en los gránulos azurófilos de los PMN y también es miembro de la familia de proteínas peptidasa S1. Un estudio realizado en CC ha relacionado una menor expresión de CTSG con estadios más avanzados y peor pronóstico. En este estudio se ha postulado la actividad de CTSG como un gen supresor a través de la vía AKT/mTOR/BCL2 (Chan et al, 2023) (Figura 77). Estos resultados se corresponden con los datos obtenidos en nuestra serie donde se encontró una menor expresión de CTSG en los tumores de pacientes con recaída independientemente de la lateralidad. Además, se identificó una mayor expresión de CTGS en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 78).

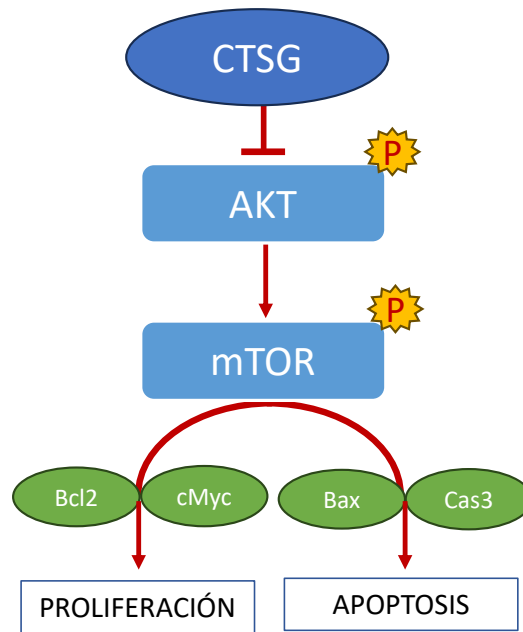


Figura 77. Representación esquemática del papel funcional de CTSG sobre la vía de AKT/mTOR. Elaboración propia.

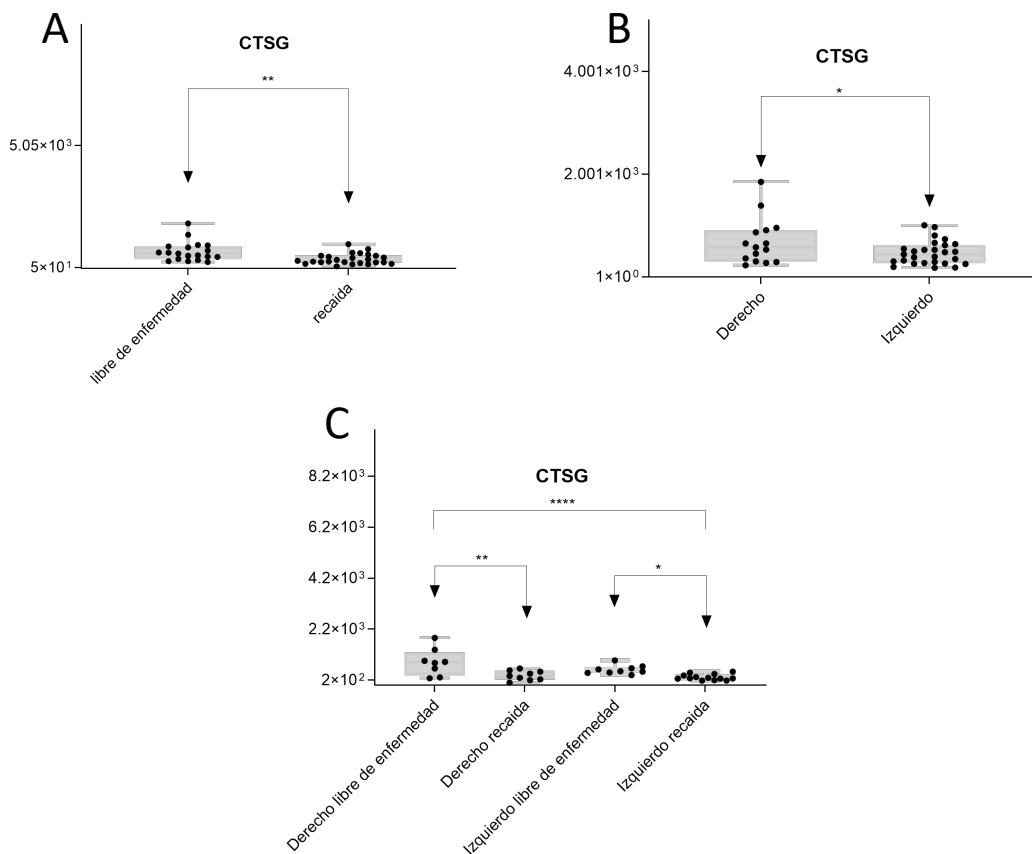
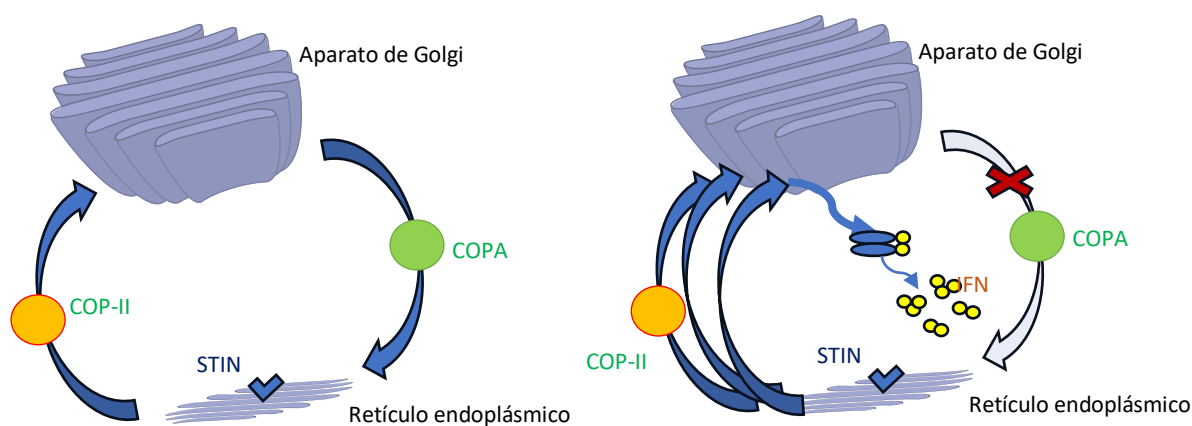


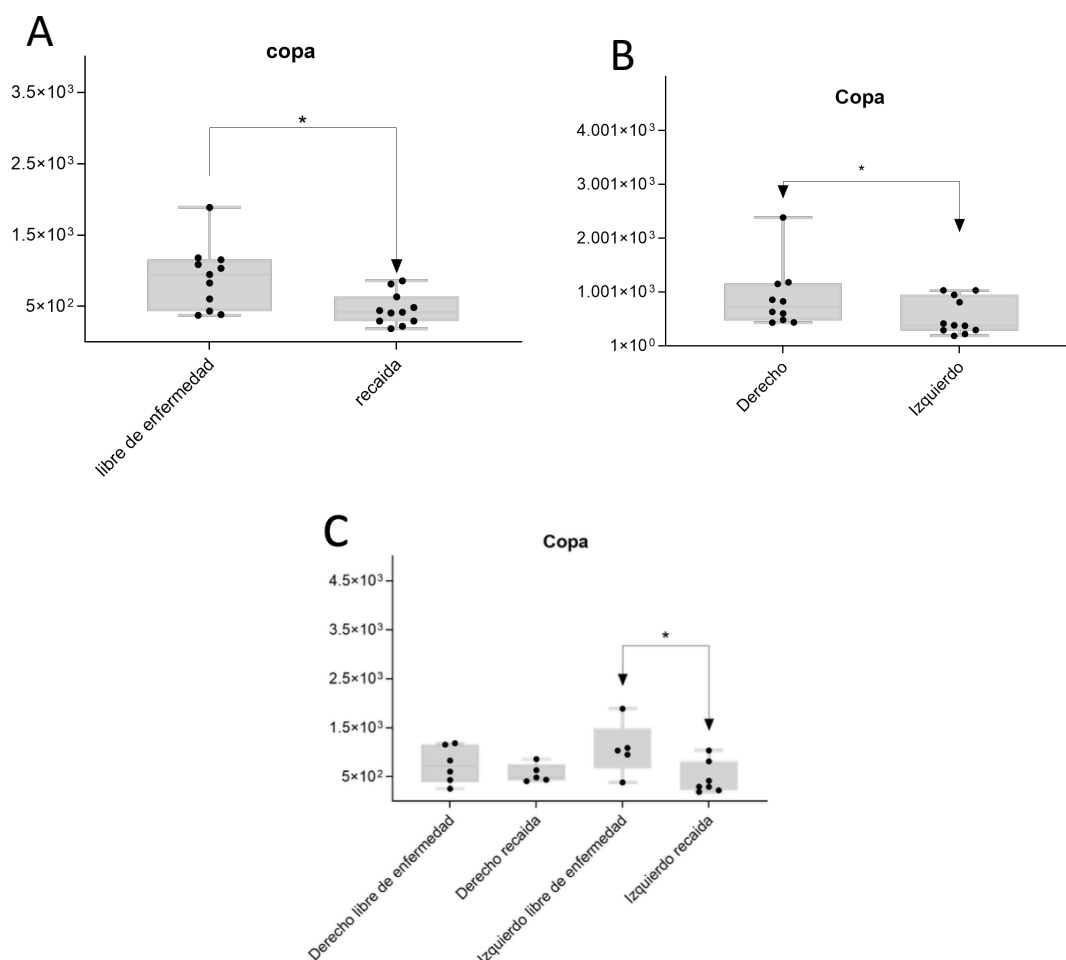
Figura 78. Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína CTSG a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para CTSG en una muestra.

**CLUSTER 4:** El *cluster 4* está formado por proteínas implicadas en el transporte, formación y eliminación de vesículas en el aparato de Golgi.

- **COPA:** La subunidad alfa del coatómero es una proteína que en humanos está codificada por el gen *COPA*. Esta proteína está implicada en el transporte retrógrado de vesículas entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. El déficit de esta proteína se ha asociado con la sobreexpresión de STING y una mayor activación de la vía del IFN (relacionado con fenómenos de inmunidad innata) (Figura 79) (Steiner et al, 2022). En nuestra serie, COPA se encontró infraexpresada en los tumores de peor pronóstico y aumentada en las neoplasias del lado derecho (Figura 80). Estas diferencias fueron más marcadas en los tumores localizados en el lado izquierdo.

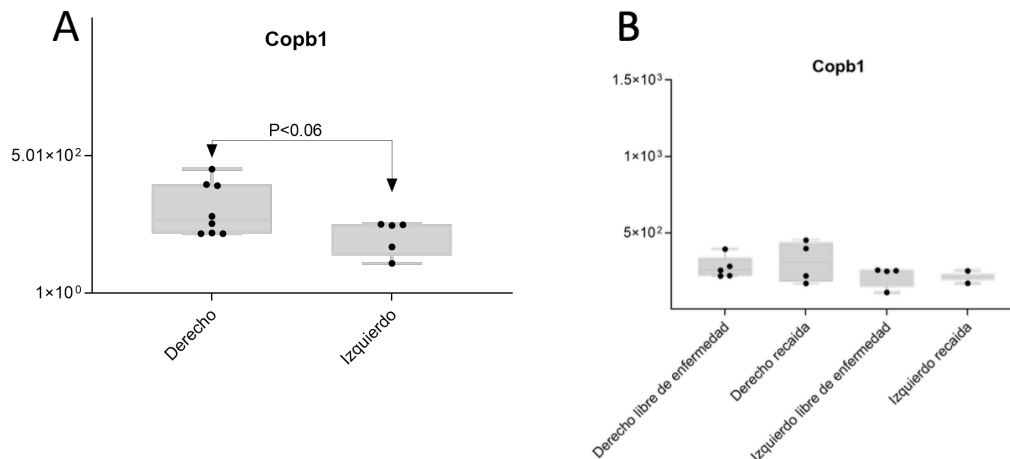


**Figura 79.** Representación esquemática del papel funcional de COPA y su relación con la expresión de STING. Elaboración propia basada en Steiner et al, 2022.



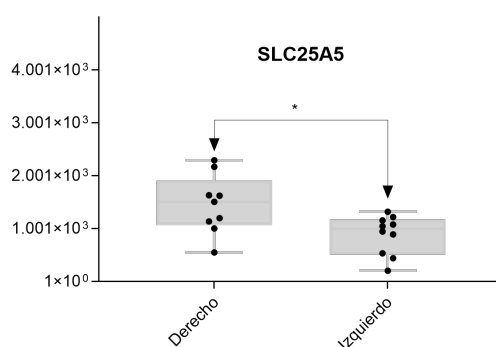
**Figura 80.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína COPA a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- COPB1:** La subunidad beta del coatómero es una proteína que en humanos está codificada por el gen *COPB1*. Esta proteína participa en la formación del complejo COPI, implicado en el transporte de vesículas entre el aparato de Golgi y el retículo endoplásmico así como en el procesamiento, actividad y reciclaje endocítico de los receptores de LDL. Como ya se ha descrito para COPA, estas proteínas están implicadas en fenómenos relacionados con la regulación de la inmunidad innata, lo que puede explicar que COPB1 tenga una mayor expresión en el lado derecho (Figura 81-B). La sobreexpresión de la proteína COPB1 se ha postulado con un factor de buen pronóstico en el cáncer de esófago y se asoció con la presencia de mayor infiltrado linfocitario en el adenocarcinoma gástrico (Chen et al, 2021). Esto concuerda con los datos de nuestra serie, donde una menor expresión de COPB1 se asoció con un mayor riesgo de recaída (Figura 81-A). No se encontraron diferencias significativas al evaluar los resultados en función recaída y lateralidad.



**Figura 81.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína COPB1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- **COPB2:** La subunidad beta del coatómero es una proteína que en humanos está codificada por el gen *COPB2*. Esta proteína participa en la formación del complejo COPI, implicado en el transporte de vesículas entre el aparato de Golgi y el retículo endoplásmico (Figura 79) (Feng et al, 2021). Se ha definido como oncogén en algunos tumores y se ha postulado como factor pronóstico negativo en el cáncer de páncreas y en el hepatocarcinoma según los datos de *The Human Protein Atlas*. COPB2 se encuentra sobreexpresada en el CC, tiroides, pulmón y mama (Chen et al, 2021). En nuestra serie, se objetivó una menor expresión de COPB2 en los pacientes con recaída. No hemos encontrado una explicación en la literatura acerca del mecanismo que justifique esta asociación.
- **SLC25A5:** La translocasa 2 de ADP/ATP es una proteína que en humanos está codificada por el gen *SLC25A5* localizado en el cromosoma X. SLC25A5 funciona como un intercambiador de ADP/ATP entre la matriz mitocondrial y el citoplasma (Namba et al, 2020). Un análisis bioinformático basado en muestras de *The Cancer Genome Atlas* identificó una expresión diferencial de SLC25A5 en CC. Esta proteína estaba globalmente infraexpresada. La sobreexpresión de SLC25A5 se relacionó con una mayor supervivencia y una mayor expresión de firmas relacionadas con la vía de la muerte celular programada a través de la inhibición de la vía de las MAPK (Chen et al, 2022; Li et al, 2023). Esto concuerda con los datos de nuestra serie, en donde la menor expresión de SLC25A5 se asoció con peor pronóstico. En cuanto a su lateralidad, se objetivó una mayor expresión de SLC25A5 en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 82).



**Figura 82.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SLC25A5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de la lateralidad.

- **ARF1:** El factor 1 de ribosilación de ADP es una proteína que en humanos está codificada por el gen *ARF1*. Modula la eliminación y formación de vesículas en el aparato de Golgi. La hidrólisis del GTP unido a ARF1, que está mediada por proteínas ARFGAP, es necesaria para la disociación de las proteínas de la cubierta de las membranas y vesículas de Golgi (Tanigawa et al, 1993). Un único estudio en CC sugiere que una mayor expresión de ARF1 podría relacionarse con peor pronóstico (Hu et al, 2021). Sin embargo, estos datos no se confirman en nuestra serie.
- **CYCS:** El citocromo C es una proteína pequeña, que funciona como transportador electrónico mitocondrial entre los complejos respiratorios III y IV y también como un mediador de la apoptosis a través de su unión a Apaf-1 y la consecuente activación de la vía de las caspasas (Klick et al, 1997). En base a esto, se ha analizado la implicación del citocromo C en la proliferación celular visualizando un incremento en la tasa de apoptosis en los tejidos que muestran una sobreexpresión de CYCS (Liu et al, 2019). Varios estudios han analizado los niveles séricos de citocromo C en pacientes con cáncer y pacientes sanos. Se han objetivado unos niveles inferiores de CYCS en los pacientes con cáncer (Barczyk et al, 2005). La baja expresión de CYCS se asoció a una menor supervivencia y su incremento a una mayor respuesta al tratamiento (Javid et al, 2015). Esto concuerda con los datos de nuestra serie, en donde la menor expresión de CYCS se asoció con un peor pronóstico.
- **EPRS:** La aminoacil-tRNA sintetasa bifuncional es una enzima que en humanos está codificada por el gen *EPRS*. Se trata de una proteína multifuncional que forma principalmente parte del complejo multienzimático aminoacil-ARNt sintetasa, también conocido como complejo multisintetasa. ERPS cataliza la unión del aminoácido afín al ARNt correspondiente (Cerini et al, 1991). En nuestra serie EPRS se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída.

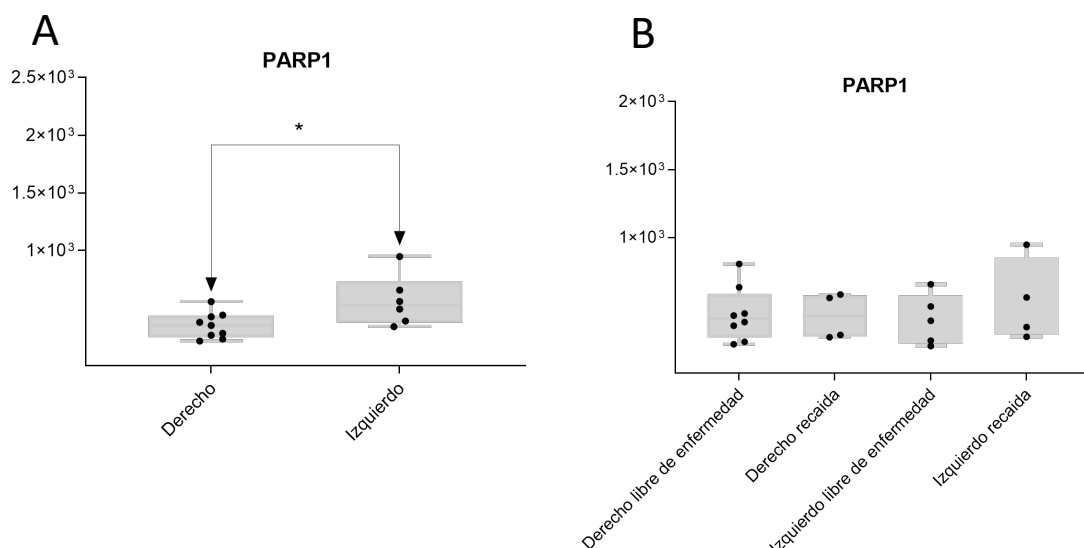
treonina al ARN transferente (Fang et al, 2015). En nuestra serie TARS se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída. No se ha descrito ninguna asociación entre sus niveles de expresión y el riesgo de progresión en CC.

- **QARS:** La glutaminil-tRNA sintetasa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *QARS*. En nuestra serie se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída. No se ha descrito ninguna asociación entre sus niveles de expresión y el riesgo de progresión en CC.

**FARSB:** La cadena beta de la fenilalanil-tRNA sintetasa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *FARSB*. En nuestra serie se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída. No se ha descrito ninguna asociación entre sus niveles de expresión y el riesgo de progresión en CC.

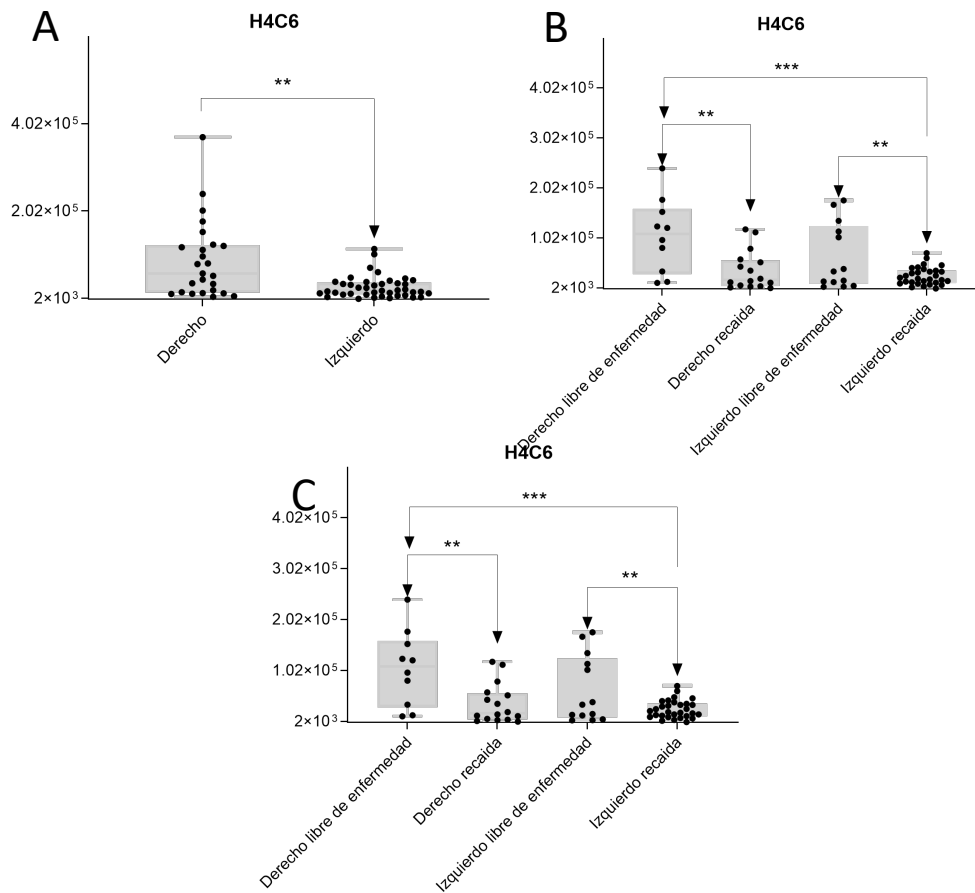
**CLUSTER 5:** El *cluster 5* está formado por proteínas implicadas en el procesamiento del RNA y en la oxidación del alcohol.

- **PARP1:** La PARP1 es el miembro más abundante de una superfamilia proteica de 18 miembros denominada Familia PARP y está codificada en humanos por el gen *PARP1*. Es una Poli-ADP-ribosiltransferasa que media la poli-ADP-ribosilación de proteínas y desempeña un papel clave en la reparación del ADN (Maruyama et al, 2007; Ahel et al, 2008). Un estudio en líneas celulares de CC, ha relacionado un mayor índice de proliferación con la inhibición de la vía p53/SIRT6/PARP1 mediada por AKT al verse inhibido uno de los principales puntos de control (Zhang et al, 2022). Otro estudio evidenció que la administración de un carcinógeno (AOM) en ratones que tienen inactivados los 2 alelos de PARP1 desarrollaban un mayor porcentaje de tumores de colon y mayor diseminación hepática frente a los que lo tenían conservado; probablemente a través de la vía WNT/beta-catenina (Nozaki et al, 2003). Estos hallazgos concuerdan con los datos obtenidos en nuestra serie y postulan PARP1 como un posible biomarcador de mal pronóstico. En nuestra serie, se evaluó la expresión de PARP1 en función de la lateralidad y se objetivó una mayor expresión de PARP1 en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 83-A). Al evaluar la expresión de la recaída en función de la lateralidad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos aunque sí una tendencia a una mayor expresión en el grupo Recaída en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 83-B).



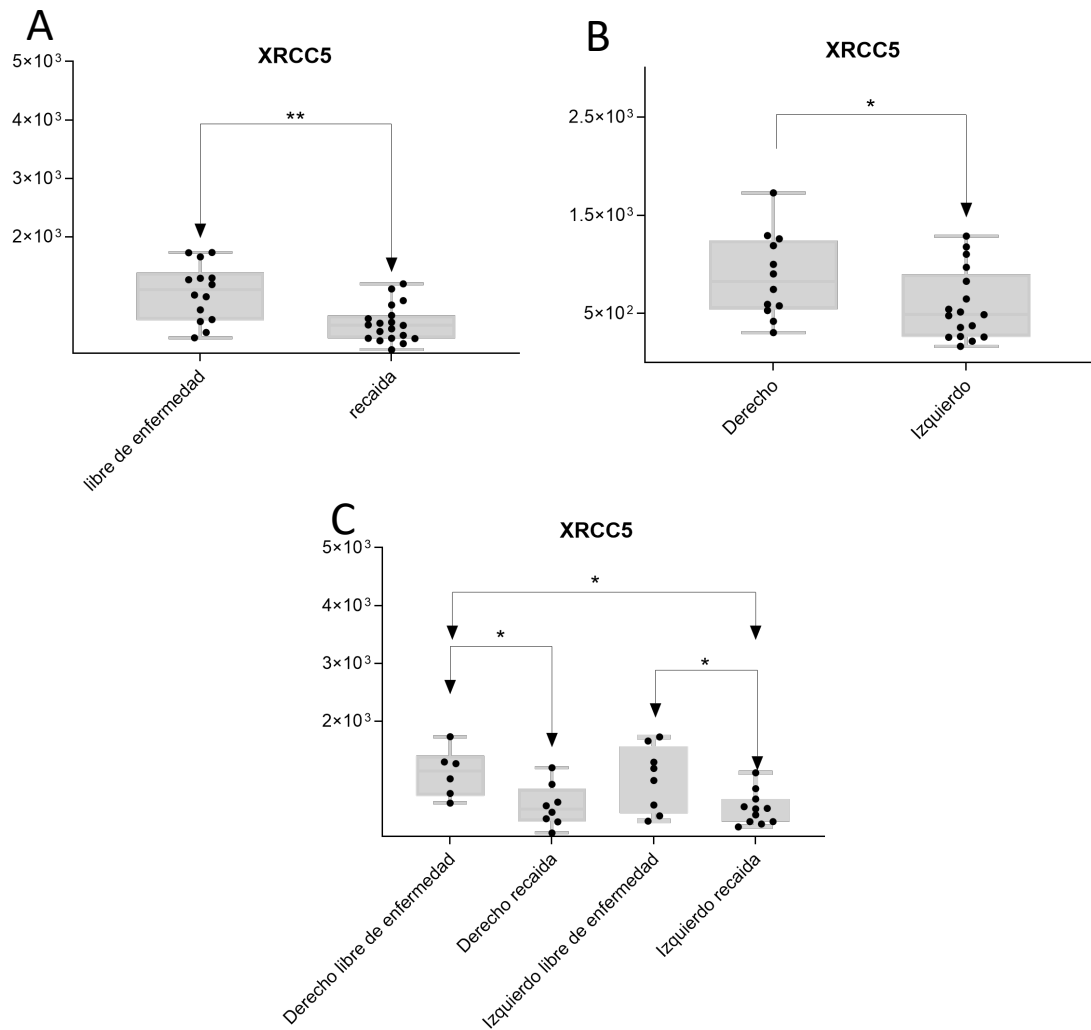
**Figura 83.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína PARP1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.

- H4C6:** Se trata de una proteína histona codificada por el gen *H4C6*. Las histonas son proteínas que forman parte de la cromatina y que están implicadas en el empaquetamiento y expresión génica del ADN (Grady et al, 2021). En CC varios estudios han postulado la expresión de estas proteínas como posibles biomarcadores. Se ha reportado una menor expresión de las histonas 4 y 3 en el suero de pacientes con CC frente a pacientes sanos con lesiones premalignas (Özgür et al, 2019; Leszinski et al, 2012). Esta última también se ha relacionado con un peor pronóstico. En nuestro estudio, la proteína H4C6 aparece infraexpresada en los pacientes con peor pronóstico, lo que la postula como un posible biomarcador de mal pronóstico (Figura 84A). Estos resultados se mantienen al analizar los datos de H4C6 en función de la lateralidad (Figura 84C). Se objetivó una mayor expresión H4C6 en las neoplasias del lado derecho (Figura 84-B).



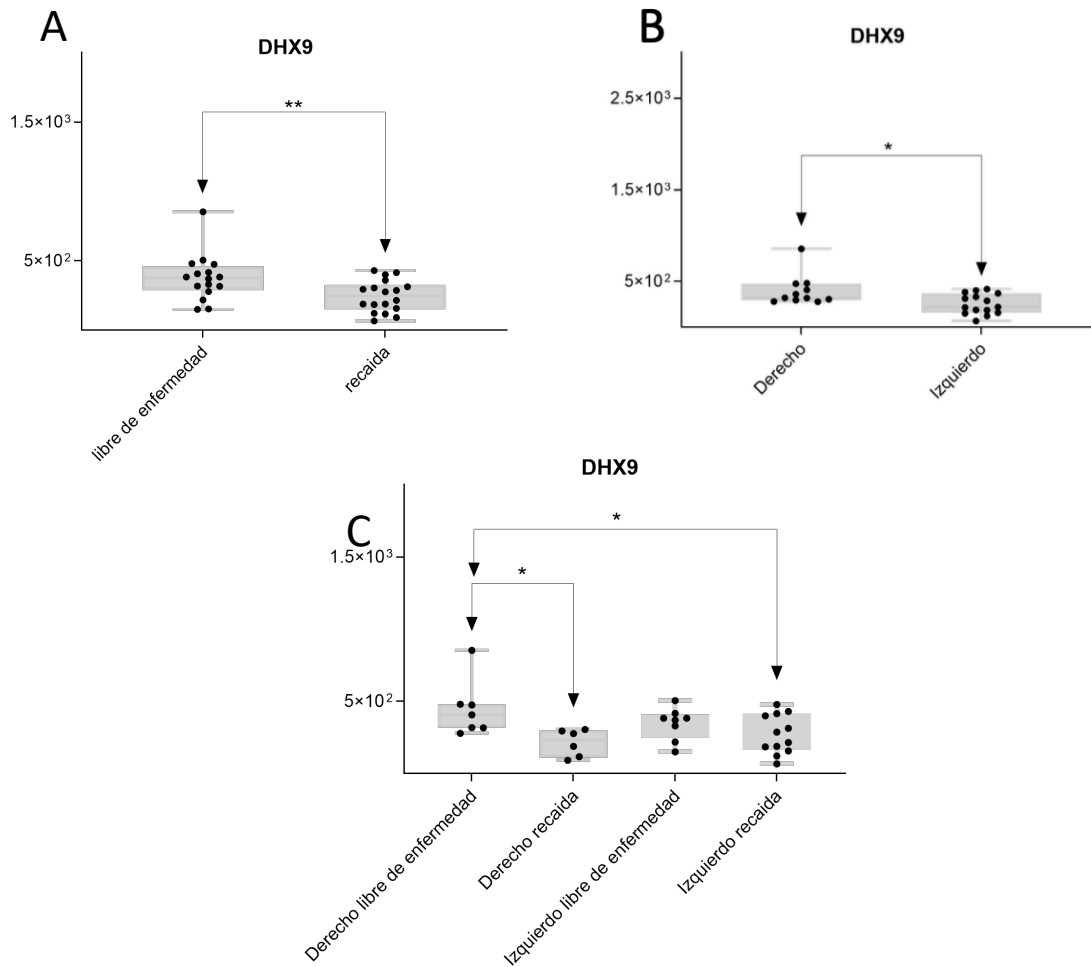
**Figura 84.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína H4C6 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- XRCC5:** Ku80 es una proteína codificada en humanos por el gen *XRCC5*. Ku80 y Ku70 conforman un heterodímero denominado proteína Ku, que se une a los extremos de la doble hebra de ADN que ha sufrido un corte, siendo necesaria para el proceso de recombinación no homóloga durante la reparación del ADN (Tuteja et al, 1994; Walker et al, 2001). Un análisis multiómico sobre el papel de siete genes (*XRCC5*, *XRCC6*, *PRKDC*, *LIG4*, *XRCC4*, *NHEJ1*, *PAXX*) implicados en la vía de recombinación no homóloga en CC no encontró diferencias en la expresión de *XRCC5* en función del estadiaje, aunque una menor expresión de *XRCC5* se asoció a la presencia de mutación en *BRAF* (Arora et al, 2020). En nuestra serie *XRCC5* aparece infraexpresada en los pacientes con peor pronóstico (Figura 85-A) y en los tumores del lado izquierdo (Figura 85-B). Estos hallazgos se mantienen en el análisis realizado en función de la lateralidad (Figura 85-C) lo que la postula a *XRCC5* como un posible biomarcador.



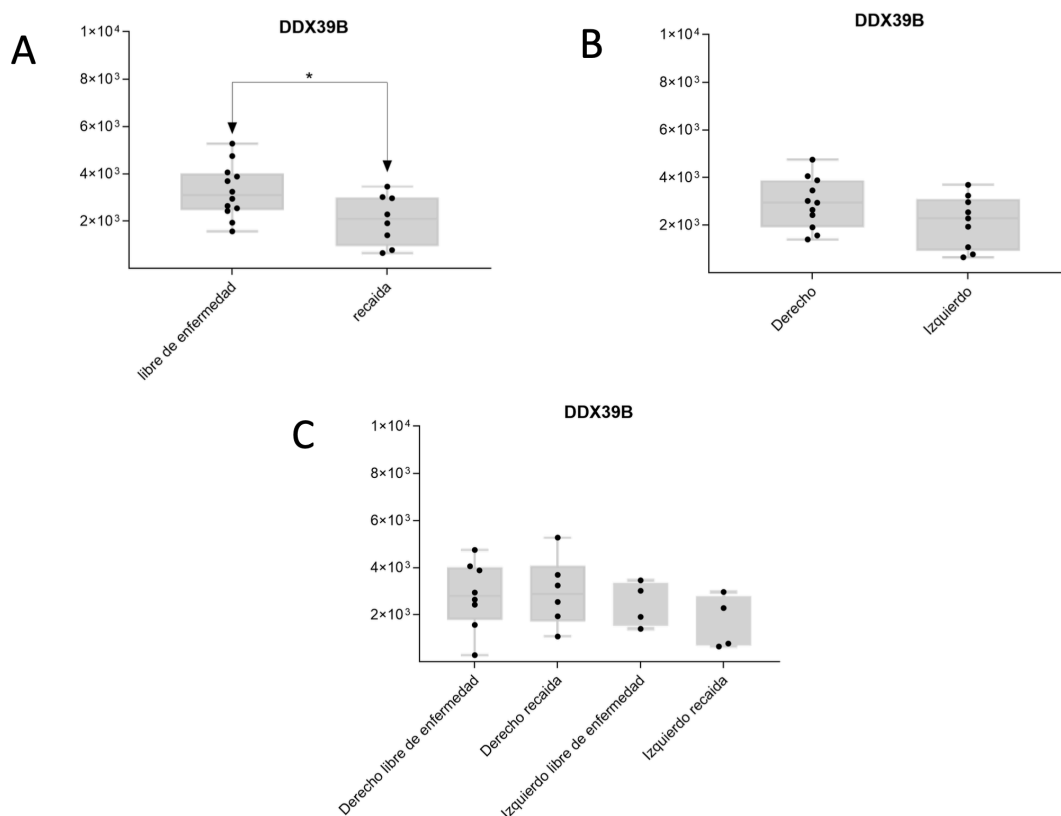
**Figura 85.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína XRCC5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- DHX9:** La helicasa A de ARN, dependiente de ATP es una enzima que en los humanos está codificada por el gen *DHX9* (Zhang et al, 1997; Aratani et al, 2001). El papel de DHX9 en el cáncer ha sido muy discutido pues se ha descrito como oncoproteína y como proteína supresora de tumores. Se ha propuesto que su papel como supresor tumoral sería a través de su interacción con p16 y BRCA1 (Anderson et al, 1998; Myöhänen et al, 2001). En nuestra serie DHX9 aparece infraexpresada en los pacientes con un peor pronóstico y aumentada en los tumores del lado derecho de manera significativa. Sin embargo, al analizar la expresión de DHX9 en función de su lateralidad y recaída estas diferencias se mantienen de manera significativa en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 86).



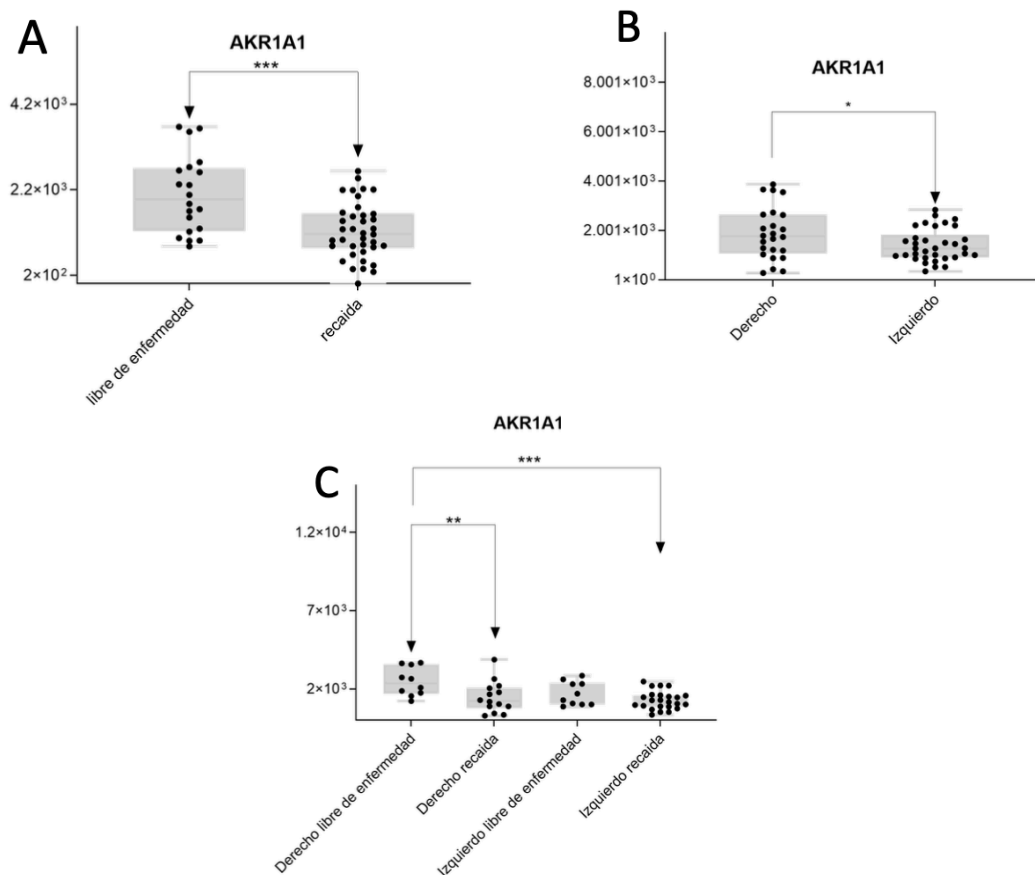
**Figura 86.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína DDX39B a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- DDX39B:** La ARN helicasa BAT1 del empalmeosoma es una enzima que en humanos está codificada por el gen *BAT1*. Este gen codifica un miembro de la familia DEAD box de ATPasas dependientes de ARN que median la hidrólisis de ATP durante el corte y empalme previo al ARNm (Luo et al, 2001; Shi et al, 2004). En nuestra serie DDX39B aparece infraexpresada en los pacientes con un peor pronóstico. No se identificaron diferencias significativas en cuanto a su expresión en el análisis de lateralidad (Figura 87).



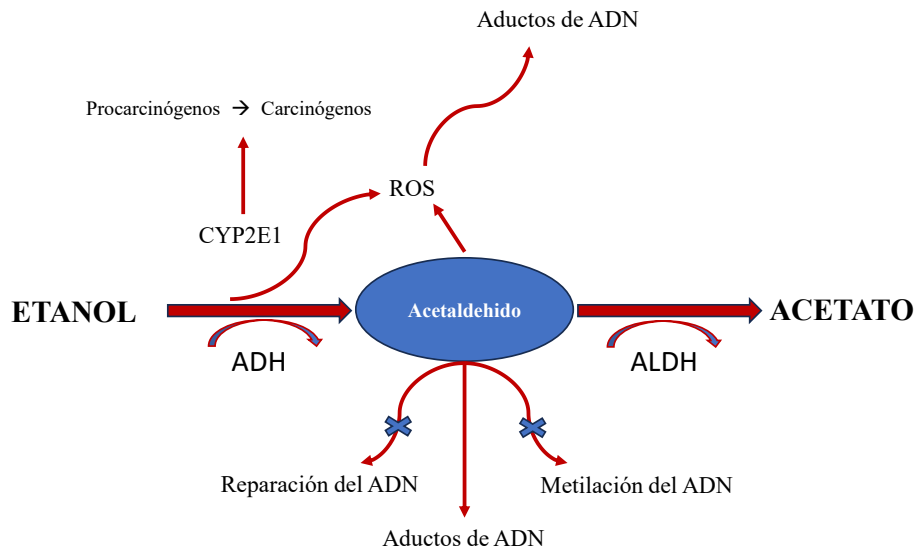
**Figura 87.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína DDX39B a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- AKR1A1:** La aldehído-reductasa EC 1.1.1.2 en humanos está codificada por el gen *AKR1A*. Esta enzima cataliza la reacción de oxidación de un alcohol a un aldehído. Esta proteína se encuentra expresada principalmente en cerebro, riñón, hígado e intestino delgado (O'Connor et al, 1999). El aumento de expresión de AKR1A1 se ha relacionado con la presencia de cardiotoxicidad, resistencia a antraciclinas en varios estudios (Plebuch et al, 2007) y aunque con menor evidencia, con una mayor resistencia al irinotecan (Peng et al, 2010). En nuestra serie, la proteína AKR1A1 se encuentra infraexpresada en los pacientes con recaída y en los tumores del lado izquierdo. Al analizar los datos teniendo en cuenta la lateralidad, la infraexpresión de AKR1A1 podría postularse como un marcador de mal pronóstico sobre todo en los tumores del lado derecho (Figura 88).

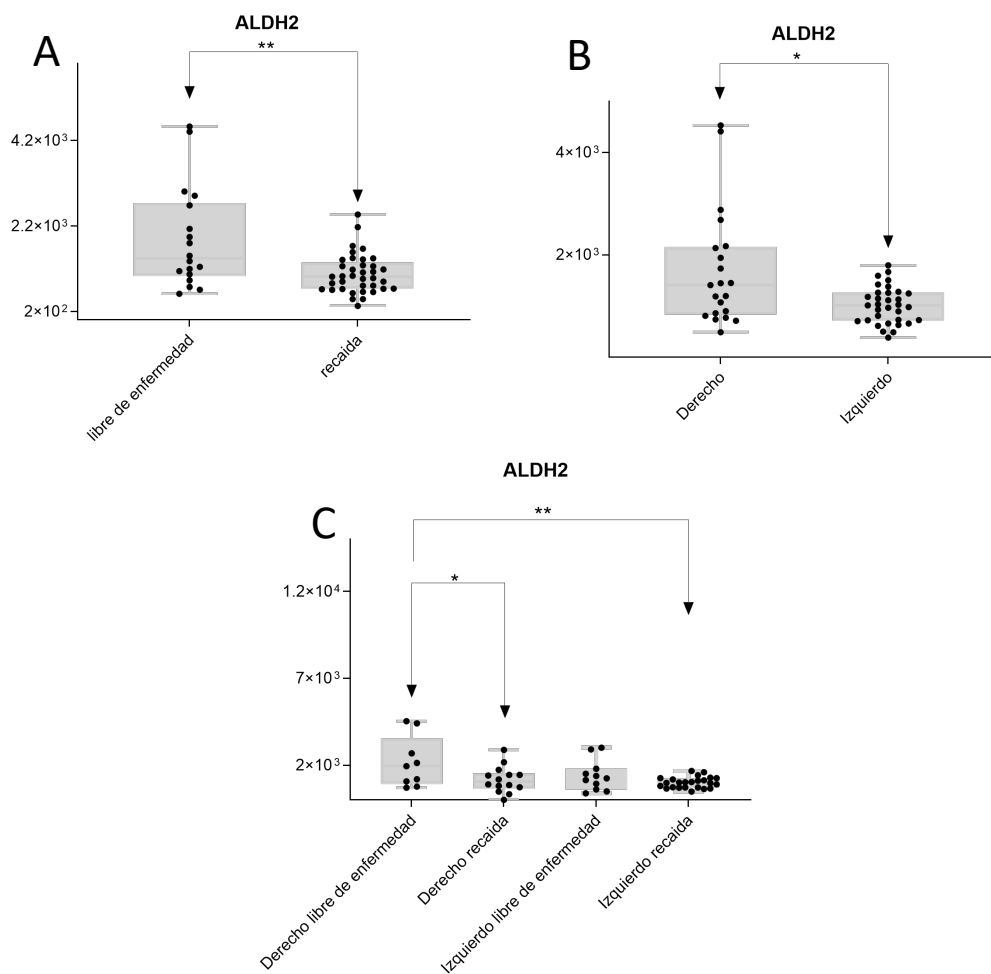


**Figura 88.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína AKR1A1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída y B) lateralidad y recaída.

- ALDH2:** La aldehído deshidrogenasa 2 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *ALDH2*. Esta enzima es la responsable de eliminar aldehídos tóxicos catalizando su oxidación. Las mutaciones en la *ALDH2* se han relacionado con una mayor acumulación de acetaldehído (AA) debido a una menor metabolización del etanol (Figura 89). Estas mutaciones se encuentran hasta en un 40% de la población asiática (Seitz et al, 2001). La acumulación de AA interfiere en mecanismos de síntesis y reparación del ADN y produce una acumulación de reactantes de oxígeno. También se ha relacionado la menor expresión de ALDH1 con una disfunción del sistema inmune (Zhang et al, 2021). Por ello, el déficit o la infraexpresión de ALDH2 se asocia con un aumento del riesgo de múltiples neoplasias como el cáncer de laringe, el hepatocarcinoma o el CC entre otros (Seitz et al, 2010). La infraexpresión de ALDH2 se ha relacionado con un peor pronóstico en el cáncer de esófago, gástrico, colon, cabeza y cuello y hepatocarcinoma (Yu et al, 2018; Tsai et al, 2014; Yang et al, 2009). Dichos resultados concuerdan con los datos obtenidos en nuestra serie, en donde se ha objetivado un mayor riesgo de recaída en los tumores con menor expresión de ALDH2. Las diferencias en la expresión de ALDH2 son más marcadas en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 90).

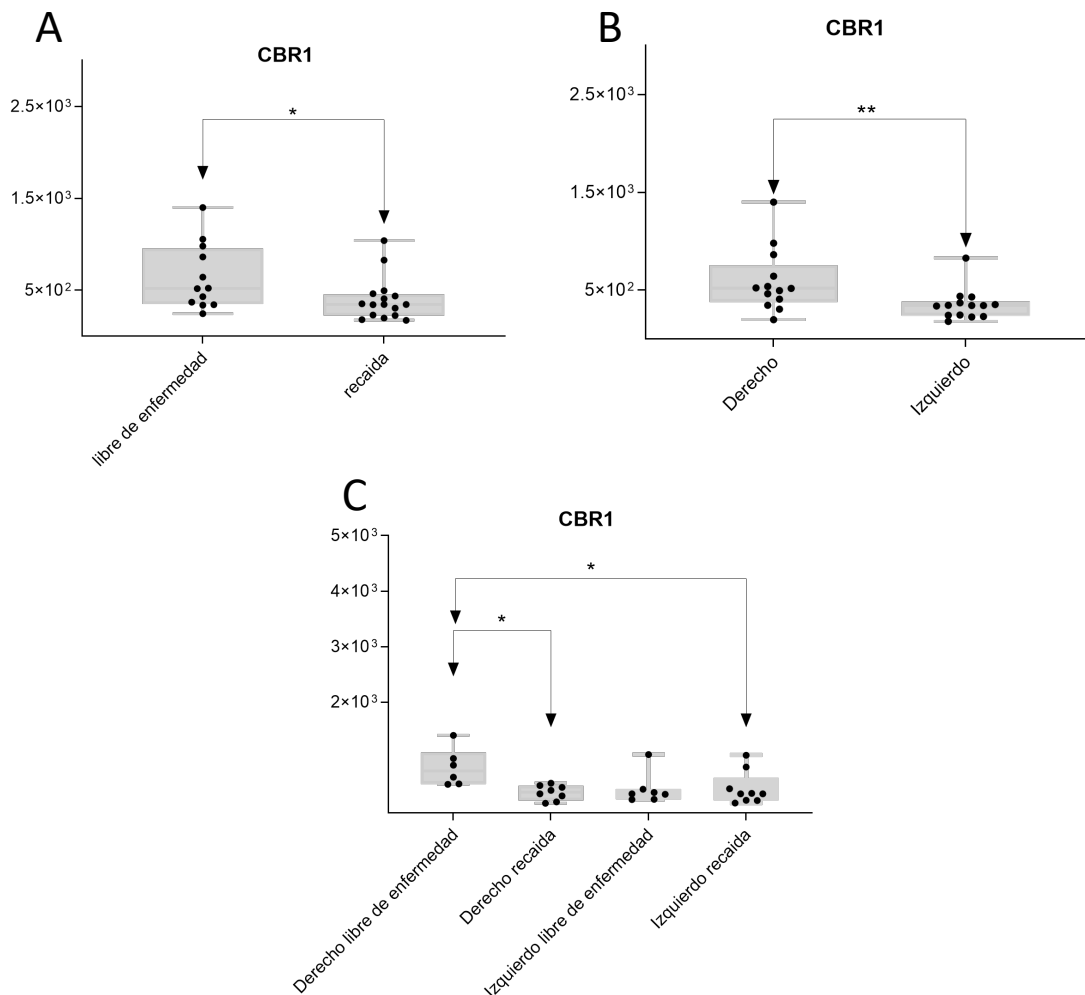


**Figura 89.** Representación esquemática de los mecanismos implicados en la acumulación de acetaldehído y su interacción a nivel del ADN. Elaboración propia.



**Figura 90.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ALDH2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

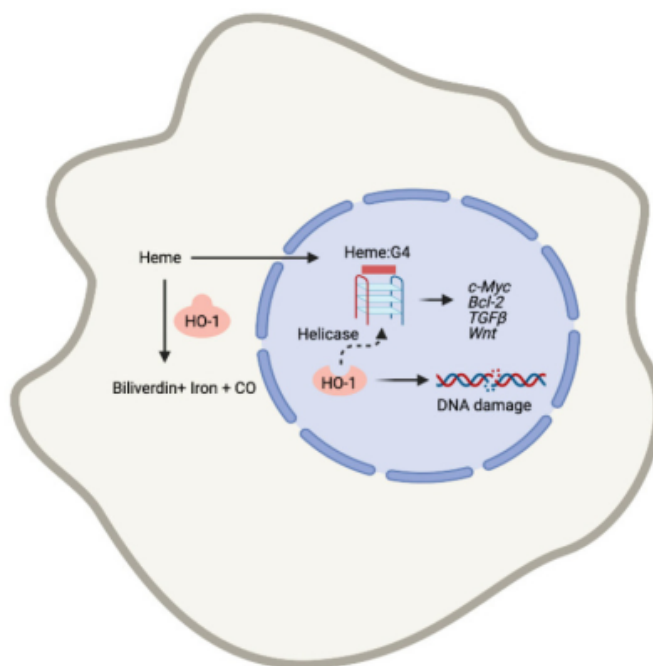
- CBR1:** La carbonil reductasa 1, también conocida como CBR1, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *CBR1*. Se encarga de catalizar la reducción de muchos compuestos mediante el uso de la actividad oxidorreductasa dependiente de NADPH. La infraexpresión de CBR1 se ha relacionado con un peor pronóstico en pacientes con cáncer de endometrio. Se ha postulado que la supresión de CBR1 produce una menor expresión de la E-cadherina favoreciendo la diseminación tumoral a través de la TEM (Murakami et al, 2012; Yun et al, 2020). En cáncer de ovario se ha postulado a CBR1 como un supresor tumoral a través del control de la apoptosis mediado por la vía de las caspasas a través de su unión a TNFR1 (Miura et al, 2015). Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en nuestra serie en donde se ha objetivado un mayor riesgo de recaída en los tumores con una menor expresión de CBR1. También se analizó resultado en función de lateralidad objetivando una mayor expresión de CBR1 en los tumores del lado derecho donde las diferencias eran más significativas (Figura 91).



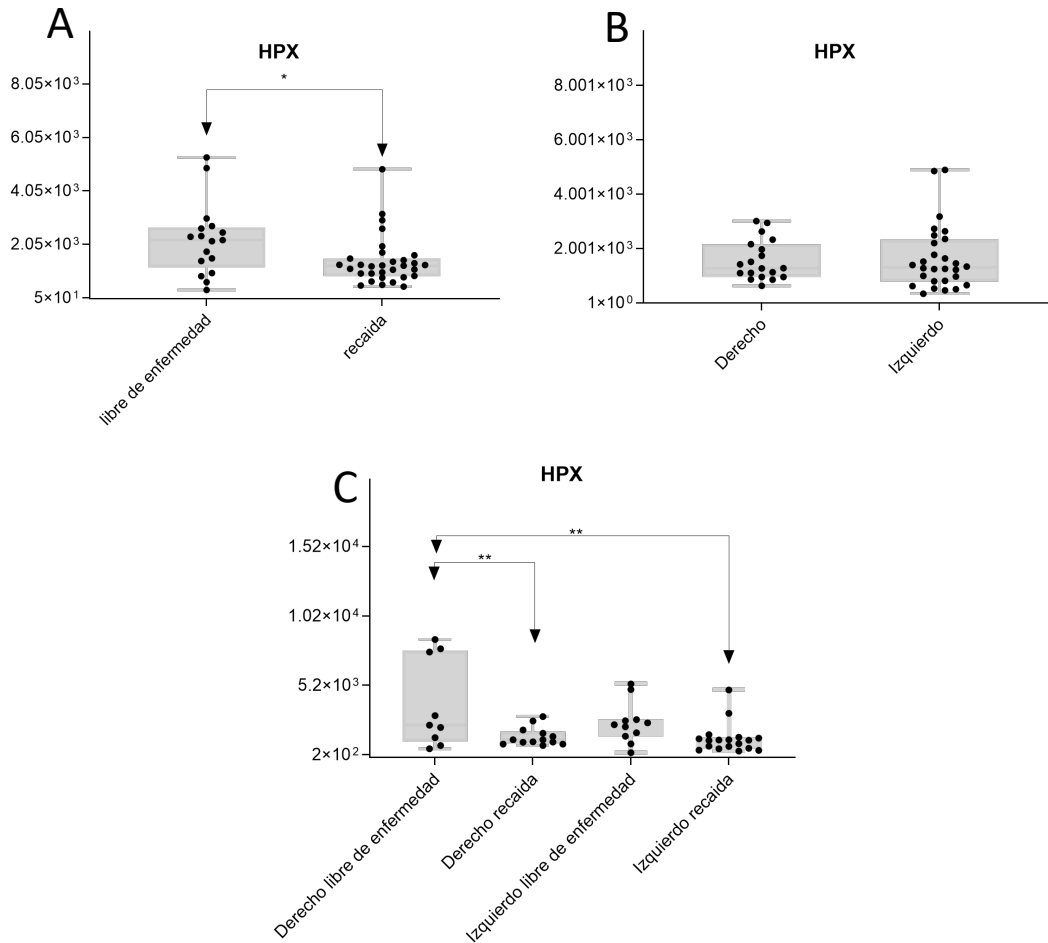
**Figura 91.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína CBR1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

**CLUSTER 6:** El *cluster 6* está formado por proteínas que median fenómenos relacionados con la coagulación.

- HPX:** La hemopexina es una proteína plasmática que en humanos está codificada por el gen *HPX*. Se encarga de transportar y eliminar el grupo hemo del plasma. Varios estudios han analizado el papel de HPX en distintos tumores postulándose como un posible propomotor/supresor tumoral (Fiorito et al, 2022). En este sentido, varios estudios apoyan el papel del grupo hemo como promotor de la carcinogénesis a través de su unión al promotor de *cMyc* y de su acción sobre otros genes clave en la progresión tumoral como *BCL2*, *Wnt* y *TGFb* (Brooks et al, 2010; Canesin et al, 2021) (Figura 92). De esta forma, la hemopexina al eliminar los grupos hemos a nivel plasmático, limitaría la progresión celular (Canesin et al, 2020). Teniendo esto en cuenta, la disminución de la HPX se podría considerar un indicador de mal pronóstico como ocurre en nuestra serie (Figura 93A). En el análisis por lateralidad vemos como existe una tendencia no significativa a una mayor expresión de HPX en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 91B). Al analizar la expresión de HPX teniendo en cuenta la lateralidad y recaída estas diferencias son más marcadas en el lado derecho postulándose como un posible biomarcador en dicha localización (Figura 93C).



**Figura 92.** Representación esquemática del papel del grupo hemo como promotor de la carcinogénesis. Con permiso de Canesin et al, 2021.



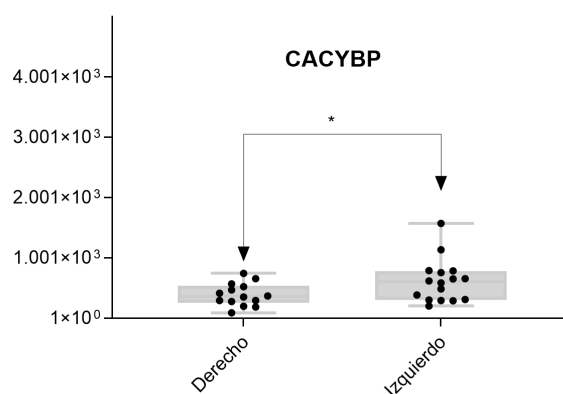
**Figura 93.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HPX a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- HP:** La haptoglobina es una glucoproteína que en humanos está codificada por el gen *HP*. Su función biológica principal radica en su unión no covalente a la hemoglobina libre para formar un complejo que será posteriormente aclarado por el sistema reticuloendotelial y de esta forma evitar el daño renal (Fasano et al, 2011). Un estudio analizó la expresión en suero de esta proteína en pacientes con CC, pólipos y pacientes sanos. Se encontró una mayor concentración de HP en los pacientes con CC y con neoplasias más avanzadas (Niu et al, 2022). En pacientes con hepatocarcinoma, se encontraron datos contradictorios. Se encontró una mayor expresión de HP en los pacientes con hepatocarcinomas con mayor grado de diferenciación y mejor pronóstico (Tai et al, 2017). Sin embargo, teniendo en cuenta su función biológica, es posible que su infraexpresión produzca una acumulación de grupos hemo, posible promotor de la carcinogénesis a través de su unión al promotor de cMyc. En nuestra serie, HP se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída.



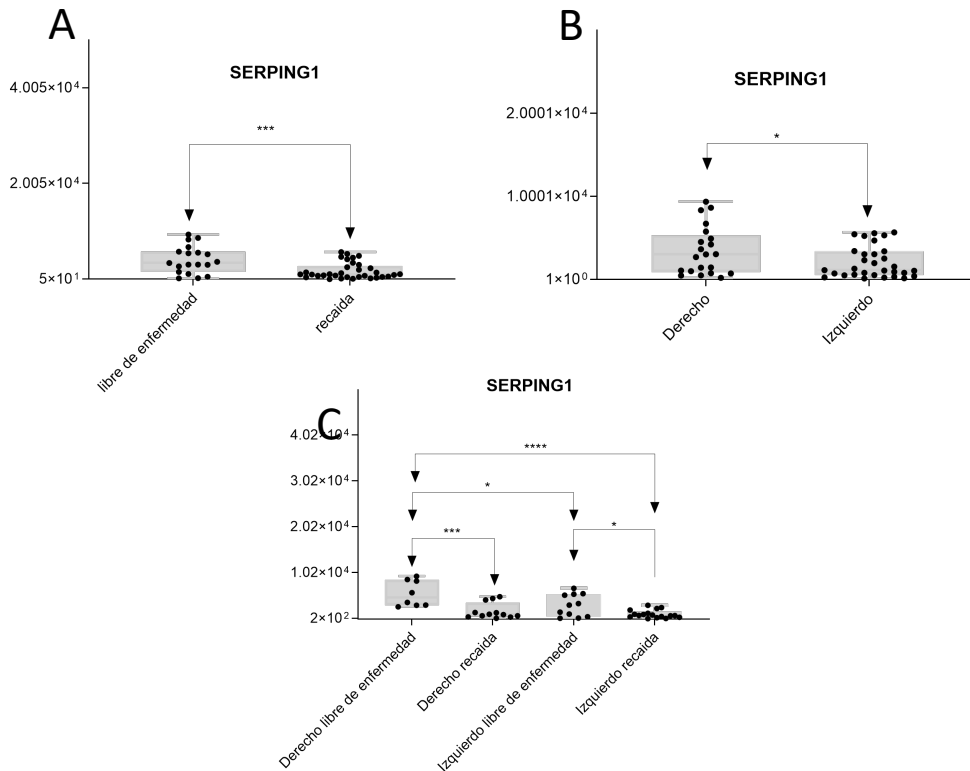
- CIQBP:** La proteína de unión al subcomponente Q mitocondrial es una proteína que en humanos está codificada por el gen *CIQBP*. Es una proteína involucrada en

procesos de inflamación e infección, biogénesis de ribosomas, síntesis de proteínas en mitocondrias, regulación de la apoptosis, regulación transcripcional y splicing de pre-ARNm (Feichtinger et al, 2017). C1QBP se ha visto implicada en fenómenos de progresión tumoral y se ha correlacionado con un peor pronóstico en múltiples tumores a través la regulación del microambiente tumoral y el metabolismo mitocondrial (Wang et al, 2022). En nuestra serie, C1QBP se encontró infraexpresada en los tumores con recaída. Se evaluó su expresión en función de la lateralidad y se objetivo una mayor expresión de C1QBP en los tumores localizados en el lado izquierdo (Figura 94).



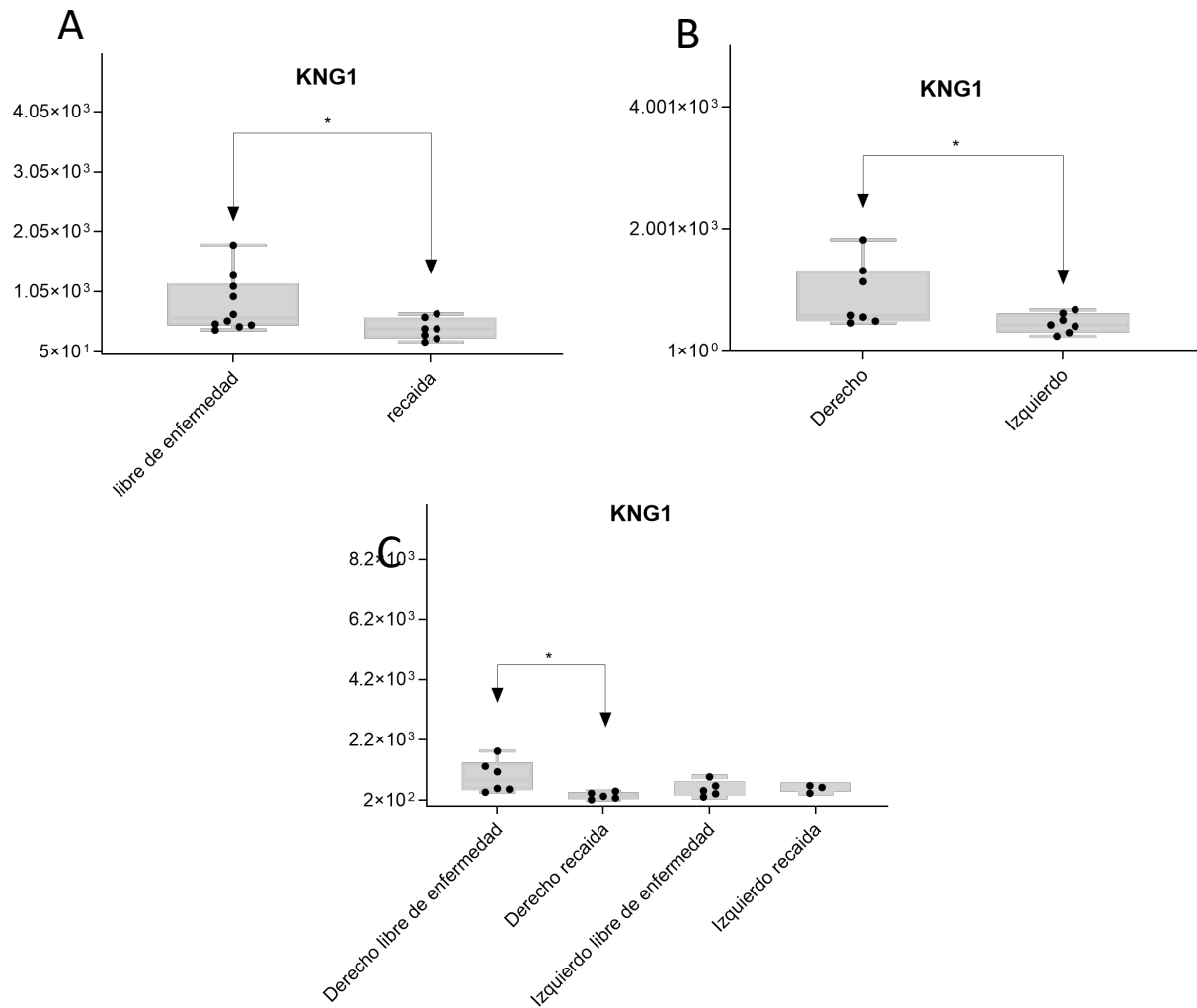
**Figura 94.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína C1QBP a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- SERPING1:** El inhibidor de C1 es un inhibidor de proteasa multiespecífico que en humanos está codificado por el gen *SERPING1*. Tiene un papel clave en la regulación de las enzimas del sistema de complemento, el sistema de coagulación a través del control de su vía intrínseca, el sistema fibrolítico y el sistema formador de quinina (Aulak, et al 1993). Se ha postulado a SERPING1 como promotor y supresor del crecimiento tumoral. Su papel como supresor tumoral es el más establecido a través de promoción de la respuesta inmune antitumoral mediada por la activación del complemento. Sin embargo, la activación del complemento con la generación de anafilatoxinas C5a también promueve la tumorigénesis en condiciones inflamatorias (Madimi et al, 2017). Aunque su actividad en CC no está definida, varios estudios han relacionado una menor expresión de SERPING1 con un peor pronóstico en pacientes con cáncer de próstata (Peng et al, 2018) y carcinoma epidermoide de pulmón (O-Charoenrat et al, 2004). Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en nuestra serie en donde se ha objetivado un mayor riesgo de recaída en los tumores con menor expresión de SERPING1 independientemente de la lateralidad. Además, se objetivó una mayor expresión de SERPING1 en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 95).



**Figura 95.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPING1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- KNG1:** El quinínogeno 1 también conocido como inhibidor de proteinasa alfa-2-tiol, factor de Williams-Fitzgerald-Flaujeac o factor de calicreína HMWK, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *KNG1*. Esta proteína desempeña un papel clave en la vía intrínseca de la coagulación e inhibe la agregación plaquetaria inducida por trombina y plasmina. La sobreexpresión de KNG1 se ha relacionado con una mayor apoptosis de las células endoteliales, menor angiogénesis y menor índice de proliferación celular (Abdullah-Soheimi et al, 2010). Otro estudio relacionó la mayor expresión de KNG1 con la inactivación de PI3K y un aumento de expresión de las caspasas 3 y 9 (Xu et al, 2018). También se ha evaluado el papel de KNG1 como un posible biomarcador de CCR en suero. No se identificaron diferencias en cuanto a la concentración de KNG1 entre los pacientes con adenomas de colon avanzados y CCR. Un subanálisis evaluó la supervivencia de pacientes con CCR en función de los niveles del quinínogeno 1 en sangre sin objetivarse diferencias (Wang et al, 2013). En nuestra serie, KNG1 se encontró infraexpresada en los tumores de peor pronóstico lo que concuerda con los mecanismos descritos en otros tumores. Sin embargo, estas diferencias solo se mantienen significativas en los tumores localizados en el lado derecho, donde además, KNG1 se encuentra más expresada (Figura 96). En nuestra opinión, este es el primer estudio que postula esta proteína como un posible biomarcador en CC localizado en el lado derecho.



**Figura 96.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPING1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

El fibrinógeno es una proteína formada por tres cadenas: la cadena gamma, la cadena alfa y la cadena beta. En nuestra serie, las tres cadenas se encontraron infraexpresadas en los pacientes con recaída de manera significativa. Estas 3 cadenas junto con la antitrombina III forman parte de la vía extrínseca de la coagulación (Figura 98):

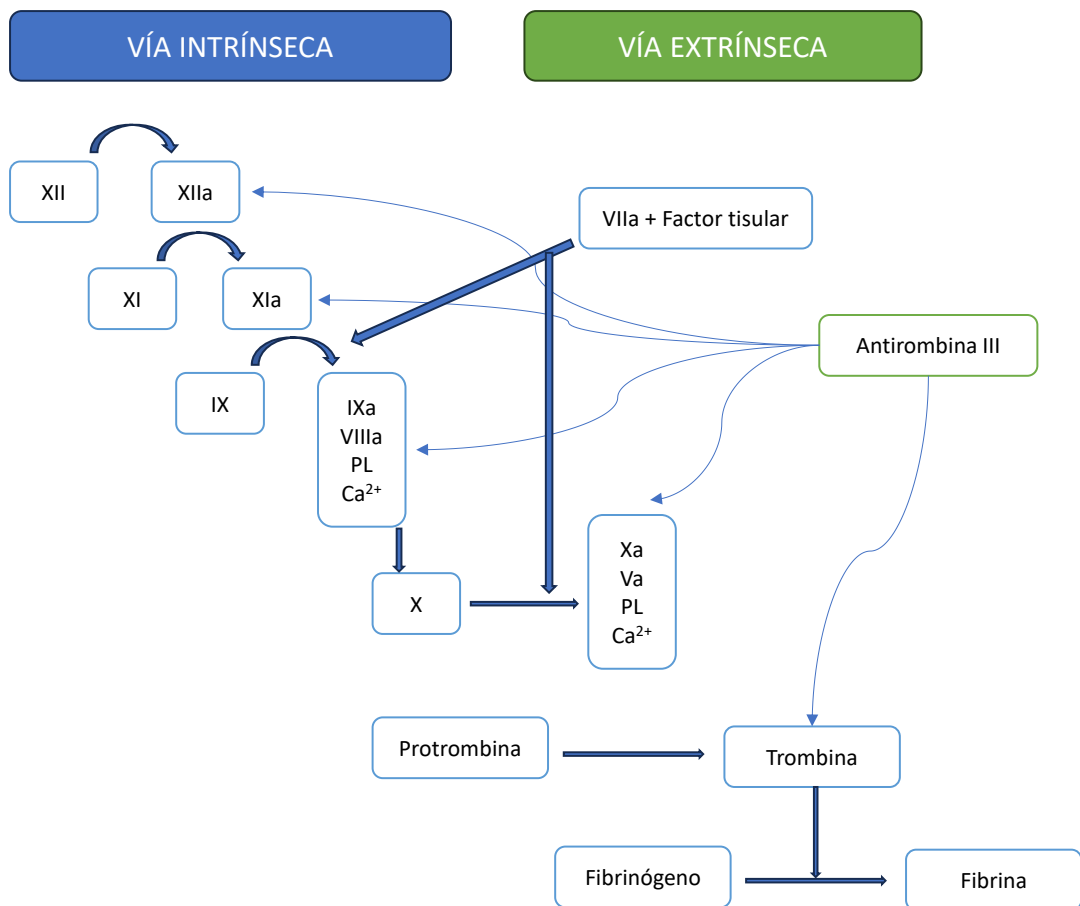
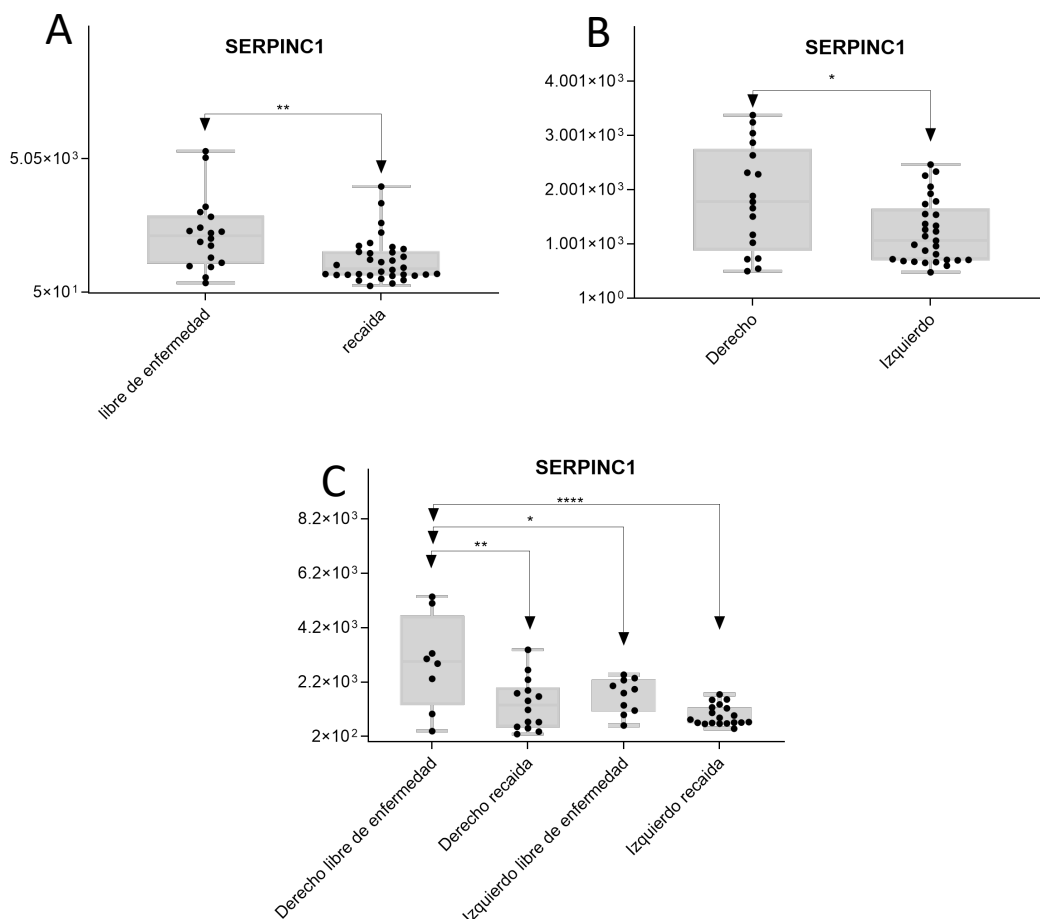


Figura 97. Representación esquemática de la cascada de la coagulación. Elaboración propia.

- FGA:** Un estudio evaluó la expresión plasmática de la cadena alfa del fibrinógeno en paciente sanos, con adenomas y con CCR. Se encontraron unos niveles más elevados de FGA en la sangre de los pacientes con adenomas y de los pacientes con CCR (Zhen et al, 2020) pero no se encontraron diferencias significativas a nivel pronóstico. Otro estudio, analizó la función de FGA en tejidos y líneas celulares de cáncer gástrico; se postuló FGA como un supresor tumoral a través de la inhibición de ITGA5 y de la vía de FAK/ERK (Liu et al, 2022). También se ha analizado su papel en cáncer de pulmón como un posible supresor tumoral a través de su interacción con la vía de AKT-mTOR (Wang et al, 2020). En nuestra serie FGA se encontró infraexpresada en los tumores con recaída.
- FGG:** Se ha relacionado una mayor expresión de la cadena gamma del fibrinógeno con una función inhibidora del crecimiento tumoral. De hecho, estudios realizados in vitro en líneas celulares de CC que secretan fragmentos de fibrinógeno crecen más lentamente (Shi et al, 2009). No hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- FGB:** Un estudio evaluó la concentración de la cadena beta del fibrinógeno en pacientes con cáncer gástrico sin encontrar diferencias significativas en su

concentración en aquellas neoplasias más avanzadas (Repetto et al, 2018). No se ha descrito su asociación con el desarrollo de otras neoplasias ni hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.

- **SERPINC1:** La antitrombina III tiene un papel clave en la cascada de la coagulación a través de su interacción con el factor XIa, Xa, IXa y la trombina. (Szabo et al, 2005; Corral et al, 2004). Su papel como supresor de tumores se ha definido tanto en cáncer de nasofaringe (Xu et al, 2019) como en el hepatocarcinoma. Se ha propuesto a SERPINC1 como un inductor de la apoptosis celular a través de la sobreexpresión de BAX y la inhibición de BCL2 y la survivina. Además, se ha descrito su papel a nivel inmunitario como inhibidor de los macrófagos tipo 2 (Xu et al, 2021). Otro estudio también describió una menor expresión de SERPINC1 asociada a mayor riesgo de metástasis hepáticas en pacientes con CC (Kumar et al, 1978). Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en nuestra serie. Se objetivó una menor expresión de SERPINC1 en los tumores con recaída y en los tumores de lado derecho en donde las diferencias eran más significativas (Figura 98).



**Figura 98.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPINC1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- F9:** El factor IX es una proteína plasmática dependiente de la vitamina K que participa en la vía intrínseca de la coagulación sanguínea al convertir el factor X a su forma activa en presencia de iones  $\text{Ca}^{2+}$ , fosfolípidos y factor VIIIa (Rawala-Sheikh et al, 1992). El papel de F9 más allá de su participación en la coagulación no está claro. Un artículo postuló F9 como un posible punto de control de la migración y adhesión celular en experimentos in vitro. La activación de la cascada de la coagulación y por lo tanto, su paso a una forma activa, promovería la migración celular y disminuiría la adhesión celular (Kitano et al, 2015). En nuestra serie F9 se encontró infraexpresada en los pacientes con recaída. Sin embargo, no hemos encontrado una explicación en la literatura que justifique esta asociación.
- APOH:** La  $\beta 2\text{GPI}$  es una proteína única capaz de regular las cascadas tanto del complemento como de la coagulación (McDonnell et al, 2020). Algunos estudios han demostrado que la  $\beta 2\text{-GPI}$  suprime la migración y proliferación de células endoteliales, así como la angiogénesis inducida por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a través de la vía de señalización VEGFR2/ERK/Akt/eNOS (Chiu et al, 2016; Sun et al, 2021). De hecho, un estudio realizado en tejidos de tumores de cáncer de mama mostró una correlación negativa de APOH con la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión (Lee et al, 2023). En nuestra serie APOH se encontró infraexpresada en los tumores con recaída independientemente de la lateralidad y sobreexpresada en los tumores localizados en el lado derecho (Figura 99). Esto concuerda con los datos de la literatura y lo postula como un posible biomarcador.

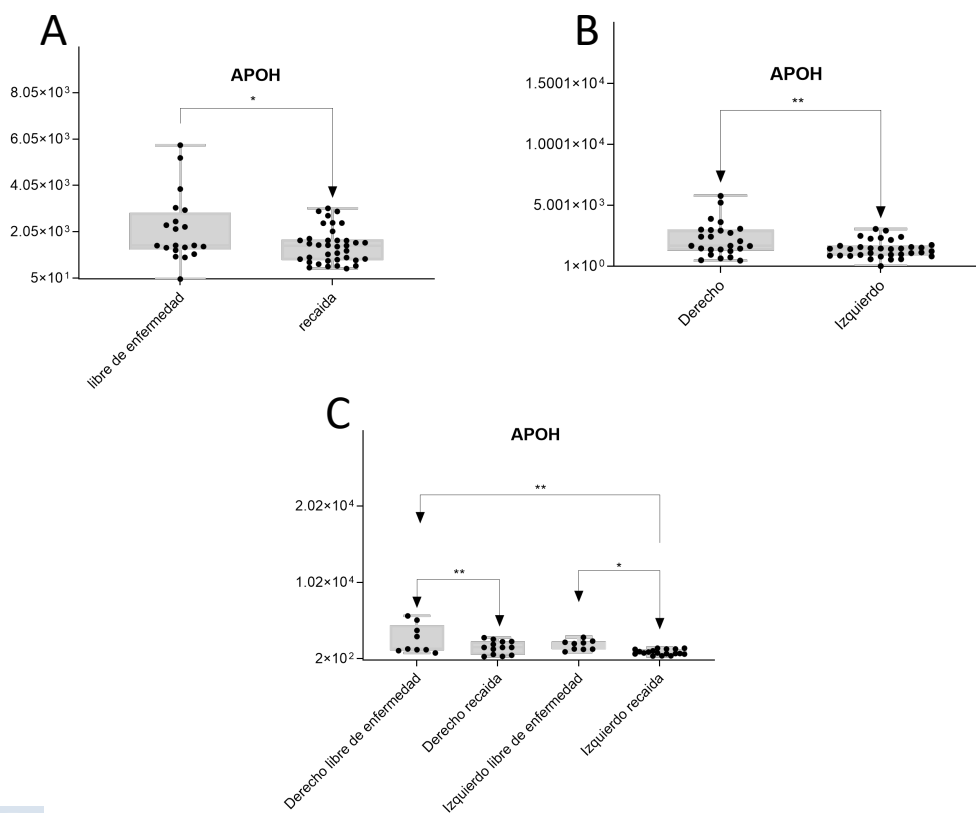


Figura 99. Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína APOH a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.

- **APOB:** La apolipoproteína B, también llamada ApoB, es una proteína que tiene una importante función en el metabolismo de los lípidos. Apo B-100 funciona como una señal de reconocimiento para la unión celular y la internalización de partículas de LDL por el receptor apoB/E. Aunque se ha postulado el incremento de expresión de APOB con un aumento de riesgo de desarrollo de CCR (Kudriavtseva et al, 1979), un estudio prospectivo durante 10 años no encontró una asociación entre APOB y el riesgo de CCR tras ajustar los resultados en función de IMC de los pacientes (Fang et al, 2021). Otro estudio objetivó niveles inferiores de APOB en suero de pacientes con CCR frente a los controles sanos (Al-Sakkaf et al, 1989). En nuestra serie, los pacientes con recaída tenían niveles inferiores de APOB. Sin embargo, no se han recogido los datos de IMC para determinar si existe un sesgo de asociación.

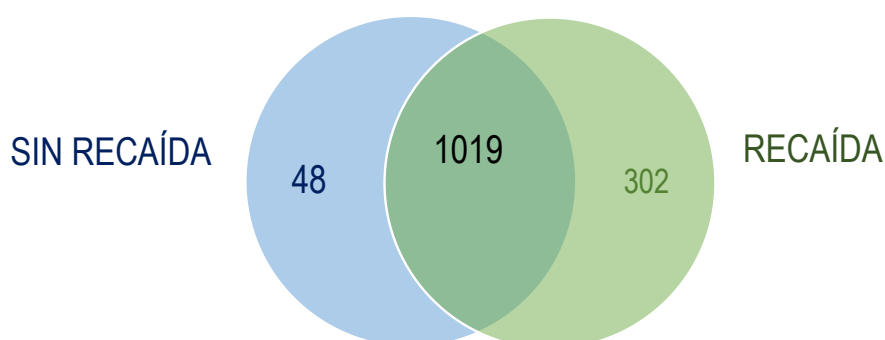
**Tabla 25. Resumen del análisis de las proteínas significativamente infraexpresadas en el grupo *Recaída***

<i>Cluster</i>	Proteínas	Principales funciones biológicas
<i>Cluster 1</i>	EEF1D, EEF1G, EEF2, TUMF, FAU, RPL10A, RPL14, RPL35, RPS17, RPL4, RPS11, RPS3, RPS13, RPS23, RACK1, EIF4A1, EIF2S1, EIF3B, ATP5F1C, ATP5F1B, MT-ATP6	Síntesis proteica
<i>Cluster 2</i>	TKT, ALDOC, LDHA, C8G, C9, GSTO1, PRDX6, GSS	Metabolismo de las células tumorales y activación del complemento.
<i>Cluster 3</i>	HMGCS2, ACAA2, ACADVL, MPO, AZU1, CTSG, A2M, HSPA5, HSPA8, HSP90AB1, HSP90AA1, HSP90B1, DDOST, RPN1, KHSRP, HNRP1, ENO1	Regulación del sistema inmune, beta-oxidación mitocondrial y plegamiento y procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático.
<i>Cluster 4</i>	TARS1, EPRS1, FARSB, QARS1, COPB2, COPA, COPB1, ARF1, SLC25A5, CYCS	Catálisis del ARNt, transporte, formación y eliminación de vesículas en el aparato de Golgi, respiración mitocondrial y muerte celular programada.
<i>Cluster 5</i>	DHX9, PARP1, DDX39B, H4C6, XRCC5, AKR1A1, CBR1 y ALDH2	Procesamiento del ARN y oxidación del alcohol.
<i>Cluster 6</i>	SERPING1, C1QBP, KNG1, FGG, FGA, FGB, SERPINC1, APOH, APOB, F9, HP y HPX	Coagulación

*En negrita se resaltan aquellas proteínas que se postulan como posibles biomarcadores.*

## 4.2. Análisis cualitativo

Se realizó un análisis cualitativo para evaluar la expresión diferencial de las proteínas en los 2 grupos analizados mediante Scaffold. Se compararon las 1067 proteínas identificadas con menos del 1% de error (FDR<1%) en el grupo *Sin recaída* con las 1321 proteínas obtenidas en el grupo *Recaída* (Figura 100) con menos del 1% de error (FDR<1%). Los resultados mostraron 1019 proteínas comunes en ambos grupos, donde 48 proteínas son exclusivas del grupo *Sin recaída* y 302 del grupo *Recaída*.



**Figura 100.** Diagrama de Venn que compara las proteínas expresadas diferencialmente de forma significativas ( $p > 0.05$  y FC  $> 1.5$ ) entre los grupos *Recaída* y *Sin recaída*.

El análisis funcional de las proteínas exclusivas del grupo *Recaída* y *sin Recaída* mostró procesos biológicos y funciones moleculares alteradas (Figura 100). Entre los procesos biológicos (Figura 101-A) en los que más participan las 302 proteínas exclusivas de *recaída* se encuentra la división y adhesión celular, regulación de la transcripción del DNA y transporte de glucosa, entre otras. Sin embargo, en el grupo de 48 proteínas exclusivas de *sin recaída* encontramos proteínas relacionadas con la respuesta inmune y la vía de MAPK. De igual forma, el análisis de las funciones moleculares (Figura 101-B) mostró que en el grupo de *recaída* las proteínas están relacionadas con la transcripción y unión a ATP, mientras que en el grupo *sin recaída* las proteínas que participan principalmente en la unión a iones como el calcio y al RNA.

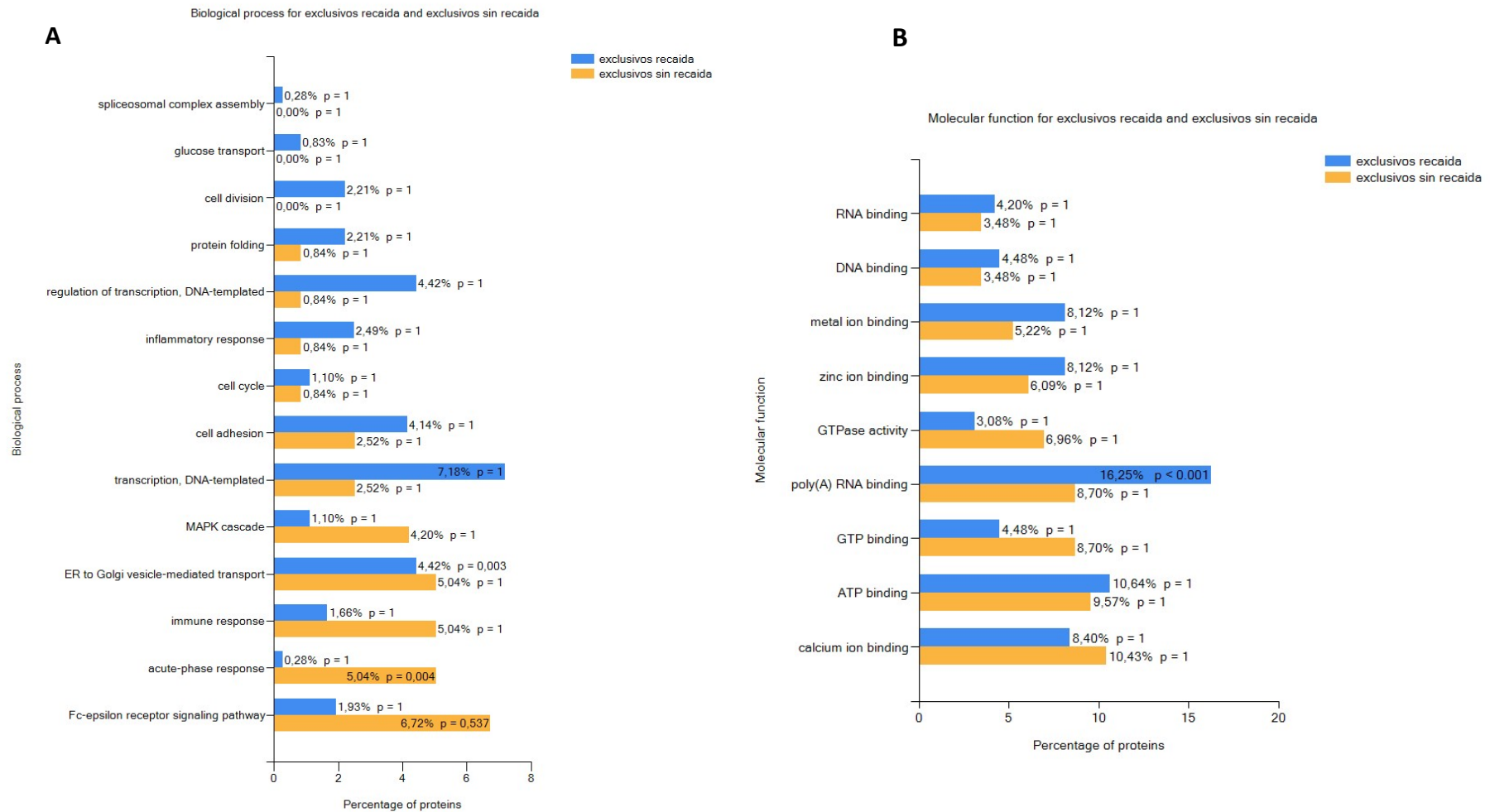
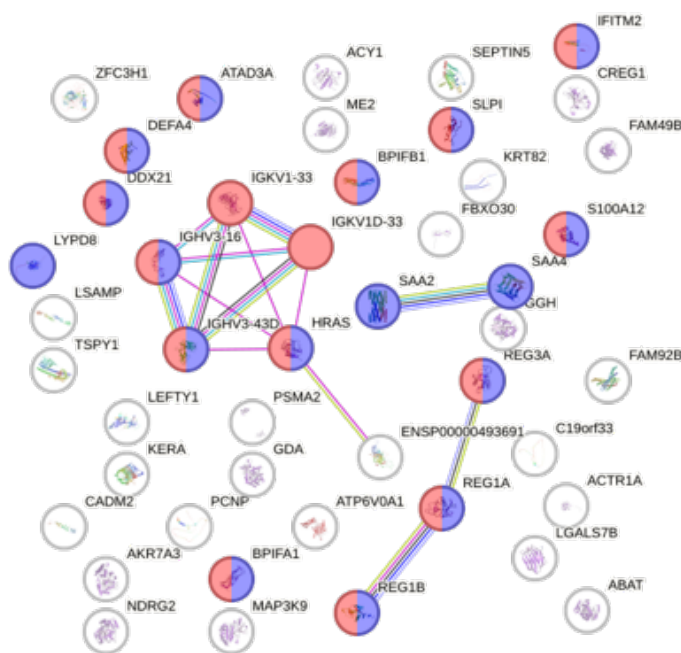


Figura 101. Analisis funcional de los procesos biológicos más alterados en ambos grupos de proteínas encontradas exclusivamente en el grupo de Recaída y Sin Recaída (FunRich) (A). Analisis funcional de las funciones moleculares más alterados en ambos grupos de proteínas encontradas en el grupo de Recaída y Sin Recaída (FunRich) (B).

### 4.2.1. Grupo sin recaída

Se encontraron 48 proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Sin Recaída*. Estas proteínas fueron: ZC3H1, KERA, M3K9, LFTY1, CREG1, AKR7A3, HRAS, SLPI, IGKV1-33, REG1A, REG1B, GSTM1, SAA2, DEFA4, ME2, PSMA2, SAA4, LGALS7, SLC6A8, BPIFB4, ACTR1A, ABAT, S100A12, TSPY1, IFITM2, ACY1, REG3A, LSAMP, RTN1, LYPD8, CIBAR2, CADM2, FBXO30, BPIFB1, PCNP, GGH, ATP6V0A1 SEPTIN5, IMUP, BPIFA1, DDX21, KRT82, CYRIB, ATAD3A, Capsid protein, DUX4, NDRG2 y GDA.

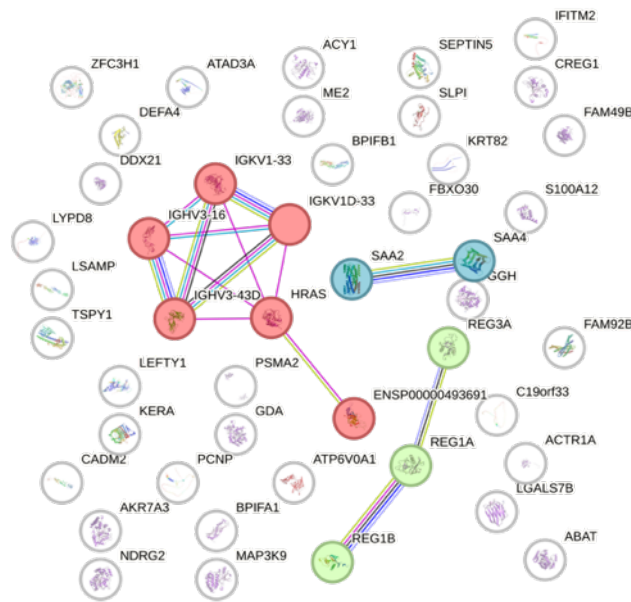
Mediante el software STRING se evaluaron las interacciones proteicas de las 48 proteínas detectadas de manera exclusiva en el grupo *Sin recaída* con un intervalo de confianza de 0,9 (Figura 102). Se evidenció que la mayor parte de las proteínas en este grupo tienen funciones relacionadas con la respuesta inmune.



PROCESO BIOLÓGICO	FUERZA	FALSE DISCOVERY RATE
● Mecanismo de defensa	0.72	5.47e-05
● Respuesta inmune	0.71	5.47e-05

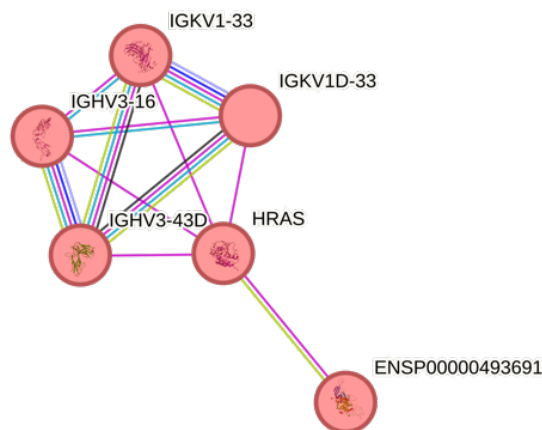
**Figura 102.** Representación de interacciones de las 48 proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes Sin recaída obtenida mediante String. En la tabla se muestran los principales procesos biológicos identificados.

En el análisis se encontraron 3 *clusters* principales e independientes entre sí, que se discutirán a continuación (Figura 103).



**Figura 103.** Representación de interacciones de las proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes Sin recaída obtenida mediante la base de datos String, destacando los 3 *clusters* principales.

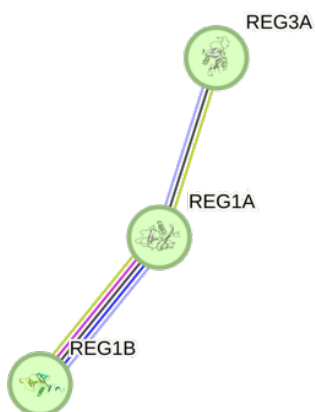
**CLUSTER 1:** El *cluster* 1 es el más grande de todos y está formado por las proteínas IGKV1-33, IGKV1D-33, IGHV3-16, HRAS, IGHV-43D y ENSP00000493691 (proteína no caracterizada) (Figura 104). Las proteínas que forman este kappa de la inmunoglobulina o la IGV1-33 está codificada por el gen *IGKV1* y son en su mayoría inmunoglobulinas que regulan la respuesta inmune adaptativa. La región variable 1-33 de la cadena -33 cuya función es el reconocimiento de antígenos (Lefranc, 2014). Esta proteína ha sido evaluada como posible biomarcador pronóstico aunque su papel en el CC no está claro (Miao et al, 2020; Lin et al, 2020).



**Figura 104.** Representación de las interacciones de las proteínas del *cluster* 1 obtenida mediante la base de datos String.

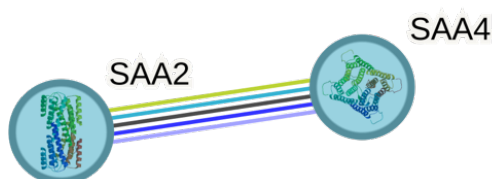
**CLUSTER 2:** Este *cluster* está formado por 3 proteínas: REG1A o litostatina-1-alfa, REG1B o litostatina-1-beta y REG3A o proteína 3 alfa regeneradora derivada de los islotes (Figura 102). Zheng et al. relacionaron los altos niveles de estas proteínas con una menor invasión vascular y

linfática tumoral en CC (Zheng et al, 2011). Otro estudio realizado en cáncer gástrico describe el papel supresor tumoral de REG3A a través de su interacción con DMBT1 (Wag et al, 2021). Sin embargo, su mecanismo de acción en CC no está claro y en otros estudios se han postulado como posibles oncoproteínas (Liu et al, 2015; Minamiya et al, 2008).



**Figura 105.** Representación de las interacciones de las proteínas del *cluster 2* obtenida mediante la base de datos String.

**CLUSTER 3:** Este *cluster* está constituido por las proteínas SAA2 y SAA4 que muestran una fuerte interacción entre ellas (Figura 106). Se trata de lipoproteínas de alta densidad que actúan como reactantes de fase aguda. Se han descrito niveles más altos de SAA2 en el plasma de individuos con cáncer de pulmón frente a individuos sanos (Sung et al, 2011). No hemos encontrado en la literatura datos que permitan establecer su papel como posibles biomarcadores.



**Figura 106.** Representación de las interacciones de las proteínas del *cluster 3* obtenida mediante la base de datos String.

**OTRAS PROTEÍNAS:** Adicionalmente se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva de las proteínas identificadas en este subgrupo más allá de los *clusters* ya descritos. A continuación, se presentan las proteínas más relevantes y que podrían considerarse posibles biomarcadores de riesgo de recidiva.

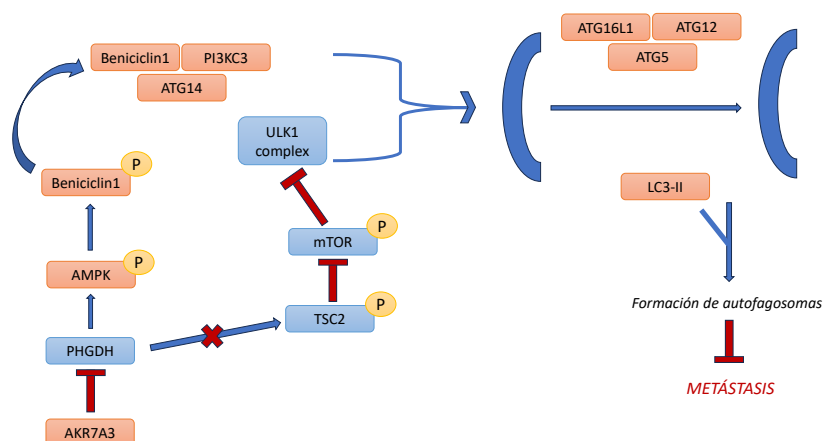


- **M3K9:** La proteína quinasa quinasa quinasa 9 activada por mitógeno es una enzima que en humanos está codificada por el gen *MAP3K9*. La familia de las quinasas

activadas por mitógeno o MAPK, está formada por un grupo de proteínas que participan en la señalización intracelular y están involucradas en procesos de proliferación, diferenciación celular, migración y apoptosis (Imajo et al, 2006; Slattery et al, 2012). La señalización intracelular a través de la vía de las MAPK tiene un papel fundamental en el desarrollo de CC (Urosevic et al, 2014). Sin embargo, esta vía incluye muchas proteínas y cada una de ellas tiene diferentes funciones. En el caso de M3K9, un estudio analizó las implicaciones de las diferentes variantes alélicas del gen así como de los SNPs en el CC. Tres SNPs identificados en el gen MAP3K9 (rs11625206, rs11628333 and rs11844774) se han correlacionado con el desarrollo de CC y con fenotipo CIMP + y MSI. Además, se han identificado variantes alélicas del gen que codifica esta proteína asociadas a un menor riesgo de muerte por CC (Slattery et al, 2012). Estos hallazgos son coherentes con la utilización de esa proteína como un posible biomarcador.

- **AKR7A3:** El miembro A3 de la familia 7 de la aldoceto reductasa es una proteína que en humanos está codificada por el gen *AKR7A3*. Aunque no se ha encontrado en la literatura una correlación entre la expresión de esta proteína con el desarrollo de CC, sí se han analizado sus implicaciones en el desarrollo y progresión en otros tumores como el cáncer de páncreas, hepatocarcinoma o el cáncer de mama (Bodreddigari et al, 2008; Zhao et al, 2024). Se han postulado 2 mecanismos a través de los cuales AKR7A3 podría actuar como un supresor tumoral mediante:
  - 1) la inhibición de las vías de señalización mediadas a través de ERK, c-Jun y NF- $\kappa$ B (Chow et al, 2016).
  - 2) y la inhibición de PHGDH que forma parte de la vía AMPK-Beclin1 implicada en la regulación de la autofagia (Hua et al, 2023) (Figura 108).

- 1) la inhibición de las vías de señalización mediadas a través de ERK, c-Jun y NF- $\kappa$ B (Chow et al, 2016).
- 2) y la inhibición de PHGDH que forma parte de la vía AMPK-Beclin1 implicada en la regulación de la autofagia (Hua et al, 2023) (Figura 108).



**Figura 107.** Diagrama esquemático que representa el mecanismo por el cual *AKR7A3* promueve la metástasis de células de adenocarcinoma ductal pancreático a través de la diana 3-fosfoglicerato deshidrogenasa de la autofagia mediada por la vía AMPK-Beclin1. Elaboración propia.

Esta proteína se produce a nivel del epitelio intestinal sano y se encarga del mantenimiento de la homeostasis intestinal mediante el control de la respuesta inmune inflamatoria (Menckeberg et al, 2015). Un estudio reciente de Nugteren et al. evaluó la expresión de esta proteína en CC localizado y sus implicaciones pronósticas. La expresión de esta proteína en pacientes con CC estadio III y MSS se asoció a una mayor supervivencia libre de enfermedad en aquellos pacientes que habían recibido quimioterapia (Nugteren et al, 2022). Estos hallazgos no se confirmaron en los pacientes MSI ni en aquellos en los que no habían recibido un tratamiento adyuvante (Nugteren et al, 2022). En este caso, se ha postulado la posible inhibición de NF- $\kappa$ B como posible mecanismo de acción en dicho subgrupo (Rosso et al, 2014). Otro estudio realizado en hepatocarcinoma, correlacionó altos niveles de SLPI con una mayor supervivencia a través de la activación de apoptosis mediada por sensores del estrés de retículo endoplásmico (Nugteren et al, 2022). Teniendo en cuenta estos datos, podemos proponer a SLPI como un posible biomarcador.

- **GSTM1:** La glutatión S-transferasa Mu 1 es una glutatión S-transferasa humana que está implicada en procesos de protección contra el estrés oxidativo producida por sustancias como las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Strange et al, 2001). Las ROS tienen un papel fundamental en el daño celular que promueve el desarrollo tumoral (Prasad et al, 2017). Esta proteína suele estar infraexpresada en los CC y su expresión se ha correlacionado con un mayor infiltrado por células inmunitarias, lo que también se ha asociado con un mejor pronóstico (Luo et al, 2022). Además, un metaanálisis reciente correlacionó el genotipo nulo de GSTM1 con un incremento de riesgo de desarrollar CC (Song et al, 2020). Todo ello, postula GSTM1 no solo como un posible biomarcador pronóstico sino también como predictor de respuesta a inmunoterapia.
- **Galectin-7:** La galectina-7 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *LGALS7*. Las galectinas son una familia de proteínas de unión a beta-galactósidos implicadas en la modulación de las interacciones célula-célula y célula-matriz. Se ha correlacionado la expresión de galectina-7 mediada a través de la inhibición de EHMT2 con un mecanismo modulador de la inmunidad en CCR MSS. Sun et al. demostraron que el aumento de galectina-7, a través de la inhibición de EHMT2, era capaz de transformar un microambiente tumoral inmunosupresor en un microambiente inflamado y con marcado infiltrado linfocitario T similar al detectado en pacientes con CC MSI (Sun et al, 2024). Además, también se ha postulado como una proteína proapoptótica (Kuwabara et al, 2002). Un estudio realizado en líneas celulares de CC mostró que la galectina-7 producía un crecimiento más lento de las células tumorales (Ueda et al, 2004). Estos hallazgos postulan la proteína galectina-7 no sólo como un biomarcador de buen pronóstico en CC localizado sino también como un posible marcador de respuesta a inmunoterapia.

- ABAT:** La 4-aminobutirato aminotransferasa o GABA-T es una enzima que cataliza el paso de 4-aminobutirato (GABA) + 2-oxoglutarato a succinato semialdehído + L-glutamato (Figura 108). Esta proteína participa en la regulación de múltiples vías metabólicas. Aunque se desconoce su papel en el CC, se ha postulado como un posible supresor tumoral en otros tumores. Así, en el cáncer de mama de subtipo basal, la ausencia de expresión de ABAT se ha asociado a un comportamiento más agresivo a través de la activación de la vía  $\text{Ca}^{2+}$ -NFAT1 mediada por GABA (Chen et al, 2019). También se ha correlacionado su ausencia o baja expresión, junto con la proteína ALDH6A1 en el carcinoma renal de células claras con un peor pronóstico y una mayor agresividad tumoral (Lu et al, 2020) Su presencia de manera exclusiva en este subgrupo postula a GABA-T como un posible biomarcador de buen pronóstico.

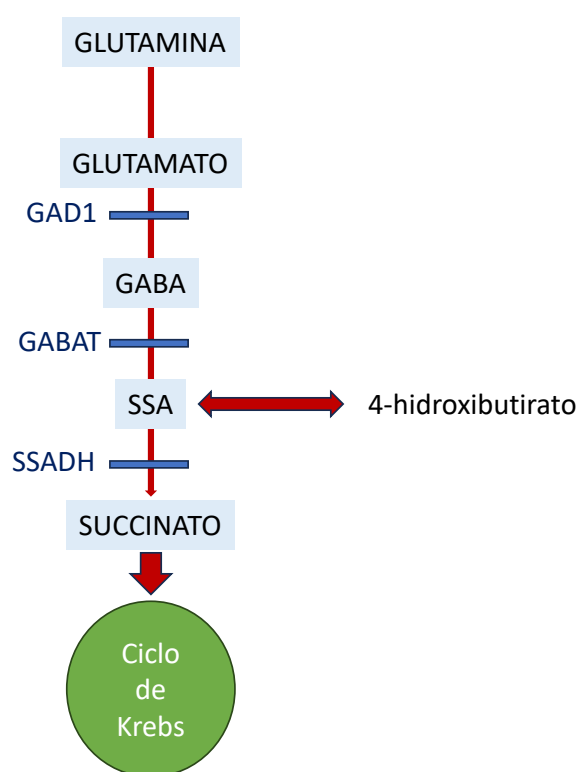


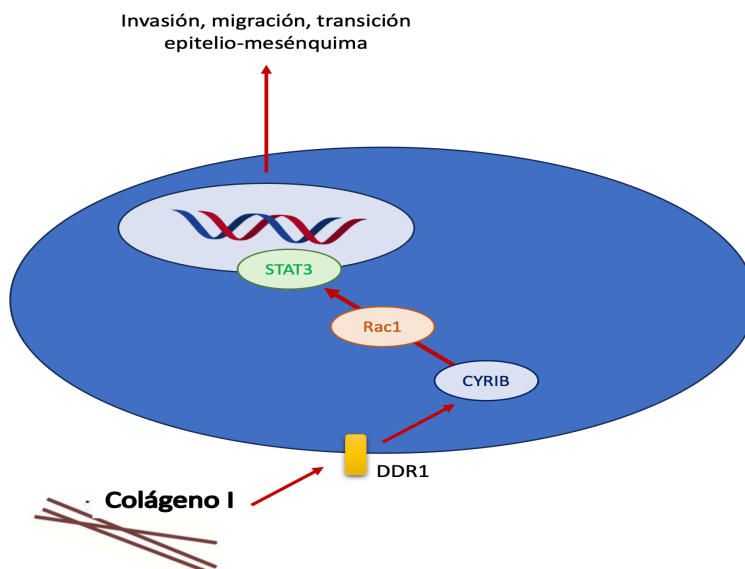
Figura 108. Representación del metabolismo del GABA. Elaboración propia.

- LSAMP:** La proteína de membrana asociada al sistema límbico está implicada en el desarrollo axonal y remodelación de los circuitos maduros del sistema límbico. Se ha propuesto como una proteína con actividad supresora tumoral en el cáncer de ovario, cáncer de pulmón y osteosarcoma, en los que la ausencia o baja expresión de esta proteína en el tejido se ha correlacionado con tumores más agresivos y estadios más avanzados (Chang et al, 2021; Barøy et al, 2014). Un estudio de Xu et al. sobre el papel de LSAMP en cáncer de colon detectó que la expresión de LSAMP aumenta la sensibilidad de las células tumorales del CCR a los linfocitos T CD8<sup>+</sup> a través de la inhibición de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina. De hecho, su alta expresión se correlacionó con una menor incidencia de afectación ganglionar (Xu et al, 2023).

- **RTN1:** Reticulon-1 también conocida como proteína neuroendocrina específica (NSP) es una proteína que en los humanos está codificada por el gen *RTN1*. Varios estudios han descrito su actividad pro-apoptótica a través de la inducción de estrés sobre el retículo endoplásmico (Fan et al, 2015; Fazi et al, 2009). Un estudio realizado en tejido tumoral de pacientes con adenocarcinoma de pulmón, apoya su papel como supresor tumoral y relaciona su expresión con un mejor pronóstico y un mayor infiltrado inflamatorio (Zhu et al, 2022). El análisis comparativo de la expresión génica diferencial entre tejido con CC y tejido colónico sano realizado por Lemire et al. evidenció una expresión significativamente más elevada en el tejido sano frente a las células tumorales (Lemire et al, 2015).
- **LYPD8:** La proteína 8 que contiene el dominio Ly6/PLAUR se encarga de prevenir la invasión por bacterias Gram negativas de la mucosa del epitelio del colon inhibiendo su motilidad (Okumura et al, 2020). En este sentido, un estudio evaluó las alteraciones producidas en tejido colónico de ratones *LYPD8<sup>-/-</sup>* y evidenció un mayor riesgo de colitis por un mecanismo de alteración de la homeostasis colónica y en consecuencia un mayor riesgo de desarrollo de tumores (Okumura et al, 2020). Xu et al. evaluaron la expresión de esta proteína en tejido de cáncer de colon humano comparado con el tejido sano y teniendo en cuenta el estadiaje tumoral. Los autores observaron una menor expresión de *LYPD8* en tejido tumoral y estadios metastásicos frente al tejido sano o estadios más precoces. Según los autores, *LYPD8* ejerce un control sobre la proliferación y migración de las células tumorales a través de la inhibición de la secreción de IL6 y TNF alfa (Xu et al, 2021).
- **CADM2:** Se trata de una proteína que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y que está implicada en fenómenos de agregación celular. Un estudio de Wang et al. evaluó el papel de *SADM2* en CC (Wang et al, 2022). Esta proteína se encuentra infraexpresada en tejidos de CC, cáncer de esófago, cáncer renal y otros tumores por lo que se considera un supresor tumoral (Shen et al, 2020; Wang et al, 2022; He et al, 2013). En tumores gliales su mecanismo de acción se ha asociado con la alteración de otras proteínas relacionadas con la transición del epitelio-mesénquima (Liu et al, 2019). Dado que en nuestra serie su expresión se asocia de manera exclusiva a los tumores de los pacientes libres de enfermedad a los 5 años, hace que postulemos a *CADM2* como un posible biomarcador de recaída.
- **FBXO30:** Esta proteína actúa como un supresor de tumores y está implicada en la regulación intracelular de múltiples sustratos a través de su ubiquitinación (Tekcham et al, 2020). Un estudio en tejido de carcinoma renal de células claras ha demostrado que *FBXO30* promueve la degradación HIF 1-alfa a través de la vía ubiquitina-proteosoma y como consecuencia es capaz de inhibir la progresión tumoral (Yuan et al, 2023). Además, la metilación del gen que codifica esta proteína determinada por biopsia líquida en pacientes con cáncer de próstata se ha asociado

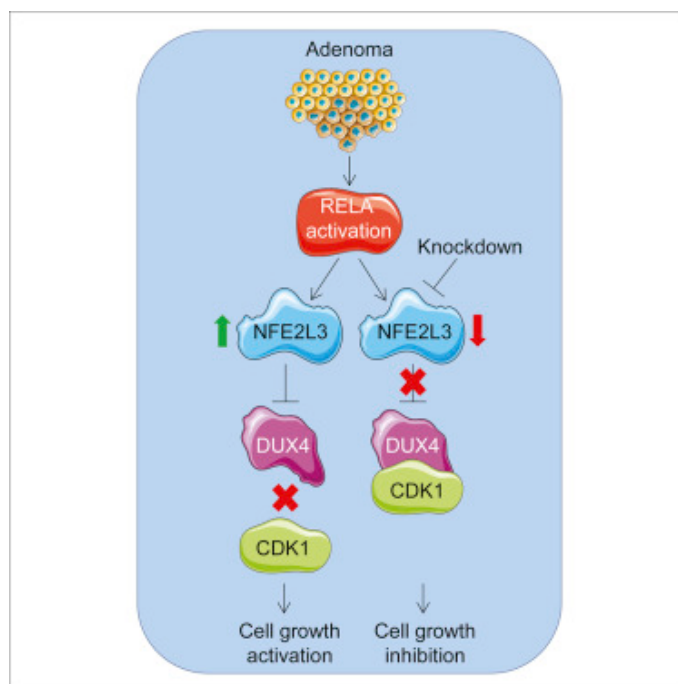
con neoplasias más agresivas y una menor supervivencia (Yuan et al, 2023). No hemos encontrado datos publicados en este sentido en CC. Sin embargo, los datos aportados de otros tumores postulan a FBXO30 como un posible biomarcador.

- **GGH:** La gamma-glutamyl hidrolasa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *GGH*. Un estudio sobre 264 muestras de CC analizó las diferencias entre los distintos subtipos metabólicos de CC (quiescente, glucolítico, colesterogénico y mixto). GGH estaba sobreexpresada en los CC y su mayor expresión se ha correlacionado con un mayor infiltrado linfocitario T CD4+ y una mayor SG. Además, su aumento de expresión en líneas celulares de CC se ha relacionado con una disminución del lactato y ATP intracelular a través de la inhibición de proteínas implicadas en la glucólisis como PKM, GLUT1 y LDHA (Chen et al, 2022). Por otra parte, algunos estudios han correlacionado una sobreexpresión de GGH con una menor quimiosensibilidad, por lo que es posible que estos pacientes no se beneficiasen de un tratamiento adyuvante con 5 fluoracilo (Kim et al, 2013).
- **ATP6V0A1:** La subunidad alfa isoforma 1 de la ATPasa de protones de tipo V de 116 kDa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *ATP6V0A1*. Esta proteína es miembro de las H<sup>+</sup>-ATP asas vacuolares cuya función es la acidificación de orgánulos intracelulares. Un estudio de Antonacopoulou et al. evaluó la expresión diferencial del mRNA de ATP6V0A1 entre el tejido de colon normal y el tejido tumoral, determinando que la mayor expresión de ATP6V0A1 se asoció con un aumento de la supervivencia a los 3 años (Antonacopoulou et al, 2008). Estos mismos resultados se han objetivado en casos de carcinoma epidermoide de esófago (Zhao et al, 2022).
- **CYRIB:** Se trata de una proteína encargada de la regulación negativa de RAC1 y la remodelación del citoesqueleto (Fort et al, 2018). Tras evaluar los niveles de esta proteína en líneas celulares de cáncer gástrico se encontraron niveles muy bajos de CYRIB en estos tumores. De hecho, su ausencia se asoció a la activación de la vía RAC1-STAT3, promoviendo la migración tumoral, fenómenos de invasión y la transición epitelio-mesénquima (Liu et al, 2023) (Figura 109). No hemos encontrado datos sobre sus implicaciones en CC.



**Figura 109.** Representación esquemática del mecanismo de acción de CYRIB y su interacción con la vía RAC1-STAT3. Elaboración propia.

- **DUX4:** DUX4 es una proteína que actúa como inhibidor directo de CDK1 inhibiendo la proliferación celular. Bury et al. evaluaron el papel de esta proteína y su correlación con NFE2L3 en la proliferación celular. NFE2L3 es un factor de transcripción regulado por RELA. Su sobreexpresión produce la inhibición de DUX4 y promueve la progresión tumoral (Figura 110). La sobreexpresión de NFE2L3 es características de los CC sin embargo, vemos que en nuestra serie DUX4 se encuentra expresada de manera exclusiva en el grupo *Sin recaída*, lo que apoya su función como posible supresor tumoral y postula a DUX4 como biomarcador (Bury et al, 2019). No hemos encontrado otros datos acerca del papel de esta proteína en CC.



**Figura 110.** Representación de gráfica del mecanismo de acción de DUX4 tomada con permiso de Canesin et al, 2021.

- NDRG2:** La proteína NDRG2 se considera un supresor tumoral. Su mecanismo de acción se ha relacionado con la regulación de la proliferación celular, fenómenos de transición epitelio-mesénquima y control metabólico (Kim et al, 2021). En el CC, NDRG2 controla la dediferenciación y la progresión de las células tumorales a través de la inhibición de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina. Diferentes estudios han evaluado la correlación que existe entre esta proteína y la expresión de E-cadherina en tejidos de CC. NDRG2 suprime la translocación nuclear de  $\beta$ -catenina y bloquea la actividad transcripcional del complejo  $\beta$ -catenina/TCF/LEF en el promotor Skp2, lo que a su vez aumenta la estabilidad y los niveles de expresión de p21 y p27 a través de la supresión de Skp2 (Figura 111) (Shen et al, 2018; Kim et al, 2013). Por lo tanto, la alta expresión de NDRG2 se ha correlacionado con una mayor supervivencia y estadios más precoces (Chen et al, 2019).

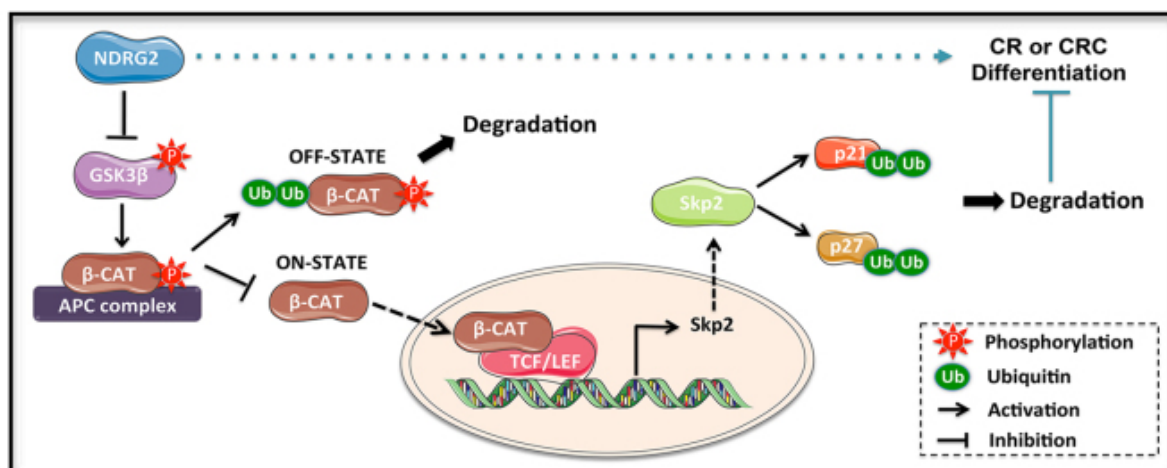


Figura 111. Representación del mecanismo de acción propuesto de NDRG2 y su implicación en la diferenciación tumoral (Shen et al, 2018).

Tabla 26. Resumen del análisis de las proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Sin recaída*

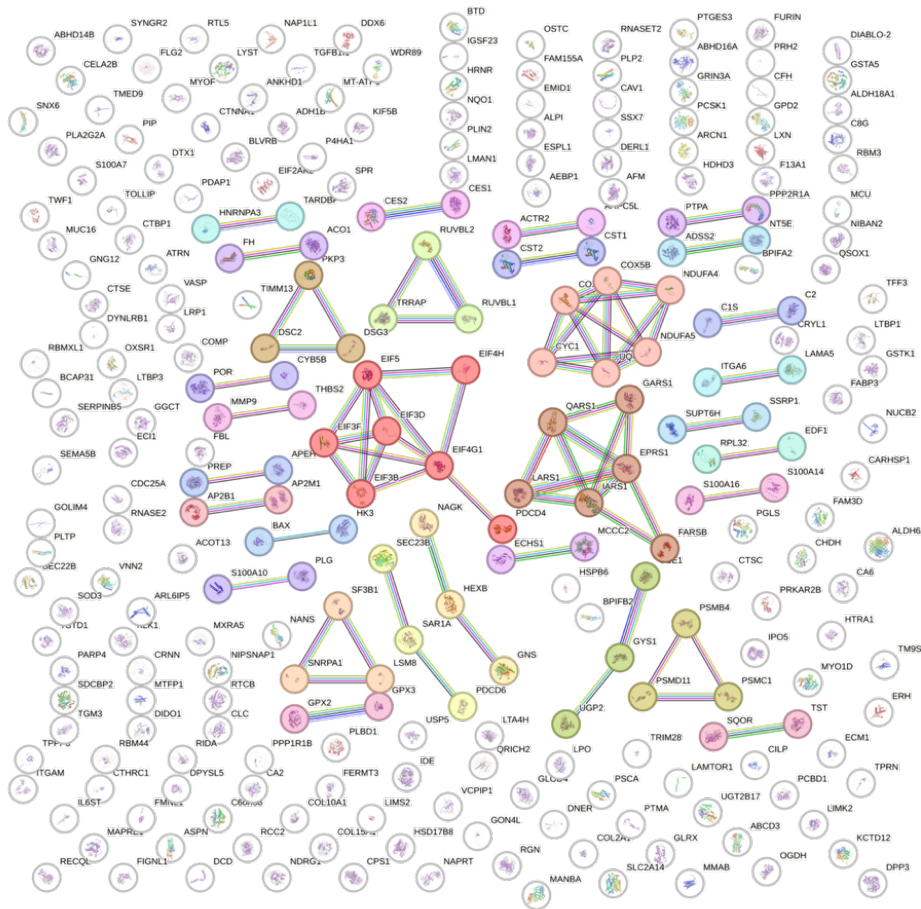
Cluster	Proteínas	Principales funciones biológicas
<i>Cluster 1</i>	I GKV1-33, IGKV1D-33, IGHV3-16, HRAS, IGHV-43D, ENSP00000493691	Respuesta inmune.
<i>Cluster 2</i>	REG1A , REG1B, REG3A	
<i>Cluster 3</i>	SAA2, SAA4	
<b>Otras proteínas identificadas</b>	ZC3H1, KERA, <b>M3K9</b> , LFTY1, CREG1, <b>AKR7A3</b> , SLPI, <b>GSTM1</b> , DEFA4, ME2, PSMA2, LGALS7, SLC6A8, BPIFB4, ACTR1A, ABAT, S100A12, TSPY1, IFITM2, ACY1, <b>LSAMP</b> , RTN1, LYPD8, CIBAR2, <b>CADM2</b> , FBXO30, BPIFB1, PCNP, GGH, <b>ATP6VOA1</b> , SEPTIN5, IMUP, BPIFA1, DDX21, KRT82, CYRIB, ATAD3A, DUX4, <b>NDRG2</b> , GDA.	<b>M3K9</b> : Señalización intracelular. <b>AKR7A3</b> : Inhibición de las vías ERK, c-Jun y NF-κB y regulación de la autofagia. <b>SLPI</b> , <b>LGALS7</b> , <b>GGH</b> : Respuesta inmune. <b>GSTM1</b> , <b>RTN1</b> : Estrés oxidativo. <b>ABAT</b> : Regulación del metabolismo celular. <b>LSAMP</b> , <b>LYPD8</b> , <b>CADM2</b> : <b>NDRG2</b> : Adhesión celular y transición epitelio-mesénquima. <b>FBXO30</b> : Regulación de HIF-1. <b>ATP6VOA1</b> : Acidificación de orgánulos intracelulares. <b>DUX4</b> : Control de ciclo celular.

En negrita se resaltan aquellas proteínas que se postulan como posibles biomarcadores.

#### 4.2.2. Grupo con recaída

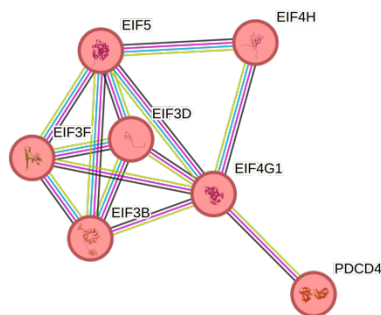
En el grupo *Recaída* se encontraron 302 proteínas expresadas de manera exclusiva. A partir de la base de datos String se analizaron las interrelaciones de las 302 proteínas identificadas en este grupo con un intervalo de confianza de 0,9. Se identificaron 31 *clusters* independientes entre sí (Figura 112). A continuación se describen los *clusters* encontrados y

se discuten las proteínas más relevantes que, en nuestra opinión, podrían constituir posibles biomarcadores de riesgo de recidiva.



**Figura 112.** Representación de las interacciones de las proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes *Recidiva* obtenida mediante la base de datos String. Se destacan los 31 *clusters* identificados.

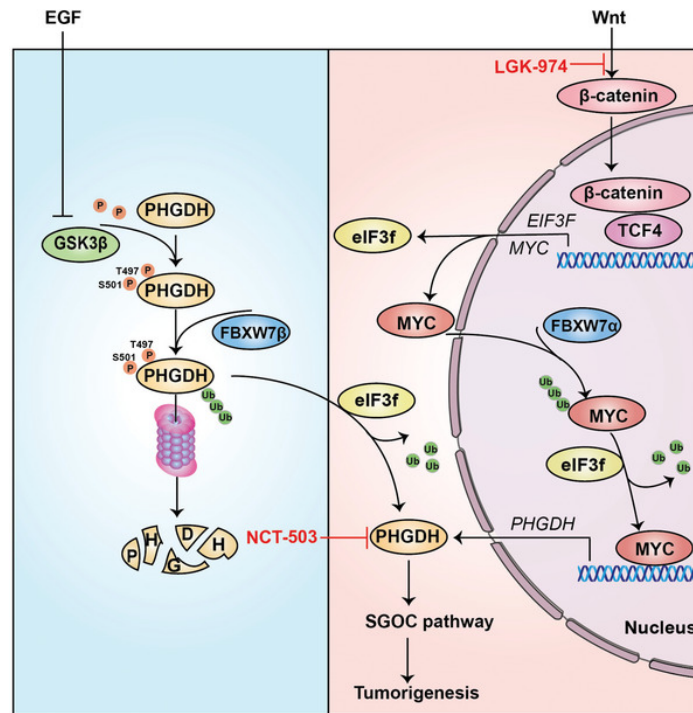
**CLUSTER 1:** Es el *cluster* 1 es el más grande y está formado por 7 proteínas: EIF5, EIF4H, EIF4G1, EIF3B, EIF3D, EIF3F y PDCD4 (Figura 113).



**Figura 113.** Representación del *cluster* 1 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recidiva obtenida mediante la base de datos String.

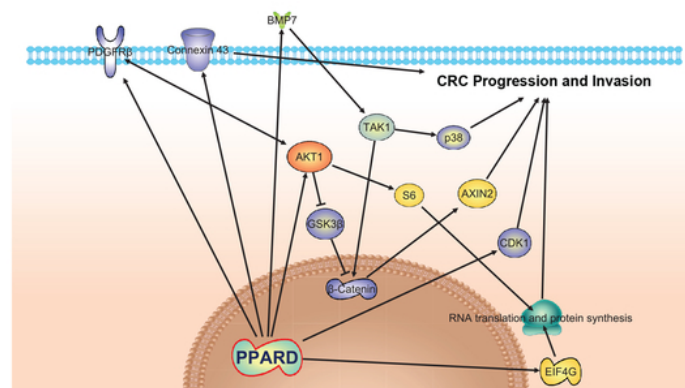
La síntesis de las proteínas es uno de los puntos clave en la regulación del crecimiento, la progresión y la diseminación tumoral. Para ello, son clave los factores de iniciación de la traducción que son proteínas que se unen a la subunidad menor del ribosoma y permiten iniciar el proceso de traducción proteica. En este *cluster* 1 encontramos expresadas de manera exclusiva las proteínas EIF3b, EIF3D y EIF3F que forman parte del complejo EIF3. Este complejo participa en la fase de iniciación de la traducción de proteínas uniéndose a la subunidad 40S y permitiendo la incorporación del mRNA y el metionil-tARN. El aumento de la expresión de estos factores se ha visto relacionada con un peor pronóstico en distintas neoplasias (Dong et al, 2006; Yin et al, 2018).

- **EIF3B:** La subunidad B del factor 3 de iniciación de la traducción eucariótica es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF3B*. Un estudio realizado por Wang et al. con líneas celulares de CC mostró que la inhibición de la expresión del gen *EIF3B* se asociaba a una disminución en la proliferación de las células tumorales (Wang et al, 2012). Su asociación como proteína promotora del crecimiento tumoral se ha descrito en muchos otros tumores como el cáncer de páncreas, mama, vejiga o pulmón (Tian et al, 2018; Ren et al, 2021). Aunque el mecanismo de acción no está claro, varios estudios han indicado su posible interacción con la vía PI3K/AKT/mTOR (Wang et al, 2019; Xu et al, 2019) y/o la vía Wnt/ $\beta$ -catenina (Li et al, 2023).
- **EIF3D:** La subunidad D del factor 3 de iniciación de la traducción eucariota es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF3D*. Se ha evaluado el papel de EIF3D en líneas celulares de CC. Su inhibición se ha asociado con una disminución de la proliferación tumoral y un descenso en los niveles de c-Myc y ciclina D1 (Du et al, 2018). También se ha detectado una asociación entre mayor expresión de esta proteína con una mayor resistencia al tratamiento con 5-Fluouracilo en CC a través de la sobreexpresión de RYVBL1; esto podría predecir una menor eficacia del tratamiento adyuvante en este subgrupo (Li et al, 2023). En el caso de otras neoplasias, la sobreexpresión de EIF3D también se ha asociado con un peor pronóstico y con neoplasias más agresivas a través de distintas vías como Wnt/ $\beta$ -catenina o el control de ciclo mediado por ciclinas (He et al, 2017; Ren et al, 2015).
- **EIF3F:** La subunidad F del factor de iniciación de la traducción eucariota 3 es una proteína que en los humanos está codificada por el gen *EIF3F*. Esta proteína está sobreexpresada de manera frecuente en las células tumorales de CC. El mecanismo que media en la progresión tumoral a través de la vía SGOC se ha explicado a través de su interacción con la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y PHGDH (Pan et al, 2023) (Figura 114).



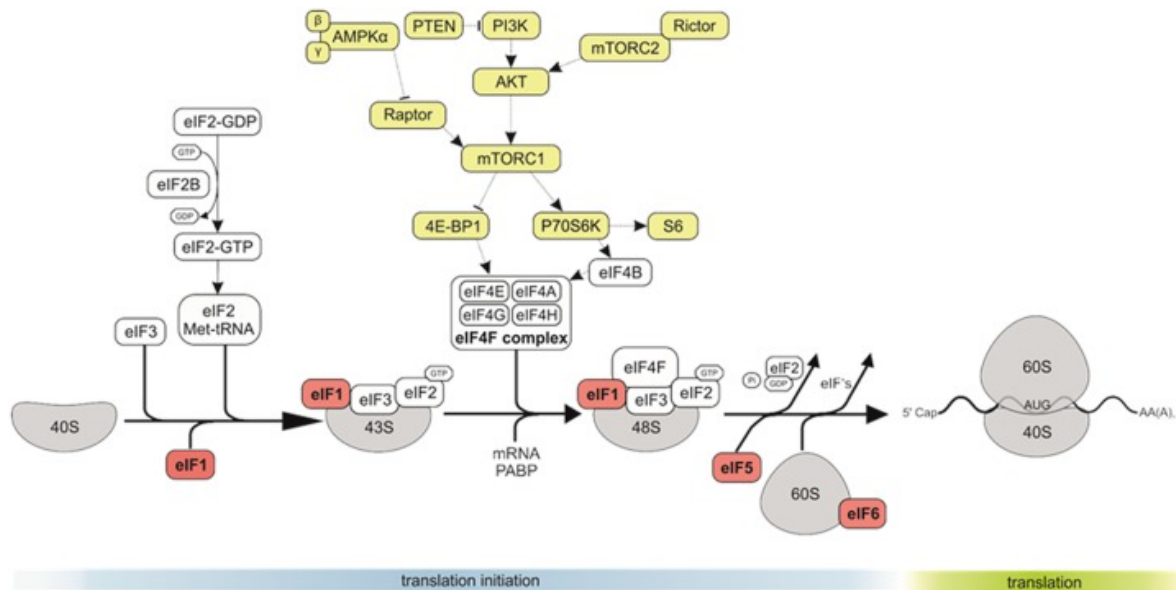
**Figura 114.** Representación de gráfica de las interacciones de la vía SGOC y su implicación en la tumorigénesis. Imagen tomada con permiso del artículo Pan et al, 2023.

- EIF4G1:** El complejo EIF4 formado por las proteínas EIF4G, EIF4A y EIF4E es clave en el proceso de iniciación de la traducción. Permite posicionar al mRNA en el ribosoma 40S a través de su interacción con eIF3 formando el complejo de iniciación 48S activo (Jiménez-López S et al, 2011). El factor de iniciación de la traducción eucariota 4 gamma 1 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF4G1*. Varios estudios han evaluado el papel de esta proteína en CC. Su papel como oncoproteína parece mediado por múltiples vías interrelacionadas entre sí como PI3K/AKT/mTOR (Zhang et al, 2019), Myc (Shen et al, 2018) o Wnt/β-catenina a través de su interacción con PPARD, entre otras (Liu et al, 2019) (Figura 115).



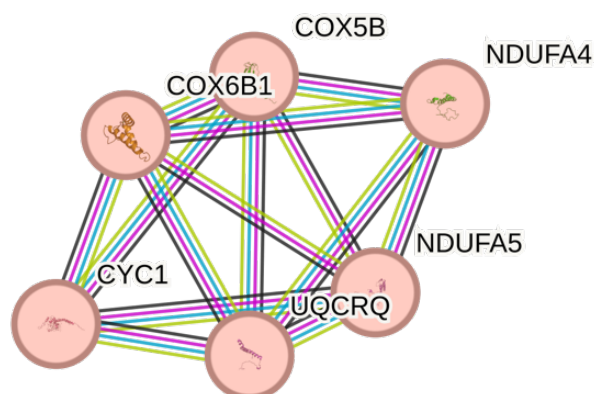
**Figura 115.** Representación de esquemática de las vías que median en la progresión e invasión del CCR así como sus interacciones. Imagen tomada con permiso del artículo Shen et al, 2018.

- **EIF4H:** El factor de iniciación de la traducción eucariota 4H es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF4H*. Esta proteína es un cofactor de EIF4A que estimula su actividad helicasa promoviendo la traducción de oncogenes (Modelska et al, 2015). Su interacción con EIF4A es mutuamente excluyente con el otro cofactor EIF4B (Marintchev et al, 2009). EIF4B se encuentra inactivo en condiciones de hipoxia, acidosis o proliferación celular incontrolada por un mecanismo de defosforilación. Por este motivo, durante el crecimiento tumoral, donde son frecuentes estas condiciones, EIF4H se encuentra sobreexpresada (Spriggs et al, 2010). La presencia de esta proteína en este grupo, podría deberse a un ambiente tumoral más favorable para las células neoplásicas en este subgrupo.
- **EIF5:** El factor 5 de iniciación de la traducción eucariota es una proteína que en humanos está codificada por el gen *EIF5*. El estudio de Golob-Schwartz et al. analizó los niveles de EIF5 mRNA en tejidos de CC teniendo en cuenta su pronóstico y el grado tumoral (bajo o alto). Concluyeron que la expresión de EIF5 se asoció en esta serie a una menor SG no significativa. Sin embargo, su inhibición en líneas celulares de CC se relacionó con una disminución de la velocidad del crecimiento de las células tumorales (Golob-Schwarzl et al, 2017). Otros estudios realizados en cáncer de pulmón (Cai et al, 2021) o cáncer de mama (Humphries et al, 2017) han propuesto a EIF5 como un posible marcador de mal pronóstico a través de su interacción con la vía PI3K/AKT/mTOR (Figura 116).



**Figura 116.** Esquema sobre el papel EIF1, EIF5 y EIF6 en el CCR. Imagen del artículo CRC. Imagen tomada con permiso del artículo Golob-Schwarzl et al, 2017.

**CLUSTER 2:** Este *cluster 2* está formado por 6 proteínas: COX5B, COX6B1, NDUFA4, NDUFA5, UQCRQ y CYC (Figura 117). Estas proteínas participan en la fosforilación oxidativa cuyo objetivo es la obtención de energía en forma de ATP a través de la transferencia de electrones.



**Figura 117.** Representación del *cluster 2* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

La fosforilación oxidativa se debe a la oxidación de las coenzimas NADH y FADH<sub>2</sub> formados durante la glicolisis, degradación de ácidos grasos y aminoácidos. Estas coenzimas serán oxidadas a su paso por la cadena de transporte de electrones o cadena respiratoria mitocondrial. Esta cadena de electrones está formada por 4 complejos (complejos I o NADH-reductasa, complejo II o succinato-reductasa, complejo III o citocromo-reductasa y complejo IV o citocromo-oxidasa) y dos transportadores móviles de electrones (la ubiquinona y el citocromo c). En este subgrupo existe una expresión de proteínas implicadas en esta vía, probablemente por la necesidad de una mayor obtención de energía para su diseminación (Balsa et al, 2012).

La proteína NDUFA5 forma parte del complejo I o NADH-reductasa de la cadena de electrones. Las proteínas UQCRCQ y CYC1 forman parte del complejo III o citocromo-reductasa de la cadena de electrones.

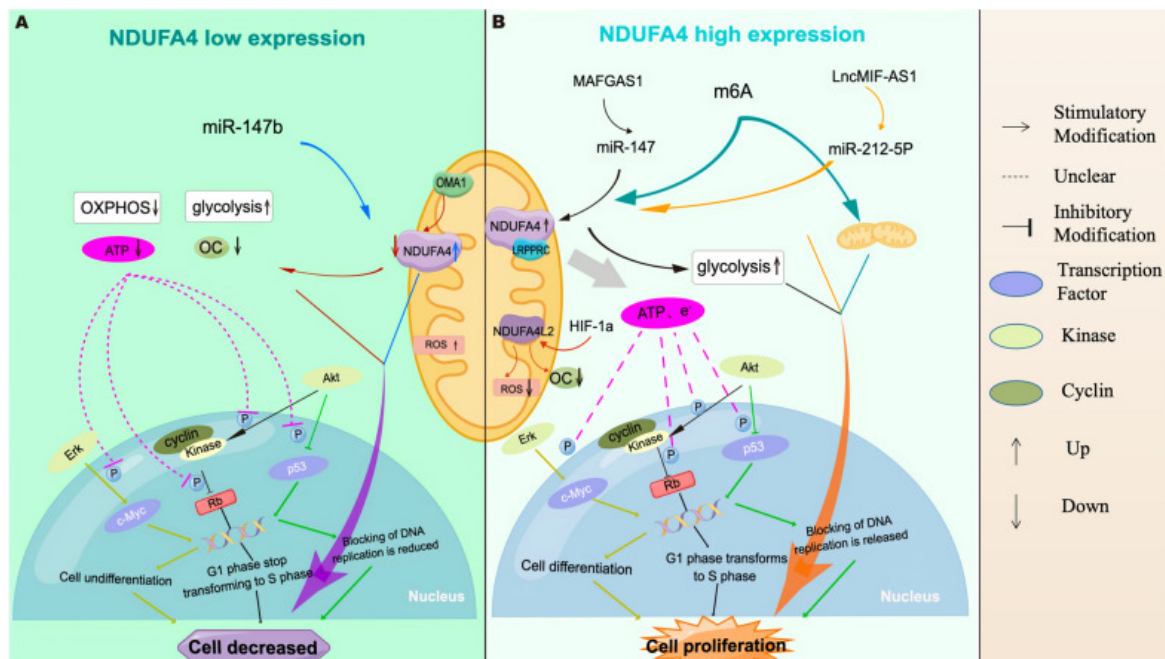
- **CYC1:** El citocromo c1, también conocida como UQCRC4, MC3DN6, es una proteína que forma parte del complejo III. Su papel como promotor del crecimiento tumoral se ha descrito en cáncer de mama (Han et al, 2016), osteosarcoma (Li et al, 2014) y en carcinoma epidermoide de cavidad oral (Ramasubramanian et al, 2022). Sin embargo, existen datos contradictorios en el CCR (Sun et al, 2021) por lo que su papel como posible biomarcador en este escenario no está claro.

Las proteínas COX5B, COX6B y NDUFA4 forman parte del complejo IV de la cadena de electrones. La última enzima de la cadena de transporte de electrones está implicada en la fosforilación oxidativa (Sun et al, 2021).

- **COX5B:** La subunidad 5B del citocromo c oxidasa mitocondrial es una proteína que forma parte del complejo de citocromo c oxidasa. El papel de COX5B como promotor tumoral ha sido ampliamente estudiado en cáncer de mama (Gao et al, 2015; Gao et al, 2017). Sin embargo, son escasas las publicaciones que han descrito su papel en el desarrollo del CCR. Un estudio relacionó los altos niveles de COX5B

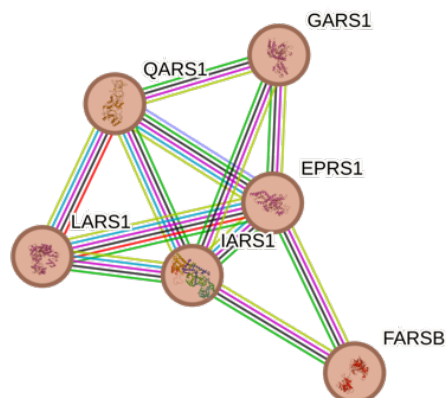
con una menor SG y SLP en CCR. Estas alteraciones se han acompañado de variaciones en la expresión de CLDN2 (claudina 2) (Chu et al, 2021). Se propone por lo tanto a COX5B como un posible biomarcador.

- **COX6B1:** La subunidad 6B1 del citocromo C oxidasa es una proteína que forma parte del complejo de citocromo c oxidasa. Solo un estudio ha descrito su asociación pronóstica en CCR. La presencia de los SNPS rs6510502 rs10420252 en esta proteína se asoció con la presencia de mayor afectación ganglionar y metástasis a distancia (Lascorz et al, 2012). Sin embargo, sí se ha estudiado en otras neoplasias. Chen et al. mostraron que la inhibición de COX6B1 en modelos celulares de adenocarcinoma de pulmón se asocia a una disminución en la proliferación y diseminación tumoral (Chen et al, 2022).
- **NDUFA4:** El complejo mitocondrial asociado es una proteína es una proteína que forma parte del complejo de citocromo C oxidasa. Su participación en la progresión tumoral y su papel como una posible diana terapéutica se ha descrito en múltiples neoplasias (Müller et al, 2015; Noè et al, 2023; Zhou et al, 2024) (Figura 118). En el CCR su aumento de expresión se ha correlacionado con una mayor proliferación tumoral y un peor pronóstico a través de su acción sobre AKT-ERK y otras vías relacionadas con el metabolismo energético (Lv et al, 2017; Cui et al, 2018).



**Figura 118.** Representación esquemática de los mecanismos que regulan la proliferación celular en células tumorales de CCR a través de NDUFA4. Imagen tomada con permiso del artículo de Zhou et al, 2024.

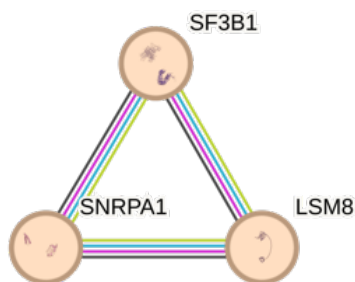
**CLUSTER 3:** Este *cluster* 3 está formado por 6 proteínas: QARS1M, GARS1, LARS1, IARS1, EPRS1 y FARSB. Estas proteínas permiten que el ARNt sea aminoacilado y posteriormente ensamblado en los ribosomas (Figura 119).



**Figura 119.** Representación del *cluster 3* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **GARS1:** Las mutaciones en la enzima glicil-ARNt sintetasa 1 se han asociado con enfermedad autoinmunes o la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (Cintra et al, 1989). Sin embargo, su implicación en cáncer ha sido poco descrita. Un estudio reciente de Nie et al. evaluó la expresión de GARS1 en diferentes tumores encontrando una correlación positiva entre los niveles de GARS1 y la respuesta a inmunoterapia en el cáncer de vejiga o el carcinoma suprarrenal (Nie et al, 2023). Sin embargo, esta correlación no se ha descrito en el CCR.
- **LARS1:** La leucil-ARNt sintetasa citoplásmica es una enzima que en humanos está codificada por el gen *LARS*. Esta enzima cataliza la unión covalente de la leucina a tRNA<sub>leu</sub> y además activa el complejo mTORC1 (Han et al, 2012). A través de esta interacción es capaz de integrar señales de aminoácidos o factores de crecimiento y promover la proliferación celular y la síntesis proteica (Jewell et al, 2013). De hecho, un estudio reciente se correlacionaron los elevados niveles de LARS1 en CCR con una mayor proliferación celular, migración e invasión tumoral (Cho et al, 2022).
- **EPRS1:** La aminoacil-ARNt sintetasa bifuncional es una enzima que en humanos está codificada por el gen *EPRS*. La sobreexpresión de EPRS1 se ha asociado con un peor pronóstico en cáncer de mama luminal, cáncer de pulmón y cáncer gástrico (Lee et al, 2023). Los mecanismos a través de los cuales esta proteína promueve la proliferación dependen del tipo tumoral. Se ha descrito actividad a través de su interacción con la vía Wnt/ $\beta$ -catenina (Liu et al, 2021) o DUS2 (Kato et al, 2005) entre otros mecanismos. Nuestra serie sería la primera en proponer a esta proteína como un posible biomarcador de riesgo en CC.

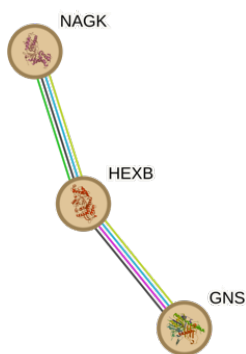
**CLUSTER 4:** Este *cluster 4* está formado por 3 proteínas: SF3B1, LSMB y SNRPA1 (Figura 120). Estas proteínas forman parte del espliceosoma. Catalizan la eliminación de intrones del ARN premensajero (preARNm) y el empalme de exones codificantes para producir ARNm maduros.



**Figura 120.** Representación del *cluster 4* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **SF3B1:** La subunidad 1 del factor de empalme 3B es una proteína que en humanos está codificada por el gen *SF3B1*. Un estudio realizado por Simmler et al. evaluó el papel de esta proteína en cáncer de páncreas y observaron que altos niveles de expresión de SF3B1 se asociaron a mayor progresión tumoral y a un peor pronóstico. Su actividad se ha postulado en este estudio a través de su interacción con HIF (factor inducible por hipoxia) alfa (Simmler et al, 2022). Otro estudio en cáncer de ovario, relacionó los altos niveles de SF3B1 con un menor infiltrado inmune y un peor pronóstico (Wang et al, 2023). Aunque no se ha descrito su implicación en el desarrollo de CC, en base a los datos previamente descritos, podría considerarse como un posible biomarcador de riesgo de recaída.
- **SNRPA1:** La ribonucleoproteína nuclear pequeña U2 A' es una proteína que en humanos está codificada por el gen *SNRPA1*. Esta proteína se encuentra sobreexpresada en múltiples neoplasias incluido el CCR. Un estudio analizó el papel de SNRPA1 en el desarrollo de CCR. Esta proteína actúa disminuyendo la expresión de *EZH2*, *VEGFC*, *MKI67* y *CDK1*, potenciando la expresión de los genes *NRP1* y *PIK3R1* y promoviendo la proliferación tumoral (Zeng et al, 2019). Esto convierte a SNRPA1 en un posible biomarcador de recaída.

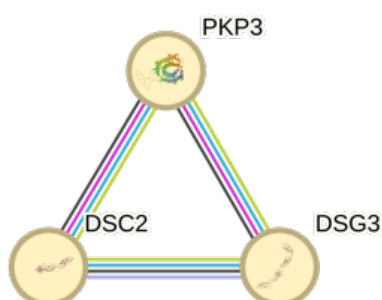
**CLUSTER 5:** Este *cluster 5* está formado por 3 proteínas: NAGK, HEXB y GNS (Figura 121). Estas proteínas están implicadas en el catabolismo de los carbohidratos.



**Figura 121.** Representación del *cluster 5* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **HEXB:** La subunidad beta de la hexosaminidasa es una enzima que en humanos está codificada por el gen *HEXB*. Aunque su papel en CCR no se ha definido, se ha descrito como una oncoproteína en otras neoplasias como el cáncer de laringe (Olszewska et al, 2009) o el glioblastoma multiforme (Jia et al, 2021). Además, su alta expresión se ha asociado a una menor supervivencia en pacientes con glioblastoma multiforme (Jia et al, 2021). Esto lo postula como un posible biomarcador.

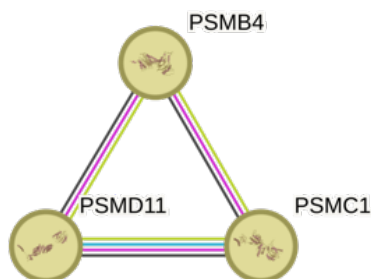
**CLUSTER 6:** Este *cluster 6* está formado por 3 proteínas: PKP3, DSC2 y DSG3 (Figura 122). Forman parte de los desmosomas y por lo tanto están implicadas en fenómenos de adhesión celular.



**Figura 122.** Representación del *cluster 6* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **PKP3:** La placofilina-3 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *PKP3*. La actividad de esta proteína se ha descrito como promotor o supresor tumoral. Aunque algunos estudios realizados con líneas celulares de CC asocian su menor expresión con una mayor agresividad (Khapare et al, 2012; Basu et al, 2015), en nuestra serie sólo se expresa en el grupo de peor pronóstico. Se han descrito varios mecanismos para explicar su papel como oncoproteína, ya sea a través de su interacción con la vía de las MAPK o a través de la inhibición del infiltrado inmune a nivel tumoral (Zhang et al, 2024).
- **DSC2 y DSG3:** La desmocollin-2 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *DSC2* y la desmogleína 3 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *DSG3*. En nuestra serie DSC2 y DSG3 se encuentran expresadas de manera exclusiva en el grupo *Recaída*. Su papel en CC se ha descrito en varios estudios. DSC2 suele estar sobreexpresada en la mucosa colónica normal; sin embargo, durante la desdiferenciación tumoral se pierde su expresión de manera progresiva acompañada de un aumento de DSG3 (Bujko et al, 2015). Esta transformación se denomina “desmosoma switching” (Khan et al, 2006). De hecho, su papel como un marcador pronóstico ya se ha descrito en cáncer de recto. Dado que DSG3 se encuentra expresado de manera exclusiva en el grupo recaída y teniendo en cuenta los datos descritos previamente, postulamos a DSG3 como un posible biomarcador.

**CLUSTER 7:** Este *cluster 7* está formado por 3 proteínas: PSMB4, PSMD11 y PSMC1 (Figura 123). Forman parte del proteosoma y su sobreexpresión se ha asociado a un peor pronóstico en múltiples neoplasias.

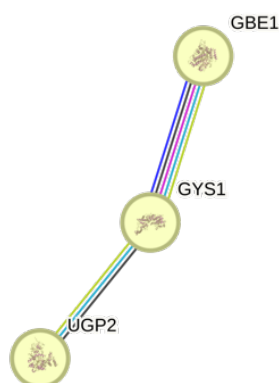


**Figura 123.** Representación del *cluster 7* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- PSMB4:** La subunidad beta tipo 4 del proteosoma, también conocida como subunidad beta-7 del proteosoma 20S, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *PSMB4*. Como se ha comentado en la introducción de esta tesis, la microbiota intestinal tiene un papel fundamental en el desarrollo de CCR. Se ha descubierto que la microbiota *Parvimonas micra* está enriquecida en la mucosa intestinal y las muestras fecales de pacientes con cáncer colorrectal (CCR) en comparación con los controles sin CCR (Hatta et al, 2023). Curiosamente, un estudio de carcinogénesis asociada a *Parvimonas micra* evidenció regulación al alza de la proteína PSMB4 en el CRC. La actividad de la proteína PSMB4 y su interacción con otras subunidades del proteosoma se consideran claves en el desarrollo tumoral (Hatta et al, 2023). Su actividad se debe a su capacidad para promover angiogénesis y la diseminación tumoral (Kravtsova-Ivantsiv et al, 2015). El mecanismo de acción se ha estudiado en profundidad en otros tumores como cáncer de ovario (Liu et al, 2016), cáncer de mama (Wang et al, 2018) o cáncer de cérvix (Zhou et al, 2020). Todos ellos relacionan la mayor expresión de PSMB4 con un peor pronóstico. A pesar de la limitada evidencia en CC y que nuestro estudio no lleva asociado un análisis de microbiota, es posible que los mecanismos que favorecen la carcinogénesis sean similares. Por lo tanto, postulamos esta proteína como un posible biomarcador.
- PSMD11:** La subunidad reguladora 11 no ATPasa del proteosoma 26S es una enzima que en humanos está codificada por el gen *PSMD11*. Varios estudios han analizado el papel pronóstico de PSMD11 en tejido tumoral. La mayor parte de los trabajos se han desarrollado en cáncer de páncreas, donde altos niveles de PSMD11 se han asociado a mayor riesgo de recaída y una menor SG (Sahni et al, 2020; Larsson et al, 2022) a través de la activación de la vía MEK1/ERK1/2 (Wang et al, 2018). Esta asociación también se ha identificado en pacientes con adenocarcinoma de pulmón (Huang et al, 2024). En base a esto, proponemos a PSMD11 como un posible biomarcador pronóstico.

- **PSMC1:** La subunidad reguladora 4 de la proteasa 26 es una enzima que en humanos está codificada por el gen *PSMC1*. Su asociación pronóstica en CC no se ha descrito, sin embargo, su papel en otros tumores ha sido ampliamente estudiado. Las proteínas de la familia PSMC (subunidades ATPasa del proteosoma 26S) se encuentran sobreexpresadas en pacientes con adenocarcinoma de pulmón. Además, existe una asociación entre los altos niveles de PSMC1 y una menor SG y SLE (Ullah et al, 2022). En cáncer de mama el aumento de su expresión se asocia también a un peor pronóstico. Aunque el mecanismo no está claro, parece que existe una coexpresión de genes involucrados en la remodelación del citoesqueleto y el control de ciclo celular mediado por las ciclinas (Kao et al, 2021).

**CLUSTER 8:** Este *cluster* 8 está formado por 3 proteínas: GBE1, GYS1 y UGP2 (Figura 124). Estas proteínas están implicadas en la síntesis de glucógeno.

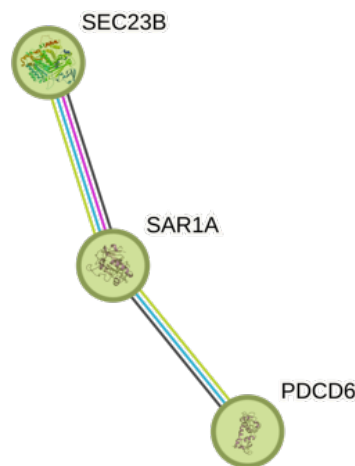


**Figura 124.** Representación del *cluster* 8 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **GBE1:** La enzima ramificadora del glucógeno cataliza la reacción de adición de una rama de glucosas al polímero glucógeno en formación mediante un enlace  $\alpha$ -1,6-glucosídico o GBE1 (Meléndez et al, 1999). Su papel como oncoproteína ha sido ampliamente estudiado en cáncer de pulmón. En esta neoplasia, los altos niveles de expresión de GBE1 se asociaron a un peor pronóstico. Se han hipotetizado múltiples causas para esta asociación como se describirá a continuación. La alta expresión de GBE1 se ha asociado con un mayor infiltrado de macrófagos M2 (CD163) en el tumor y un peor pronóstico en cáncer de pulmón (Liang et al, 2022). La presencia de este tipo de macrófagos, también se ha correlacionado con un peor pronóstico en otras neoplasias como el cáncer de mama o CC (Edin et al, 2012). Además, GBE1 es una proteína intermedia dentro de la vía de HIF1 por lo que su expresión aumenta en situaciones de hipoxia promoviendo la angiogénesis y progresión tumoral (Li et al, 2020). Esta asociación también se ha descrito en otras neoplasias como melanoma (Buart et al, 2017) o gliomas (Chen et al, 2023). Por todo ello, se postula como un posible biomarcador.

- **GYS1:** La glucógeno sintasa es una proteína implicada en la síntesis de glucógeno. Un estudio realizado en muestras tumorales de CC mostró una elevada expresión en pacientes con el subtipo histológico micropapilar de CC. Se trata de un subtipo de mayor agresividad y peor pronóstico en el que la reprogramación del metabolismo del glucógeno tiene un papel fundamental (Vyas et al, 2016). Al igual que GBE1, la hipoxia tumoral induce la activación de la vía HIF1 que regula la expresión de GLUT1 y GYS1 entre otras proteínas promoviendo la progresión tumoral (Vyas M, et al, 2016; Johnson et al, 1988). La participación de la proteína GYS1 en la progresión tumoral se ha descrito en otros tumores como cáncer de mama (de Heer et al, 2023) o cáncer de endometrio (Zeng et al, 2020), entre otros. Se postula GYS1 como posible biomarcador.
- **UGP2:** LA UDP-glucosa fosforilasa 2 es una proteína implicada en la síntesis de glucógeno. Su alta expresión se ha asociado con una menor supervivencia en cáncer de pulmón de no célula pequeña, cáncer de páncreas y cáncer de estómago (Kim et al, 2021) por un mecanismo similar al ya descrito (Wolfe et al, 2021). En base a lo descrito, se postula como un posible biomarcador.

**CLUSTER 9:** Este *cluster* 9 está formado por 3 proteínas: SEC23B, SAR1A y PDCD6 (Figura 125). Las proteínas SEC23B y SAR1A forman parte del complejo COPII, implicadas en el transporte vesicular desde el retículo endoplásmico rugoso hasta el aparato de Golgi. La proteína PDCD6 no forma parte de este complejo, pero desempeña un papel clave en procesos como el transporte vesicular del retículo endoplásmico, la biogénesis endosómica o la reparación de membranas (Maki et al, 2016).



**Figura 125.** Representación del *cluster* 9 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

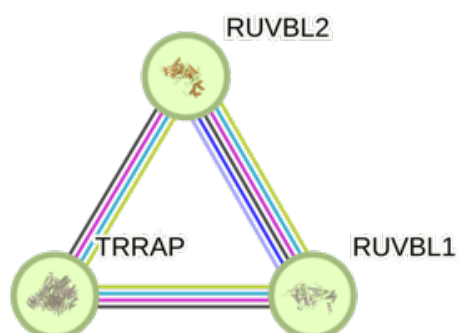


- **SAR1A:** El papel de SAR1A en CC no está definido, sin embargo parece ser clave en el desarrollo de otras neoplasias como en el osteosarcoma o cáncer renal (Zhao et

al, 2020). Uno de los mecanismos descritos sería mediante la activación de la vía RhoA/YAP que activaría factores de transcripción promoviendo la TEM y en consecuencia la diseminación tumoral (Zhan et al, 2022).

- **PDCD6:** La proteína de muerte celular programada 6 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *PDCD6*. Se trata de una proteína fijadora de calcio que actúa como un adaptador que une proteínas no relacionadas y da estabilidad a complejos proteicos (Maki et al, 2016). Un estudio realizado por Wang et al. en líneas celulares de CC, evidenció una asociación entre los altos niveles de PDCD6 determinados mediante inmunohistoquímica e inmunofluorescencia con una menor supervivencia. PDCD6 produciría la activación de la vía de las MAPK a través de su interacción con C-RAF promoviendo la proliferación tumoral (Wang et al, 2020).

**CLUSTER 10:** Este *cluster* 10 está formado por 3 proteínas: TRRAP, RUVBL2 y RUVBL1 (Figura 126). Estas proteínas están implicadas en la acetilación de histonas y reguladores de procesos de reparación de rotura de doble cadena del ADN por recombinación homóloga.

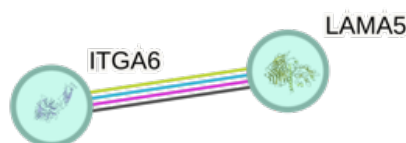


**Figura 126.** Representación del *cluster* 10 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **TRRAP:** La proteína asociada al dominio de transformación/transcripción, también conocida como TRRAP, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *TRRAP*. TRRAP es una proteína que regula la expresión de genes implicados en el desarrollo embrionario a través de la acetilación de histonas y el remodelamiento de la cromatina. NANOG es un factor de transcripción en células madre embrionarias, cuya expresión está mediada por TRRAP (Kang et al, 2023). Un estudio realizado por Ibrahim et al. en líneas celulares de CC mostró que el aumento de expresión de TRRAP estabiliza NANOG promoviendo la proliferación tumoral a través del control de las células madre tumorales (Ibrahim et al, 2012).

- **RUVBL1/2:** Se trata de proteínas codificadas por los genes *RUVBL1* y *RUVBL2*, respectivamente. Ambas pertenecen a la familia de proteínas AAA+. Se encuentran altamente expresadas en muestras tumorales de CC y se asocian a un peor pronóstico (Mahajan et al, 2023). Además, su inhibición a través de YTHDF1 se asocia a un menor crecimiento tumoral (Chen et al, 2024). Otro de los mecanismos implicados en el desarrollo tumoral es mediante la interacción de RUBVBL1 con  $\beta$ -catenina (Tang et al, 2023) o mediante la interacción de RUVBL2 con el factor de transcripción ETS2 con el fin de regular la expresión nuclear de hTERT a través de su interacción (Flavin et al, 2011). En nuestro estudio no se ha encontrado una asociación entre los niveles de RUVBL2 y la presencia o ausencia de mutaciones en *TERT*.

**CLUSTER 11:** Este *cluster* 11 está formado por 2 proteínas que presentan una fuerte interacción: ITGA6 y LAMA5 (Figura 127). La proteína LAMA5 en una subunidad que forma parte de la proteína laminina. La laminina media en fenómenos de unión, migración y organización celular en los tejidos durante el desarrollo embrionario a través de su interacción con componentes de la matriz extracelular y con otras proteínas implicadas en vías de señalización mediadas por integrinas y PTK2B/PYK2 (Barad et al, 2020).



**Figura 127.** Representación *del cluster* 11 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **LAMA5:** La subunidad alfa-5 de laminina es una proteína que en humanos está codificada por el gen *LAMA5*. Está implicada en fenómenos de migración celular y en CC su expresión se ha asociado con el desarrollo de metástasis hepáticas a través de la activación de la angiogénesis y la inhibición de la vía de Notch (Gordon-Weeks et al, 2019). Este mecanismo ha sido descrito también en otros tumores como el cáncer de ovario (Diao et al, 2023). Su papel como una posible diana terapéutica ha sido analizado en un estudio con líneas celulares de CC. La inhibición de LAMA5 se asoció a desdiferenciación y a un aumento de sensibilidad a la quimioterapia con 5FU (Maltseva et al, 2020) (Figura 128). En base a esto, se postula LAMA5 como un posible biomarcador de riesgo de recaída.

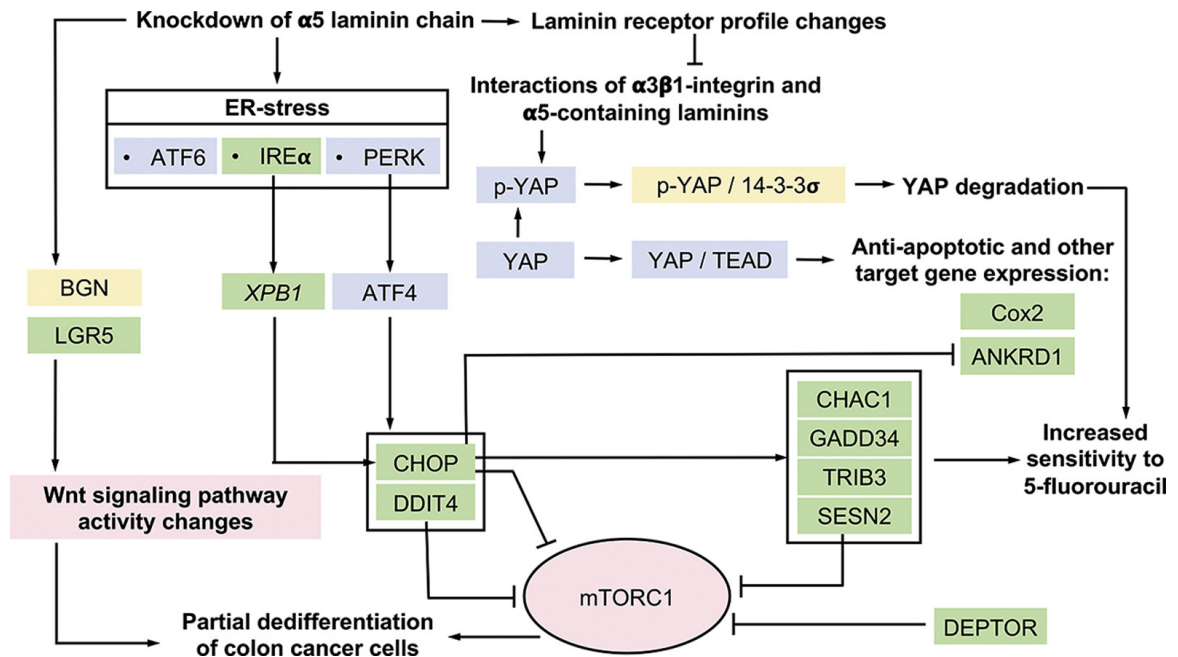


Figura 128. Representación gráfica de las consecuencias de la inhibición de LAMA5. Imagen tomada con permiso del artículo de Maltseva et al, 2020.

- ITGA6:** La integrina alfa-6 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *ITGA6*. Como se ha reflejado en el apartado anterior, LAMA5 media fenómenos de migración y progresión tumoral a través de su interacción con vías de proliferación mediadas por integrinas (Maltseva et al, 2020). El papel de las integrinas en el desarrollo tumoral de CC y concretamente de la ITGA6, se ha analizado en otros estudios. La alta expresión de ITGA6 se ha asociado en CC con estadios más avanzados y con la presencia de invasión vascular (Guo et al, 2019; Denadai et al, 2013). Por otra parte, en el análisis cuantitativo realizado en este trabajo se evidenció un aumento de expresión de ITGB1 en aquellos tumores incluidos en el grupo *Recaída*. Además, en este caso, la proteína ITGA6 se encuentra expresada de manera exclusiva en este grupo *Recaída*. Un estudio realizado en muestras de tejidos de CC mostró que la inhibición de ITGA6 y ITGB1 produce una inhibición de la capacidad de invasión y migración de las células tumorales (Laudato et al, 2017). Dados nuestros datos y los descritos en la literatura, ITGA6 se postula como un posible biomarcador de riesgo y refuerza el papel de ITGB1 en este escenario.

**CLUSTER 12:** Este *cluster* 12 está formado por las proteínas ADSS2 y NT5 que presentan una fuerte interacción entre ellas (Figura 129). Ambas proteínas participan en procesos de síntesis y catabolismo del AMP (Garavaglia et al, 2012).



**Figura 129.** Representación del *cluster* 12 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- NT5:** La 5'-nucleotidasa, también conocida como ecto-5'-nucleotidasa o CD73, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *NT5E*. CD73 comúnmente sirve para convertir AMP en adenosina. Su expresión se ha asociado a una mayor proliferación tumoral y una menor supervivencia en múltiples neoplasias (Stagg et al, 2010; Ma et al, 2020; He et al, 2021). CD73 promueve la progresión tumoral a través de su interacción con la vía de la MAPK y con el factor de crecimiento TGF1, además de inducir cambios en el microambiente tumoral. De hecho, la inhibición de CD73 aumenta la expresión de linfocitos T CD8<sup>+</sup> y potencia la acción de los “inmune-checkpoints” en estudios preclínicos realizados sobre muestras tumorales de CC (Lian et al, 2024). En cuanto a su valor como biomarcador, un estudio analizó los niveles de CD73 en suero y en tejido de metástasis hepáticas intervenidas en pacientes con CC. Los altos niveles de CD73 se correlacionaron con una menor supervivencia libre de progresión (Messaoudi et al, 2020). En nuestro caso, CD73 se encuentra expresada en el grupo *Recaída* de manera exclusiva por lo que lo convierte en un posible biomarcador de riesgo.

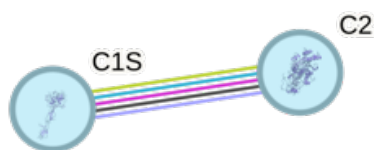
**CLUSTER 13:** Este *cluster* 13 está formado por las proteínas BAX y HK3 (Figura 130).



**Figura 130.** Representación del *cluster* 13 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- HK3:** La proteína HK3 cataliza la fosforilación de las hexosas en la glucólisis (Palma et al, 1996). Su expresión en CC se asocia a un aumento de expresión de genes implicados en fenómenos de TEM (Pudova et al, 2018), pudiendo ser clave en la progresión y migración tumoral (Wu et al, 2021).

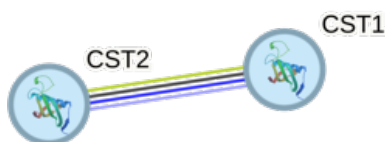
**CLUSTER 14:** Este *cluster* 14 está formado por las proteínas C1S y C2 que forman parte del sistema del complemento (Figura 131). El sistema de complemento participa en múltiples funciones biológicas entre las que se encuentran la lisis celular, opsonización, la degranulación de mastocitos y control del sistema inmunitario.



**Figura 131.** Representación del *cluster* 14 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **C1S:** La subunidad C1s forma parte del complejo C1 del complemento. Sus alteraciones se han relacionado con el desarrollo de diferentes patologías (autoinmunes, infecciosas, cáncer, etc.) (Ye et al, 2022). Algunos estudios sugieren que C1s promueve la progresión tumoral mediante su interacción con los monocitos dando lugar a un microambiente tumoral inmunosupresor que promueve la progresión tumoral (Daugan et al, 2021) por lo que podría postularse como un posible biomarcador.
- **C2:** Un estudio de Liu et al. analizó la expresión diferencial de los genes expresados en el tejido de metástasis hepáticas de CC y el tumor primario. Los autores encontraron que C2 estaba sobreexpresado en las metástasis comparado con el tumor primario, por lo que es probable que tenga un papel relevante en la diseminación a distancia (Liu et al, 2019). Sin embargo, su papel pronóstico en CC no está descrito, mientras que estudios realizados en otros tumores lo asocian con un mejor pronóstico (Ning et al, 2020, Zhang et al; 2023), esto no parece tan claro en el CC.

**CLUSTER 15:** Este *cluster* 15 está formado por las proteínas de la familia de las cistatinas CST2 y CST1 (Figura 132).



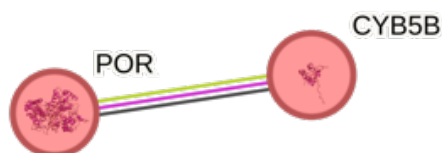
**Figura 132.** Representación del *cluster* 15 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **CST1:** La cistatina-SN es una proteína que en humanos está codificada por el gen *CST1*. Esta proteína se encuentra aumentada en los tejidos de CC frente a la mucosa colónica normal y su excreción por orina es mayor en los pacientes con CCR. Por este motivo, se ha propuesto su detección en orina como método de *screening* poblacional (Yoneda et al, 2009). Además, su mayor expresión se ha asociado con una mayor capacidad de diseminación y un mayor índice de proliferación tumoral en diferentes tumores (Choi et al, 2009; Jian et al, 2018). Sin embargo, su mecanismo de acción no está bien definido, aunque algunos estudios han propuesto una posible interacción con la vía de p65 o su capacidad para inhibir CST3 como métodos

inductores de la proliferación tumoral (Kim et al, 2013). Su papel como factor pronóstico también se ha explorado siendo un posible indicador de mal pronóstico (Li et al, 2017; Liu et al, 2023). Por lo tanto teniendo en cuenta también los resultados de nuestra serie consideramos CST1 como un posible biomarcador de mal pronóstico.

- **CST2:** La cistatina-SA es una proteína que en humanos está codificada por el gen *CST2*. El aumento de expresión de esta proteína y su implicación en el desarrollo tumoral se ha evaluado en múltiples tumores. En el carcinoma seroso de ovario su mecanismo de acción está mediado por la activación de la vía WNT/ $\beta$ -catenina (Wang et al, 2024), mientras que en el cáncer de páncreas se debe a su interacción con la vía PI3K/AKT (Ou et al, 2023). Sin embargo, el mecanismo que media en la proliferación tumoral en CC está poco explorado. A pesar de ello, sí se ha evaluado el papel pronóstico de CST2 en esta patología. Al igual que CST1, el aumento de su expresión se asocia a una menor supervivencia en pacientes con CCR localizado y metastásico (Xie et al, 2021). Por lo tanto, se considera un posible marcador pronóstico.

**CLUSTER 16:** Este *cluster* 16 está formado por las proteínas POR y CYB5B (Figura 133). Ambas proteínas son citocromos implicados en el transporte de electrones. Tras la revisión de la literatura, no se ha encontrado una correlación entre la expresión de estas proteínas y un mayor riesgo de recaída en CC.



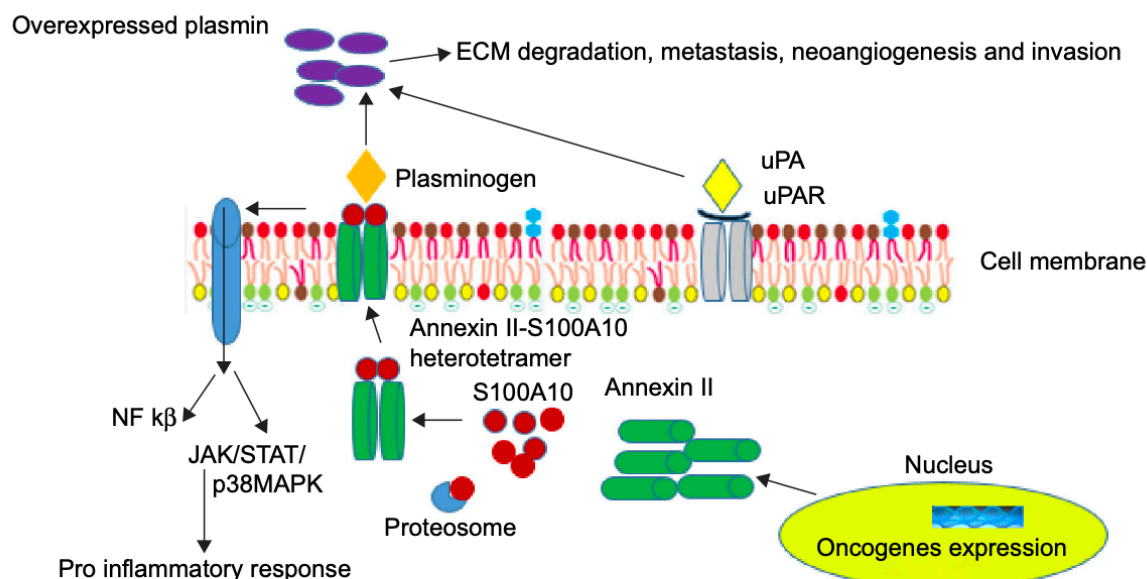
**Figura 133.** Representación del *cluster* 16 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

**CLUSTER 17:** Este *cluster* 17 está formado por las proteínas S100A10 y PLG que presentan una fuerte interacción entre sí (Figura 134). De hecho, su interacción media en la progresión tumoral dependiente de plasmina.



**Figura 134.** Representación del *cluster* 17 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

La interacción entre S100A10 y PLG se describe en la Figura 135. A pesar de que existen múltiples receptores de plasminógeno, solo unos cuantos, entre los que se incluyen el receptor anexina II-S100A10, están implicados en la progresión tumoral (Kumari et al, 2015).

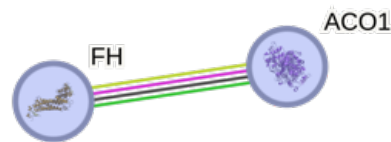


**Figura 135.** Representación esquemática del heterotetrámero de anexina II-S100A10 sobreexpresado en células tumorales. Los plasminógenos se unen al dominio S100A10 del heterotetrámero y la uPA se une a uPAR. Esto provoca una sobreexpresión de plasmina que lleva a la degradación de la matriz extracelular, invasión y diseminación a distancia. Imagen tomada con permiso del artículo de Kumari et al, 2015.

- **PLG:** El plasminógeno es una glucoproteína sintetizada en el hígado que se considera un precursor inactivo de una proteasa llamada plasmina. El sistema plasminógeno/plasmina tiene un papel clave en la regeneración tisular, respuesta inmune, angiogénesis y diseminación tumoral. En cuanto a esta última, la progresión tumoral puede estar mediada por distintas vías:
  1. A través de su conversión a plasmina y posterior degradación de la matriz extracelular mediada por la activación de metaloproteasas (Danø et al, 2005).
  2. A través de su interacción con distintos receptores del plasminógeno. En este caso, la presencia de PLG de manera exclusiva en el grupo *Recáida* lo convierte en un posible marcador pronóstico al igual que se ha descrito en otros estudios (Verspaget et al, 1995; Danø et al, 2005; Chen et al, 2015; Bal et al, 2019).
- **S100A10:** La proteína de unión al calcio S100 A10, también conocida como p11, es una proteína codificada en humanos por el gen *S100A10*. Habitualmente, S100A10 se encuentra asociada a anexina II a nivel intracelular mientras que su exceso se degrada a través del proteosoma. Este heterotetrámero promueve el paso de plasminógeno a plasmina actuando como un co-receptor para el plasminógeno, el

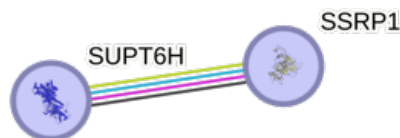
tPA y la procathepsina B (Ceruti et al, 2013). Por lo tanto, parece razonable que la mayor expresión de esta proteína o el hecho de que se exprese de manera exclusiva en el grupo *Recaída* lo postule como un marcador de riesgo de recaída mediado por su interacción con el plasminógeno. Esto ya se ha observado en otros estudios (Zeng et al, 2020; Shang et al, 2013) en los que además se ha correlacionado su expresión con una mayor resistencia a terapias con platino (Suzuki et al, 2014).

**CLUSTER 18:** Este *cluster* 18 está formado por las proteínas FH y ACO1 que forman parte del ciclo del ácido tricarboxílico (Figura 136). Aunque la ausencia de expresión de FH se asocia al desarrollo de neoplasias como el cáncer renal (Bratslavsky et al, 2007) y la expresión de ACO1 en otras neoplasias se asocia con un mejor pronóstico (Cui et al, 2021), estos datos no han podido ser corroborados en nuestro estudio.



**Figura 136.** Representación del *cluster* 18 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

**CLUSTER 19:** Este *cluster* 19 está formado por las proteínas SUPT6H y SSRP1 (Figura 137).



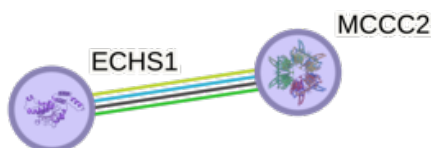
**Figura 137.** Representación del *cluster* 19 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- SUPT6H:** El factor de elongación de la transcripción SPT6 es una proteína que en humanos está codificada por el gen *SUPT6H*. Esta proteína se une a la histona H3 y participa en la regulación de la transcripción y procesamiento del ARN mensajero (Endoh et al, 2004). Su papel en la progresión del CC se ha descrito a través de la vía SPT6-SND1-hTERT (Diao et al, 2021). La expresión de hTERT está suprimida en la mayor parte de las células somáticas, sin embargo, la encontramos activada en hasta el 90% de las neoplasias dando lugar a un fenotipo más agresivo (Liu et al, 2013). Aunque en CC localizado el papel pronóstico de esta mutación no se ha establecido, algunos estudios sugieren que la presencia de esta mutación en las metástasis hepáticas resecaídas de pacientes con CC se asocian a un comportamiento más agresivo y a una menor supervivencia (Mai et al, 2009). En el caso de la vía SPT6/hTERT, el

silenciamiento de SPT6 produce una inhibición de hTERT dando lugar a un descenso en la proliferación tumoral y un aumento de la apoptosis en líneas celulares de CCR. Por el contrario, el aumento de su expresión produce la activación de hTERT dando lugar a un fenotipo más agresivo (Diao et al, 2021).

- **SSRP1:** La subunidad del complejo FACT SSRP1, es una proteína que en humanos está codificada por el gen *SSRP*. Se encarga de la organización de los nucleosomas y actúa como coactivador transcripcional de p63/TP53 (Keller et al, 2001). Esta proteína está sobreexpresada en múltiples neoplasias (Liao et al, 2017; Ding et al, 2016) y se ha asociado con una menor supervivencia. Un estudio realizado en líneas celulares de CCR mostró una asociación entre los niveles de expresión de SSRP1 y la activación de la vía PI3K-AKT (Wang et al, 2019), aunque también se ha descrito su acción sobre las vías como WNT/ $\beta$ -catenina, NF- $\kappa$ B o Myc. Además, los altos niveles de SSRP1 se asocian con una mayor resistencia al tratamiento con 5FU (Song et al, 2020). Por lo tanto, SSRP1 no sólo se ha asociado a neoplasias más agresivas y por lo tanto con mayor capacidad de diseminación, sino también con fenómenos de quimiorresistencia. Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio, apoyan su papel como un posible biomarcador de riesgo de recaída.

**CLUSTER 20:** Este *cluster* 20 está formado por las proteínas ECHS1 y MCCC2 (Figura 138).

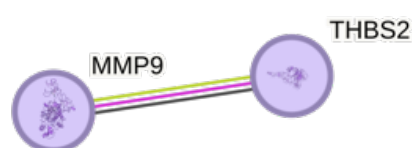


**Figura 138.** Representación del *cluster* 20 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **ECHS1:** La enoil coenzima A hidratasa de cadena corta 1 mitocondrial está codificada por el gen *ECHS1*. Esta proteína media el segundo paso de la vía de la beta-oxidación de los ácidos grasos mitocondriales (Yamada et al, 2015; Haberman et al, 1998). La expresión de ECHS1 se ha asociado con el desarrollo de múltiples tumores incluyendo el cáncer de mama, próstata o colon (Zhao et al, 2015). En CCR su interacción con la vía de PI3K-AKT y GSK $\beta$  promueve la proliferación y diseminación tumoral (Li et al, 2021). Además, Xie et al. evaluaron los niveles de expresión de ECHS1 en muestras de tejido de CCR mediante inmunohistoquímica y encontraron una mayor expresión de ECHS1 en aquellos tumores con menor grado de diferenciación (Xie et al, 2014). Su sobreexpresión en CCR también se asoció con una menor supervivencia (Li et al, 2021), por lo que se postula como un posible biomarcador.

- **MCCC2:** La cadena beta de la metilcromonil COA carboxilasa mitocondrial está codificada por el gen *MCCC2*. Es una proteína clave en el catabolismo de la leucina y el ácido isovalérico (Chu et al, 2007). Esta proteína se encuentra aumentada en el cáncer de mama y CC. Su mayor expresión se asocia con una menor supervivencia (Liu et al, 2019; Dai et al, 2020) a través de la participación en la regulación de la dinámica mitocondrial y del mantenimiento de los telómeros (Liu et al, 2023). Por todo ello, se postula como un posible biomarcador.

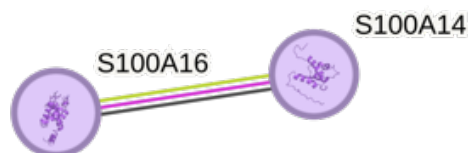
**CLUSTER 21:** Este *cluster* 21 está formado por las proteínas MMP9 y THBS2 (Figura 139). Ambas proteínas están implicadas en fenómenos de transición epitelio-mesénquima.



**Figura 139.** Representación del *cluster* 21 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **MMP9:** La metaloproteinasas de matriz-9 es una enzima que pertenece a la familia de las metaloproteinasas de zinc implicadas en la degradación de la matriz extracelular y en el control de la migración leucocitaria (Tschesche et al, 1992). Recientemente, Buttacavoli et al. evaluaron la expresión diferencial de las distintas metaloproteinasas en tejido normal y tumoral de colon. Estas proteínas y en concreto MMP2 y MMP9, se encuentran poco expresadas en los tejidos normales frente al tejido tumoral. Su papel en el desarrollo tumoral se debe a que son inductores de fenómenos de transición epitelio-mesénquima a través de su actividad proteolítica sobre las proteínas de la matriz y promueven mecanismos de evasión del sistema inmunitario (Buttacavoli et al, 2021). De hecho, los altos niveles de MMP9 detectados en el suero de pacientes con CCR se asociaron a una menor supervivencia y a la presencia de enfermedad a distancia, pudiéndose considerar un marcador de mal pronóstico (Hong et al, 2022). Por este motivo, en los últimos años, se están desarrollando mecanismos de inhibición de estas proteínas para el control del crecimiento tumoral (Tong et al, 2016).
- **THBS2:** La trombospondina-2 es una glicoproteína que media en las interacciones célula-célula y célula-matriz. También tiene un papel en el control de la angiogénesis al constituir un ligando de CD36 (Koch et al, 2011). Estudios recientes han descritos que THBS2 promueve la progresión tumoral en CCR mediante la inducción de fenómenos de transición epitelio-mesénquima (Zhang et al, 2021; Li et al, 2024). De hecho, altos niveles de THBS2 en CCR se han asociado con una menor supervivencia en múltiples estudios (Qu et al, 2022; He et al, 2022), siendo un posible marcador de mal pronóstico.

**CLUSTER 22:** Este *cluster* 22 está formado por las proteínas S100A16 y S100A14 (Figura 140).



**Figura 140.** Representación del *cluster* 22 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- S100A14:** La proteína de unión al calcio S100 A14 es una proteína que tiene un papel clave en el control del ciclo celular a través de la regulación de los niveles de p53 (Jin et al, 2011) y MMP2 (Chen et al, 2012). Esta proteína está implicada en fenómenos de progresión tumoral a través del control de la apoptosis y de fenómenos de migración tumoral. Su función como supresor tumoral u oncoproteína puede variar en función de las circunstancias. Diamantopoulou et al. analizaron los niveles de esta proteína en pacientes con CCR; aunque la expresión inmunohistoquímica de S100A14 en las muestras de tumores de CCR avanzados es baja, la supervivencia fue peor en los pacientes con niveles muy elevados de S100A14 (Diamantopoulou et al, 2020), postulándose como un posible biomarcador. Recientemente se han analizado los niveles de esta proteína y su correlación con la expresión de PDL1; los altos niveles de S100A14 se asocian con una ausencia de expresión de PDL1 pudiendo considerarse un marcador de resistencia (Min et al, 2022).

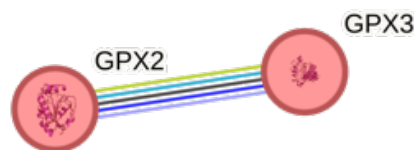
**CLUSTER 23:** Este *cluster* 23 está formado por las proteínas ACTR2 y ARPC5L que forman parte del complejo Arp2/3 implicado en el control de la disposición de la actina en el citoesqueleto de las células (Figura 141).



**Figura 141.** Representación del *cluster* 23 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

Aunque hay estudios que han correlacionado los altos niveles de estas proteínas con una menor supervivencia en tumores como el hepatocarcinoma (Huang et al, 2021) o el cáncer gástrico (Sun et al, 2014), estas proteínas no se han analizado en CCR. Sin embargo, en el CCR se ha descrito la implicación de Arp2/3 con fenómenos de invasión tumoral (Otsubo et al, 2004). Arp 2/3 tiende a expresarse más en las células estromales del foco de invasión del tumor lo que sugiere un papel facilitador del entorno a través del control del citoesqueleto.

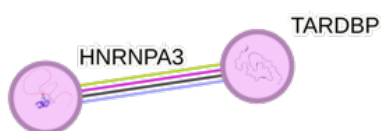
**CLUSTER 24:** Este *cluster* 24 está formado por las proteínas GPX2 y GPX3 (Figura 142).



**Figura 142.** Representación del *cluster* 24 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

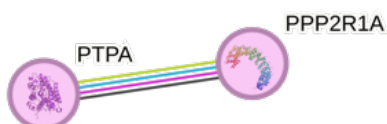
- **GPX2:** La glutatión peroxidasa 2 es una enzima que participa en el control de la homeostasis celular a través de la reducción de hidroperóxidos dependientes de glutatión (Schwarz et al, 2023). Esta enzima se encuentra habitualmente expresada en las células del tracto gastrointestinal y de manera más elevada en las células tumorales de cáncer de pulmón, cáncer urotelial de vejiga y hepatocarcinoma (Florian et al, 2001). Varios estudios han evaluado el papel pronóstico de esta proteína en CCR mostrando una clara relación entre sus niveles de expresión inmunohistoquímica y la supervivencia. Los altos niveles de GPX2 se asociaron con neoplasias con características histopatológicas más desfavorables y con una menor supervivencia (Brzozowa-Zasada et al, 2023). Además, la inhibición de GPX2 en líneas celulares de CCR se asoció con una disminución del crecimiento tumoral mediado principalmente por la inhibición de la vía WNT/ $\beta$ -catenina y por el aumento de la apoptosis debido a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (Wu et al, 2024; Emmink et al, 2014).
- **GPX3:** La glutatión peroxidasa 3 es una enzima que funciona en la desintoxicación del peróxido de hidrógeno protegiendo a las células del daño oxidativo (Esworthy et al, 1991). Aunque puede tener un papel supresor en algunos tumores, sus altos niveles de expresión se han correlacionado con un peor pronóstico en CCR (Chen et al, 2023) o cáncer de mama (Hu et al, 2023). Además, en CCR la ausencia de expresión de GPX3 se ha asociado a una mayor sensibilidad a terapias con platino (Pelosof et al, 2017). Por lo tanto, parece que estos tumores no sólo tendrán un peor pronóstico, sino que probablemente obtengan menor beneficio de un tratamiento basado en platino.

**CLUSTER 25:** Este *cluster* 25 está formado por las proteínas HNRNPA3 y TARDBP (Figura 143). Ambas proteínas están implicadas en el procesamiento y transporte del ARN. Un estudio reciente de Amano et al. mostró que la alta expresión de HNRNPA3 tras cistectomía en el carcinoma urotelial de vejiga se asoció con neoplasias más agresivas (Amano et al, 2021). Sin embargo, no se han realizado otros estudios en CCR que evalúen el papel de estas proteínas como factor pronóstico.



**Figura 143.** Representación del *cluster 25* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

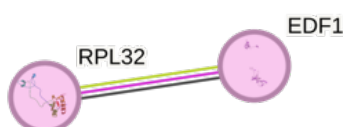
**CLUSTER 26:** Este *cluster 26* está formado por las proteínas PTPA y PPP2R1A (Figura 144).



**Figura 144.** Representación del *cluster 26* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **PTPA:** Se trata de la proteína activadora de la serina/treonina fosfatasa 2A. Esta proteína regula la actividad de PP2A que a su vez controla la dediferenciación de las células de CCR a través del control de la vía Hippo (Wang et al, 2023).
- **PPP2R1A:** Se trata de la isoforma alfa de la subunidad A reguladora de la serina/treonina fosfatasa 2A. Aunque los datos acerca del potencial oncogénico son escasos, un estudio evaluó la expresión génica diferencial entre las metástasis y el tumor primario de pacientes con CCR. Las mutaciones en los genes *PPP2R1A* (*E370X*), *SETD2* (*I1608V*) y *SMAD4* (*G382T*) fueron características de las metástasis hepáticas pudiendo ser puntos clave en la diseminación tumoral (Lu et al, 2016) y por lo tanto como factor pronóstico.

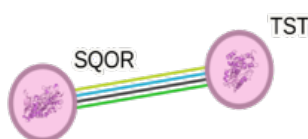
**CLUSTER 27:** Este *cluster 27* está formado por las proteínas RPL32 y EDF1 (Figura 145).



**Figura 145.** Representación del *cluster 27* de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **RPL32:** Esta proteína forma parte de la subunidad 60S del ribosoma y está implicada en la síntesis de proteínas. Su actividad como oncoproteína se ha descrito en cáncer de pulmón y en hepatocarcinoma a través del control de la degradación de p53 (Xie et al, 2020; Hou et al, 2023). De hecho, su inhibición produce un aumento de la apoptosis tumoral y una disminución del crecimiento tumoral y su capacidad de diseminación (Hou et al, 2023).

**CLUSTER 28:** Este *cluster* 28 está formado por las proteínas SQOR y TST (Figura 146). Estas proteínas están implicadas en el metabolismo del azufre.



**Figura 146.** Representación del *cluster* 28 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **TST:** La tiosulfato-sulfurotransferasa es una enzima que media la detoxificación de sustancias como el H<sub>2</sub>S en la mucosa del colon. Un estudio evaluó los niveles de esta proteína en líneas celulares de cáncer de colon y tejido colónico normal. La expresión de TST se encontró conservada en el tejido colónico normal mientras que disminuye de manera drástica en el CC. Esto produce una detoxificación ineficaz y promueve la dediferenciación celular (Ramasamy et al, 2006). En nuestra serie, esta proteína aparece expresada de manera exclusiva en los pacientes que presentan recaída por lo que es posible que el mecanismo que rige su evolución sea otro. Además, otros estudios en cáncer de mama han correlacionado los altos niveles de TST con un peor pronóstico (Ansar et al, 2022). En base a estos datos, no podemos establecer de manera clara la TST como un posible marcador de riesgo de recaída.

**CLUSTER 29:** Este *cluster* 29 está formado por las proteínas AP2B1 y AP2M1 (Figura 147). Estas proteínas son subunidades que forman parte del complejo adaptador de AP2, una proteína que actúa sobre la membrana celular para internalizar la carga en la endocitosis mediada por clatrina (Marcello et al, 2013).



**Figura 147.** Representación del *cluster* 29 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

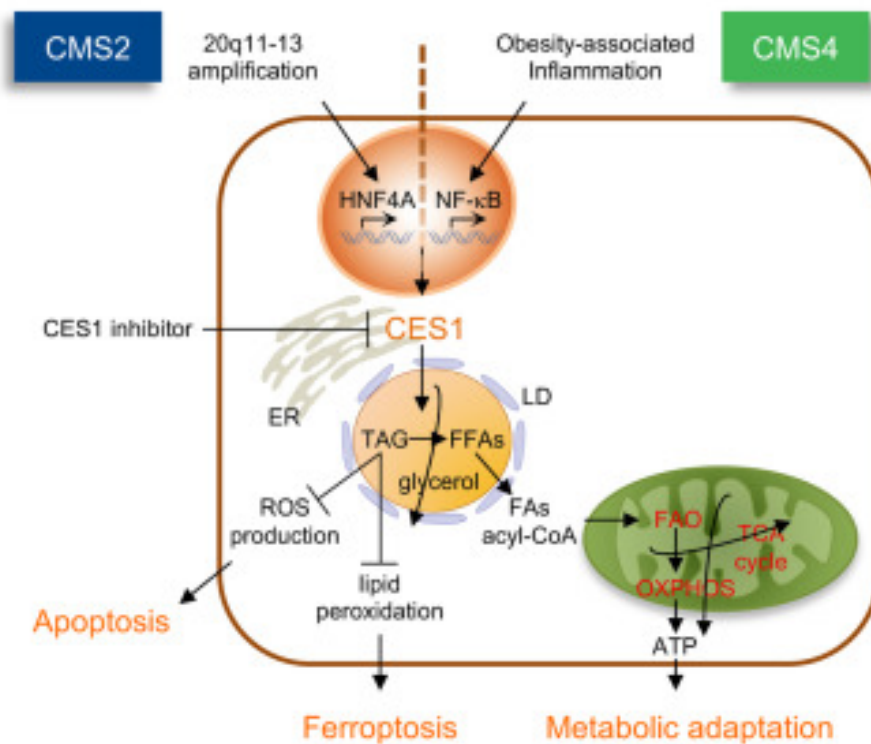
- **AP2M1:** En un estudio reciente Bao-Caamano et al. se analizaron células tumorales circulantes de pacientes con CC metastásico. Se recogieron las muestras al inicio del tratamiento, durante el tratamiento y a la progresión identificándose cambios en la metilación del ADN de las células tumorales circulantes que asociaron cambios en la expresión génica (Bao-Caamano et al, 2023). AP2M1 se describió como un posible marcador de resistencia a la quimioterapia a través del control del proceso de senescencia mediado por la vía cdk4–EZH2–AP2M1 (Le Duff et al, 2018). Por lo tanto, podríamos hipotetizar que AP2M1 podría tratarse de un marcador de resistencia intrínseca a la quimioterapia.

**CLUSTER 30:** Este *cluster* 30 está formado por las proteínas CES1 y CES2 (Figura 148). Estas proteínas forman parte de la familia de las hidrolasas.



**Figura 148.** Representación del *cluster* 30 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

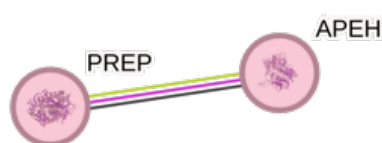
- CES1:** La carboxilesterasa 1 del hígado, también conocida como carboxilesterasa 1, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *CES1*. Esta proteína se encuentra en todos los tejidos, siendo más abundante en el hígado y menos en el tracto digestivo. Se ha descrito su papel como oncoproteína en CCR diversos estudios. CES1 favorece la inflamación y la dediferenciación celular a través de alteraciones en el metabolismo de los lípidos (Taniguchi et al, 2018). Se ha encontrado un aumento de expresión de esta proteína en los subtipos moleculares CMS2 y CMS4 mediado por la amplificación de HNF4A y la vía de NFκB, respectivamente (Capece et al, 2021) (Figura 149). La presencia de niveles más elevados de CES1 en estos pacientes se ha asociado a una menor supervivencia (Wang et al, 2016), por lo que lo postula como un posible biomarcador.



**Figura 149.** Representación esquemática de la regulación de la expresión de CES1 por NF-κB y HNF4A en los subtipos de CRC CMS4 y CMS2, respectivamente. Imagen tomada con permiso del artículo de Capece et al, 2021.

- **CES2:** La esterasa hepática de la cocaína o cocaetileno es un metabolito sintetizado por el hígado implicado en la desintoxicación de xenobióticos y en la activación de profármacos éster y amida. El irinotecan es un tratamiento citotóxico ampliamente empleado en pacientes con CCR y para su activación necesita su activación por CES2 (Sanghani et al, 2003). Sus niveles de expresión parecen contribuir a la respuesta inducida por este tratamiento (Xu et al, 2002). La sobreexpresión de esta proteína también se ha relacionado con la resistencia a oxaliplatino y una menor supervivencia en CCR (Zhang et al, 2020).

**CLUSTER 31:** Este *cluster* 31 está formado por 2 enzimas con actividad catalítica como PREP y APEH (Figura 150).



**Figura 150.** Representación del *cluster* 31 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.

- **PREP:** La prolil-endopeptidasa es una enzima proteolítica que en humanos está codificada por el gen *PREP*. Se ha descrito una elevada actividad de esta proteína en numerosos tumores (Myöhänen et al, 2012; Larrinaga et al, 2014), considerándose una proteína clave en la angiogénesis (Mehranfard et al, 2021; Myöhänen et al, 2011). Larrinaga et al. evaluaron los niveles de esta proteína en plasma en pacientes con CCR; estos autores encontraron niveles más elevados de PREP en los pacientes con neoplasias más avanzadas y agresivas (Larrinaga et al, 2014). Además, la inhibición selectiva de PREP se ha asociado a menor crecimiento tumoral (Jackson et al, 2015) a través del bloqueo de la vía IRS1-AKT-mTORC (Perez et al, 2020).
- **APEH:** La acilpéptido hidrolasa es una proteína codificada por el gen *APEH*. Esta proteína se ha expresado de manera más frecuente en los tumores con mutaciones patogénicas en *KRAS*. De hecho, la inhibición de APEH en tejidos tumorales de cáncer de páncreas con mutaciones en KRASG12V produce una deslocalización de la proteína inhibiendo la proliferación celular a través de la vía RAS-RAF-MAPK (Tan et al, 2019). Estos datos sugieren una mayor dependencia de esta vía en los tumores de CC con recaída y se propone a APEH como una posible diana terapéutica.

Tabla 27. Resumen del análisis de las proteínas que se postulan como biomarcadores expresadas de manera exclusiva en el grupo *Recaída*.

<i>Cluster</i>	Proteínas	Principales funciones biológicas
<i>Cluster 1</i>	EIF5, EIF4H, EIF4G1, EIF3B, EIF3D, EIF3F, PDCD4	Síntesis proteica.
<i>Cluster 2</i>	COX5B, COX6B1, NDUFA4, NDUFA5, UQCRCQ, CYC1	Obtención de energía.
<i>Cluster 3</i>	QARS1M, GARS1, LARS1, IARS1, EPRS1, FARSB	Catálisis del ARNt.
<i>Cluster 4</i>	SF3B1, LSMB, SNRPA1	<i>Splicing</i> del ARNm.
<i>Cluster 5</i>	NAGK, HEXB, GNS	Catabolismo de los carbohidratos.
<i>Cluster 6</i>	PKP3, DSC2, DSG3	Adhesión celular.
<i>Cluster 7</i>	PSMB4, PSMD11, PSMC1	Degradación proteica.
<i>Cluster 8</i>	GBE1, GYS1, UGP2	Síntesis de glucógeno.
<i>Cluster 9</i>	SEC23B, SAR1A, PDCD6	Transporte vesicular.
<i>Cluster 10</i>	TRRAP, RUVBL2, RUVBL1	Recombinación homóloga.
<i>Cluster 11</i>	ITGA6, LAMA5	Adhesión celular.
<i>Cluster 12</i>	ADSS2 y NT5	Síntesis y catabolismo del AMP.
<i>Cluster 13</i>	BAX, HK3	Glucólisis.
<i>Cluster 14</i>	C1S, C2	Respuesta inmune.
<i>Cluster 15</i>	CST2, CST1	Inhibición de proteasas.
<i>Cluster 17</i>	S100A10, PLG	Regeneración tisular, respuesta inmune, angiogénesis y diseminación tumoral.
<i>Cluster 19</i>	SUPT6H, SSRP1	Empaquetamiento del ADN y regulación de ARNm.
<i>Cluster 20</i>	ECHS1, MCCC2	Beta-oxidación de ácidos grasos.
<i>Cluster 21</i>	MMP9, THBS2	Fenómenos de transición epitelio-mesénquima.
<i>Cluster 22</i>	S100A16, S100A14	Control de ciclo celular.
<i>Cluster 24</i>	GPX2, GPX3	Homeostasis celular.
<i>Cluster 26</i>	PTPA, PPP2R1A	Control de ciclo celular.
<i>Cluster 27</i>	RPL32, EDF1	Síntesis proteica.
<i>Cluster 28</i>	SQOR, TST	Metabolismo del azufre.
<i>Cluster 29</i>	AP2B1, AP2M1	Endocitosis mediada por clatrina.
<i>Cluster 30</i>	CES1, CES2	Metabolismo de lípidos.
<i>Cluster 31</i>	PREP, APEH	Proteólisis.

En negrita se resaltan aquellas proteínas que se postulan como posibles biomarcadores.



# Conclusiones

---



## CONCLUSIONES

### Conclusión general:

El estudio clínico-patológico, inmunohistoquímico y molecular de los tumores de los pacientes con CC confirmó la perforación intestinal, la obstrucción, la invasión linfocascular y la invasión perineural como marcadores independientes de peor pronóstico, validando la representatividad de esta serie. Además, el análisis proteómico evidenció biomarcadores de riesgo de recaída tanto independientes como dependientes de la lateralidad del tumor, así como biomarcadores de buen pronóstico.

### Conclusiones específicas:

1. De acuerdo con los datos de nuestra serie de pacientes, se propone el aumento de la expresión de las proteínas integrina B1, FBN1, CACYBP, TUFM, SLC25A5 como posibles biomarcadores de riesgo de recaída independientes de la lateralidad.
2. Se propone la disminución de la expresión de las proteínas EEF1D, EEF1G, A2M, APOH, ATP5F1B, CTGS, CYCS, DDOST, EEF2, FAU, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, H4C6, SERPING1, XRCC5 como posibles biomarcadores de riesgo de recaída independientes de la lateralidad.
3. En los CC existe una expresión proteica diferencial en función de la lateralidad:
  - Las proteínas EEF1D, EEF1G, RPL14, TKT, LDHA, GSTO1, ENO1, EIF4A1, A2M, APOH, CTSG, DDOST, EEF2, FAU, HSPA5, HSP90AA1, HSPA8, KHSRP, KNG1, ACAA2; MPO, AZU1, COPA, COPB1, H4C6, XRCC5, DHX9, ALDH2, CRB1, SERPINC1, SERPING1, SLC25A5 se encuentran más expresadas en los tumores localizados en el lado derecho.
  - Las proteínas FBN1, ATP5F1B, EIF2S1, TUFM, ALDOC, HMGCS2, PARP1, CACYBP se encuentran más expresadas en los tumores localizados en el lado izquierdo.
4. Se han definido las siguientes proteínas como posibles biomarcadores de riesgo dependientes de la lateralidad:
  - La infraexpresión de RACK1, RPL14, GSTO1, HMGCS2, ACAA2, ACADVL, DHX9, ALDH2, CRB1, KNG1, AKR1A1, HPX, SERPINC1 se postulan posibles biomarcadores de riesgo en los tumores localizados en el lado derecho.
  - La infraexpresión de COPA se postula como un posible biomarcador de riesgo en los tumores localizados en el lado izquierdo.

5. Las 48 proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Sin Recaída*, y que están implicadas mayoritariamente en el control de la respuesta inmune, podrían constituir marcadores de buen pronóstico.
  - Dentro de este grupo se postulan como posibles biomarcadores de buen pronóstico: M3K9, AKR7A, SLPI, GSTM1, Galectina-7, ABAT, LSAMP, RTN1, LYPD8, CADM2, FBXO30, GGH, ATP6V0A1, CYRIB, DUX4, NDRG2.
6. Se han encontrado 302 proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo *Recaída*.
  - Dentro de este grupo se postulan como posibles biomarcadores de mal pronóstico: EIF3B, EIF3D, EIF3F, EIF4G1, EIF4H, EIF5, COX5B, COX6B1, NDUFA4, LARS1, EPRS1, SF3B1, SNRPA1, GBE1, UGP2, GYS1, SAR1A, PDCD6, TRRAP, RUVBL1/2, LAMA5, ITGA6, NT5, HK3, C1S, CES2, CST1, CST2, PLG, S100A10, SSRP1, ECHS1, MCCC2, MMP9, SUPT6H, THBS2, S100A14, GPX2, GPX3, PPP2R1A, RPL32, TST, CES1, AP2M1, PSMC1, PSMD11, HEXB, PSMB4, DSG3, PREP, APEH.
7. La realización de una cirugía urgente, el debut como obstrucción o perforación, así como la presencia de invasión linfovascular y perineural se asociaron a una menor supervivencia en nuestra serie, confirmándose como factores clínicos de mal pronóstico.
8. La recaída a nivel hepático y peritoneal implicó un peor pronóstico en nuestra serie frente a la recaída pulmonar o ganglionar exclusiva.
9. En nuestra serie, la presencia de mutaciones en *BRAF*, *NRAS*, *KRAS*, *TERT* y *p53* no tuvo implicaciones pronósticas.

# Bibliografía

---



## BIBLIOGRAFÍA

1. Abdullah-Soheimi SS, Lim BK, Hashim OH, Shuib AS. Patients with ovarian carcinoma excrete different altered levels of urine CD59, kininogen-1 and fragments of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 and albumin. *Proteome Sci.* 2010 Nov 17;8:58.
1. Aelvoet AS, Buttitta F, Ricciardiello L, Dekker E. Management of familial adenomatous polyposis and MUTYH-associated polyposis; new insights. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2022 Jun-Aug;58-59:101793.
2. Agliarulo I, Matassa DS, Amoroso MR, Maddalena F, Sisinni L, Sepe L, et al. TRAP1 controls cell migration of cancer cells in metabolic stress conditions: Correlations with AKT/p70S6K pathways. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Oct;1853(10 Pt A):2570-9.
3. Ahel I, Ahel D, Matsusaka T, Clark AJ, Pines J, Boulton SJ, et al. Poly(ADP-ribose)-binding zinc finger motifs in DNA repair/checkpoint proteins. *Nature.* 2008 Jan 3;451(7174):81-5.
4. Al-Sakkaf L, Pozzilli P, Tarn AC, Schwarz G, Gale EA, Bottazzo GF. Persistent reduction of CD4/CD8 lymphocyte ratio and cell activation before the onset of type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia.* 1989 May;32(5):322-5.
5. Amano N, Matsumoto K, Shimizu Y, Nakamura M, Tsumura H, Ishii D, et al. High HNRNPA3 expression is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients treated with radical cystectomy. *Urol Oncol.* 2021 Mar;39(3):196.e1-196.e7.
6. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al (eds). *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. AJCC, Switzerland, 2017.
7. Amoroso MR, Matassa DS, Agliarulo I, Avolio R, Lu H, Sisinni L, et al. TRAP1 downregulation in human ovarian cancer enhances invasion and epithelial-mesenchymal transition. *Cell Death Dis.* 2016 Dec 15;7(12):e2522.
8. Anderson SF, Schlegel BP, Nakajima T, Wolpin ES, Parvin JD. BRCA1 protein is linked to the RNA polymerase II holoenzyme complex via RNA helicase A. *Nat Genet.* 1998 Jul;19(3):254-6.
9. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004 Jun 3;350(23):2343-51.

10. André T, de Gramont A, Vernerey D, Chibaudel B, Bonnetain F, Tijeras-Raballand A, et al. Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol*. 2015 Dec 10;33(35):4176-87.
11. Anger AM, Armache JP, Berninghausen O, Habeck M, Subklewe M, Wilson DN, et al. Structures of the human and *Drosophila* 80S ribosome. *Nature*. 2013 May 2;497(7447):80-5.
12. Ansar M, Thu LTA, Hung CS, Su CM, Huang MH, Liao LM, et al. Promoter hypomethylation and overexpression of TSTD1 mediate poor treatment response in breast cancer. *Front Oncol*. 2022 Nov 7;12:1004261.
13. Antonacopoulou AG, Grivas PD, Skarlas L, Kalofonos M, Scopa CD, Kalofonos HP. POLR2F, ATP6V0A1 and PRNP expression in colorectal cancer: new molecules with prognostic significance? *Anticancer Res*. 2008 Mar-Apr;28(2B):1221-7.
14. Aoyama T, Souri M, Ueno I, Kamijo T, Yamaguchi S, Rhead WJ, et al. Cloning of human very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase and molecular characterization of its deficiency in two patients. *Am J Hum Genet*. 1995 Aug;57(2):273-83.
15. Arakaki TL, Pezza JA, Cronin MA, Hopkins CE, Zimmer DB, Tolan DR, et al. Structure of human brain fructose 1,6-(bis)phosphate aldolase: linking isozyme structure with function. *Protein Sci*. 2004 Dec;13(12):3077-84.
16. Aratani S, Fujii R, Oishi T, Fujita H, Amano T, Ohshima T, et al. Dual roles of RNA helicase A in CREB-dependent transcription. *Mol Cell Biol*. 2001 Jul;21(14):4460-9.
17. Argilés G, Taberero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020 Oct;31(10):1291-1305.
18. Arnold D, Lueza B, Douillard JY, Peeters M, Lenz HJ, Venook A, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol*. 2017 Aug 1;28(8):1713-29.
19. Arnold M, Abnet CC, Neale RE, Vignat J, Giovannucci EL, McGlynn KA, et al. Global Burden of 5 Major Types of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology*. 2020 Jul;159(1):335-349.e15.
20. Arora M, Kumari S, Singh J, Chopra A, Chauhan SS. *PAXX*, Not *NHEJ1* Is an Independent Prognosticator in Colon Cancer. *Front Mol Biosci*. 2020 Oct 23;7:584053.

21. Aulak KS, Davis AE 3rd, Donaldson VH, Harrison RA. Chymotrypsin inhibitory activity of normal C1-inhibitor and a P1 Arg to His mutant: evidence for the presence of overlapping reactive centers. *Protein Sci.* 1993 May;2(5):727-32.
22. Baba Y, Noshok K, Shima K, Freed E, Irahara N, Philips J, et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2009 Jul 15;15(14):4665-73.
23. Bae JM, Lee TH, Cho NY, Kim TY, Kang GH. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol.* 2015 Feb 7;21(5):1457-67.
24. Bagshaw PF, Allardyce RA, Frampton CM, Frizelle FA, Hewett PJ, McMurrick PJ, et al. Long-term outcomes of the Australasian randomized clinical trial comparing laparoscopic and conventional open surgical treatments for colon cancer: the Australasian Laparoscopic Colon Cancer Study trial. *Ann Surg.* 2012 Dec;256(6):915-9.
25. Bal O, Ekinci AS, Dogan M, Atay C, Demirci A, Oksuzoglu B, et al. The prognostic and predictive significance of plasma type 1 plasminogen activator inhibitor and endoglin in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab-containing chemotherapy. *J Cancer Res Ther.* 2019 Jan-Mar;15(1):48-53.
26. Balsa E, Marco R, Perales-Clemente E, Szklarczyk R, Calvo E, Landázuri MO, Enríquez JA. NDUFA4 is a subunit of complex IV of the mammalian electron transport chain. *Cell Metab.* 2012 Sep 5;16(3):378-86.
27. Banks J, Rashid A, Wilson TR, Challand CP, Lee MJ. Process and outcome differences in the care of patients undergoing elective and emergency right hemicolectomy. *Ann R Coll Surg Engl.* 2024 Jul 31.
28. Bao-Caamano A, Costa-Fraga N, Cayrefourcq L, Rodriguez-Casanova A, Muínelo-Romay L, et al. Epigenomic reprogramming of therapy-resistant circulating tumor cells in colon cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2023 Dec 21;11:1291179.
29. Barad M, Csukasi F, Bosakova M, Martin JH, Zhang W, Paige Taylor S, et al. Biallelic mutations in LAMA5 disrupts a skeletal noncanonical focal adhesion pathway and produces a distinct bent bone dysplasia. *EBioMedicine.* 2020 Dec;62:103075.
30. Barczyk K, Kreuter M, Pryjma J, Booy EP, Maddika S, Ghavami S, et al. Serum cytochrome c indicates in vivo apoptosis and can serve as a prognostic marker during cancer therapy. *Int J Cancer.* 2005 Aug 20;116(2):167-73.
31. Barøy T, Kresse SH, Skårn M, Stabell M, Castro R, Lauvrak S, et al. Reexpression of LSAMP inhibits tumor growth in a preclinical osteosarcoma model. *Mol Cancer.* 2014 Apr 28;13:93.

32. Barresi V, Reggiani Bonetti L, Ieni A, Domati F, Tuccari G. Prognostic significance of grading based on the counting of poorly differentiated clusters in colorectal mucinous adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2015 Nov;46(11):1722-9.
33. Basu S, Thorat R, Dalal SN. MMP7 is required to mediate cell invasion and tumor formation upon Plakophilin3 loss. *PLoS One*. 2015 Apr 13;10(4):e0123979.
34. Bax DV, Bernard SE, Lomas A, Morgan A, Humphries J, Shuttleworth CA, et al. Cell adhesion to fibrillin-1 molecules and microfibrils is mediated by alpha 5 beta 1 and alpha v beta 3 integrins. *J Biol Chem*. 2003 Sep 5;278(36):34605-16.
35. Beck SH, Jelsig AM, Yassin HM, Lindberg LJ, Wadt KAW, Karstensen JG. Intestinal and extraintestinal neoplasms in patients with NTHL1 tumor syndrome: a systematic review. *Fam Cancer*. 2022 Oct;21(4):453-62.
36. Bednarczyk M, Muc-Wierzgoń M, Walkiewicz K, Kokot T, Fatyga E, Mazurek U. Profile of gene expression of TLR-signaling pathways in colorectal cancer tissues. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2017 Sep;30(3):322-26.
37. 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 Apr;18(4):325-32.
38. Benedix F, Meyer F, Kube R, Gastinger I, Lippert H. Karzinome des rechten und linken Kolons - verschiedene Tumorentitäten? [Right- and left-sided colonic cancer - different tumour entities]. *Zentralbl Chir*. 2010 Aug;135(4):312-7. German.
39. Benson AB, Venook AP, Adam M, Chang G, Chen YJ, Ciombor KK, et al. Colon Cancer, Version 3.2024, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2024 Jun;22(2 D):e240029.
40. Bernstein H, Bernstein C. Bile acids as carcinogens in the colon and at other sites in the gastrointestinal system. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2023 Jan;248(1):79-89.
41. Biondo S, Gálvez A, Ramírez E, Frago R, Kreisler E. Emergency surgery for obstructing and perforated colon cancer: patterns of recurrence and prognostic factors. *Tech Coloproctol*. 2019 Dec;23(12):1141-61.
42. Biondo S, Kreisler E, Millan M, Fraccalvieri D, Golda T, Martí Ragué J, et al. Differences in patient postoperative and long-term outcomes between obstructive and perforated colonic cancer. *Am J Surg*. 2008 Apr;195(4):427-32.
43. Biterge-Sut B. Alterations in Eukaryotic Elongation Factor complex proteins (EEF1s) in cancer and their implications in epigenetic regulation. *Life Sci*. 2019 Dec 1;238:116977.

44. Bodaszewska-Lubas M, Liao Y, Zegar A, Szelest O, Dobrucki J, Bulek K. Dominant-Negative Form of SIGIRR: SIGIRR<sup>ΔE8</sup> Promotes Tumor Growth Through Regulation of Metabolic Pathways. *J Interferon Cytokine Res.* 2022 Sep;42(9):482-92.
45. Bodreddigari S, Jones LK, Egner PA, Groopman JD, Sutter CH, Roebuck BD, et al. Protection against aflatoxin B1-induced cytotoxicity by expression of the cloned aflatoxin B1-aldehyde reductases rat AKR7A1 and human AKR7A3. *Chem Res Toxicol.* 2008 May;21(5):1134-42.
46. Boucas J, Fritz C, Schmitt A, Riabinska A, Thelen L, Peifer M, et al. Label-Free Protein-RNA Interactome Analysis Identifies Khsp Signaling Downstream of the p38/Mk2 Kinase Complex as a Critical Modulator of Cell Cycle Progression. *PLoS One.* 2015 May 20;10(5):e0125745.
47. Bouchard L, Robert MF, Vinarov D, Stanley CA, Thompson GN, Morris A, et al. Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase deficiency: clinical course and description of causal mutations in two patients. *Pediatr Res.* 2001 Mar;49(3):326-31
48. Boyle L, Wamelink MMC, Salomons GS, Roos B, Pop A, Dauber A, et al. Mutations in TKT Are the Cause of a Syndrome Including Short Stature, Developmental Delay, and Congenital Heart Defects. *Am J Hum Genet.* 2016 Jun 2;98(6):1235-42.
49. Bratslavsky G, Sudarshan S, Neckers L, Linehan WM. Pseudohypoxic pathways in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 Aug 15;13(16):4667-71.
50. Briata P, Bordo D, Puppo M, Gorlero F, Rossi M, Perrone-Bizzozero N, Gherzi R. Diverse roles of the nucleic acid-binding protein KHSRP in cell differentiation and disease. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2016 Mar-Apr;7(2):227-40.
51. Brooks TA, Hurley LH. Targeting MYC Expression through G-Quadruplexes. *Genes Cancer.* 2010 Jun;1(6):641-49.
52. Brunelli L, Caiola E, Marabese M, Brogginini M, Pastorelli R. Capturing the metabolomic diversity of KRAS mutants in non-small-cell lung cancer cells. *Oncotarget.* 2014 Jul 15;5(13):4722-31.
53. Brzozowa-Zasada M, Ianaro A, Piecuch A, Michalski M, Matysiak N, Stęplewska K. Immunohistochemical Expression of Glutathione Peroxidase-2 (Gpx-2) and Its Clinical Relevance in Colon Adenocarcinoma Patients. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 27;24(19):14650.
54. Buart S, Terry S, Noman MZ, Lanoy E, Boutros C, Fogel P, et al. Transcriptional response to hypoxic stress in melanoma and prognostic potential of GBE1 and BNIP3. *Oncotarget.* 2017 Oct 30;8(65):108786-801.

55. Bujko M, Kober P, Mikula M, Ligaj M, Ostrowski J, Siedlecki JA. Expression changes of cell-cell adhesion-related genes in colorectal tumors. *Oncol Lett.* 2015 Jun;9(6):2463-70.
56. Bury M, Le Calvé B, Lessard F, Dal Maso T, Saliba J, Michiels C, et al. NFE2L3 Controls Colon Cancer Cell Growth through Regulation of DUX4, a CDK1 Inhibitor. *Cell Rep.* 2019 Nov 5;29(6):1469-81.e9.
57. Buttacavoli M, Di Cara G, Roz E, Pucci-Minafra I, Feo S, Cancemi P. Integrated Multi-Omics Investigations of Metalloproteinases in Colon Cancer: Focus on MMP2 and MMP9. *Int J Mol Sci.* 2021 Nov 17;22(22):12389.
58. Buunen M, Bonjer HJ, Hop WC, Haglund E, Kurlberg G, Rosenberg J, et al. COLOR II. A randomized clinical trial comparing laparoscopic and open surgery for rectal cancer. *Dan Med Bull.* 2009 May;56(2):89-91.
59. Cai SX, Chen WS, Zeng W, Cheng XF, Lin MB, Wang JS. Roles of HDAC2, eIF5, and eIF6 in Lung Cancer Tumorigenesis. *Curr Med Sci.* 2021 Aug;41(4):764-69.
60. Cai Y, Shen X, Lu L, Yan H, Huang H, Gaule P, et al. Bile acid distributions, sex-specificity, and prognosis in colorectal cancer. *Biol Sex Differ.* 2022 Oct 23;13(1):61.
61. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood).* 2018 Feb;243(3):213-21.
62. Camarero N, Mascaró C, Mayordomo C, Vilardell F, Haro D, Marrero PF. Ketogenic HMGCS2 Is a c-Myc target gene expressed in differentiated cells of human colonic epithelium and down-regulated in colon cancer. *Mol Cancer Res.* 2006 Sep;4(9):645-53.
63. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature.* 2012 Jul 18;487(7407):330-7.
64. Canesin G, Di Ruscio A, Li M, Ummarino S, Hedblom A, Choudhury R, et al. Scavenging of Labile Heme by Hemopexin Is a Key Checkpoint in Cancer Growth and Metastases. *Cell Rep.* 2020 Sep 22;32(12):108181.
65. Canesin G, Muralidharan AM, Swanson KD, Wegiel B. HO-1 and Heme: G-Quadruplex Interaction Choreograph DNA Damage Responses and Cancer Growth. *Cells.* 2021 Jul 16;10(7):1801.
66. Capece D, D'Andrea D, Begalli F, Goracci L, Tornatore L, Alexander JL, et al. Enhanced triacylglycerol catabolism by carboxylesterase 1 promotes aggressive colorectal carcinoma. *J Clin Invest.* 2021 Jun 1;131(11):e137845.
67. Capello M, Ferri-Borgogno S, Cappello P, Novelli F.  $\alpha$ -Enolase: a promising therapeutic and diagnostic tumor target. *FEBS J.* 2011 Apr;278(7):1064-74.

68. Catalano V, Loupakis F, Graziano F, Bissoni R, Torresi U, Vincenzi B, et al. Prognosis of mucinous histology for patients with radically resected stage II and III colon cancer. *Ann Oncol*. 2012 Jan;23(1):135-41.
69. Cavallaro PM, Stafford C, Cauley CE, Berger DL, Bordeianou L, Kunitake H, et al. Is Microsatellite Status Associated With Prognosis in Stage II Colon Cancer With High-Risk Features? *Dis Colon Rectum*. 2021 May;64(5):545-54
70. Cerini C, Kerjan P, Astier M, Gratecos D, Mirande M, Sémériva M. A component of the multisynthetase complex is a multifunctional aminoacyl-tRNA synthetase. *EMBO J*. 1991 Dec;10(13):4267-77.
71. Ceruti P, Principe M, Capello M, Cappello P, Novelli F. Three are better than one: plasminogen receptors as cancer theranostic targets. *Exp Hematol Oncol*. 2013 Apr 17;2(1):12.
72. Chadli A, Graham JD, Abel MG, Jackson TA, Gordon DF, Wood WM, et al. GCUNC-45 is a novel regulator for the progesterone receptor/hsp90 chaperoning pathway. *Mol Cell Biol*. 2006 Mar;26(5):1722-30.
73. Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK, Van den Berg JG, Aalbers AG, Sikorska K, et al. Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat Med*. 2020 Apr;26(4):566-76.
74. Chan S, Wang X, Wang Z, Du Y, Zuo X, Chen J, Sun R, Zhang Q, Lin L, Yang Y, Yu Z, Zhao H, Zhang H, Chen W. CTSG Suppresses Colorectal Cancer Progression through Negative Regulation of Akt/mTOR/Bcl2 Signaling Pathway. *Int J Biol Sci*. 2023 Apr 17;19(7):2220-33.
75. Chandler I, Houlston RS. Interobserver agreement in grading of colorectal cancers-findings from a nationwide web-based survey of histopathologists. *Histopathology*. 2008 Mar;52(4):494-9.
76. Chang CY, Wu KL, Chang YY, Liu YW, Huang YC, Jian SF, et al The Downregulation of *LSAMP* Expression Promotes Lung Cancer Progression and Is Associated with Poor Survival Prognosis. *J Pers Med*. 2021 Jun 20;11(6):578.
77. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst*. 2007 Mar 21;99(6):433-41.
78. Chang YS, Wang JX, Chang DW. A meta-analysis of robotic versus laparoscopic colectomy. *J Surg Res*. 2015 May 15;195(2):465-74.
79. Chantaraamporn J, Champattanachai V, Khongmanee A, Verathamjamras C, Prasongsook N, Mingkwan K, et al. Glycoproteomic Analysis Reveals Aberrant Expression of Complement C9 and Fibronectin in the Plasma of Patients with Colorectal Cancer. *Proteomes*. 2020 Sep 22;8(3):26.

80. Chao YK, Peng TL, Chuang WY, Yeh CJ, Li YL, Lu YC, et al. Transketolase Serves a Poor Prognosticator in Esophageal Cancer by Promoting Cell Invasion via Epithelial-Mesenchymal Transition. *J Cancer*. 2016 Aug 12;7(13):1804-11.
81. Chen D, Ji F, Zhou Q, Cheung H, Pan Y, Lau HC, et al. RUVBL1/2 Blockade Targets YTHDF1 Activity to Suppress m6A-Dependent Oncogenic Translation and Colorectal Tumorigenesis. *Cancer Res*. 2024 Sep 4;84(17):2856-72.
82. Chen H, Li K, Li Y, Xie P, He J, Zhang H. An integrative pan-cancer analysis of COPB1 based on data mining. *Cancer Biomark*. 2021;30(1):13-27.
83. Chen H, Peng H, Liu W, Sun Y, Su N, Tang W, et al. Silencing of plasminogen activator inhibitor-1 suppresses colorectal cancer progression and liver metastasis. *Surgery*. 2015 Dec;158(6):1704-13.
84. Chen H, Yuan Y, Zhang C, Luo A, Ding F, Ma J, et al. Involvement of S100A14 protein in cell invasion by affecting expression and function of matrix metalloproteinase (MMP)-2 via p53-dependent transcriptional regulation. *J Biol Chem*. 2012 May 18;287(21):17109-19.
85. Chen J, Wu Y, Zhou Q, Song Y, Zhuang J, Lu K, et al. GPX3 is a key cholesterol-related gene associated with prognosis and tumor-infiltrating T cells in colorectal cancer. *Neoplasma*. 2023 Oct;70(5):230704N348.
86. Chen L, Chen X, Liu L, Zhao Y, Zuo W, Yin C, et al. [miR-30b-3p Inhibits the Proliferation and Invasion of Lung Adenocarcinoma <sup>[P]</sup><sub>[SEP]</sub>by Targeting COX6B1]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2022 Aug 20;25(8):567-74.
87. Chen L, He J, Zhou J, Xiao Z, Ding N, Duan Y, et al. EIF2A promotes cell survival during paclitaxel treatment in vitro and in vivo. *J Cell Mol Med*. 2019 Sep;23(9):6060-71.
88. Chen L, Zeng Y, Ren B, Wang X, Zhao F, Du J, et al. ALDOC regulated the biological function and immune infiltration of gastric cancer cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2023 May;158:106407.
89. Chen R, Dawson DW, Pan S, Ottenhof NA, de Wilde RF, Wolfgang CL, et al. Proteins associated with pancreatic cancer survival in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Lab Invest*. 2015 Jan;95(1):43-55.
90. Chen TM, Huang YT, Wang GC. Outcome of colon cancer initially presenting as colon perforation and obstruction. *World J Surg Oncol*. 2017 Aug 25;15(1):164.
91. Chen W, Peng J, Ou Q, Wen Y, Jiang W, Deng Yet al. Expression of NDRG2 in Human Colorectal Cancer and its Association with Prognosis. *J Cancer*. 2019 Jun 9;10(15):3373-80.

92. Chen X, Cao Q, Liao R, Wu X, Xun S, Huang J, et al. Loss of ABAT-Mediated GABAergic System Promotes Basal-Like Breast Cancer Progression by Activating Ca<sup>2+</sup>-NFAT1 Axis. *Theranostics*. 2019 Jan 1;9(1):34-47.
93. Chen Y, Meng J, Lu X, Li X, Wang C. Clustering analysis revealed the autophagy classification and potential autophagy regulators' sensitivity of pancreatic cancer based on multi-omics data. *Cancer Med*. 2023 Jan;12(1):733-46.
94. Chen YJ, Guo X, Liu ML, Yu YY, Cui YH, Shen XZ, et al. Interaction between glycolysis–cholesterol synthesis axis and tumor microenvironment reveal that gamma-glutamyl hydrolase suppresses glycolysis in colon cancer. *Front Immunol*. 2022 Dec 7;13:979521.
95. Chen YJ, Hong WF, Liu ML, Guo X, Yu YY, Cui YH, et al. An integrated bioinformatic investigation of mitochondrial solute carrier family 25 (SLC25) in colon cancer followed by preliminary validation of member 5 (SLC25A5) in tumorigenesis. *Cell Death Dis*. 2022 Mar 14;13(3):237.
96. Chen Z, Bao H, Long J, Zhao P, Hu X, Wang H, et al. GBE1 Promotes Glioma Progression by Enhancing Aerobic Glycolysis through Inhibition of FBP1. *Cancers (Basel)*. 2023 Mar 3;15(5):1594.
97. Chiang HL, Terlecky SR, Plant CP, Dice JF. A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science*. 1989 Oct 20;246(4928):382-5.
98. Chiavarina B, Ronca R, Otaka Y, Sutton RB, Rezzola S, Yokobori T, et al. Fibroblast-derived prolargin is a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2022 Mar;41(10):1410-20.
99. Chiu WC, Chiou TJ, Chung MJ, Chiang AN.  $\beta$ 2-Glycoprotein I Inhibits Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Angiogenesis by Suppressing the Phosphorylation of Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2, Akt, and Endothelial Nitric Oxide Synthase. *PLoS One*. 2016 Aug 31;11(8):e0161950.
100. Cho JG, Park SJ, Han SH, Park JI. PGC-1 $\alpha$  Regulates Cell Proliferation, Migration, and Invasion by Modulating Leucyl-tRNA Synthetase 1 Expression in Human Colorectal Cancer Cells. *Cancers (Basel)*. 2022 Dec 27;15(1):159.
101. Cho YB, Chun HK, Yun HR, Kim HC, Yun SH, Lee WY. Histological grade predicts survival time associated with recurrence after resection for colorectal cancer. *Hepatogastroenterology*. 2009 Sep-Oct;56(94-95):1335-40.
102. Choi EH, Kim JT, Kim JH, Kim SY, Song EY, Kim JW, et al. Upregulation of the cysteine protease inhibitor, cystatin SN, contributes to cell proliferation and cathepsin inhibition in gastric cancer. *Clin Chim Acta*. 2009 Aug;406(1-2):45-51.

103. Chow RKK, Tsz-Kwan Sin S, Liu M, Li Y, Man Chan TH, et al. AKR7A3 suppresses tumorigenicity and chemoresistance in hepatocellular carcinoma through attenuation of ERK, c-Jun and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Oncotarget*. 2016 Oct 18;8(48):83469-83479.
104. Chu CH, Cheng D. Expression, purification, characterization of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase (MCCC). *Protein Expr Purif*. 2007 Jun;53(2):421-7.
105. Chu YD, Lim SN, Yeh CT, Lin WR. COX5B-Mediated Bioenergetic Alterations Modulate Cell Growth and Anticancer Drug Susceptibility by Orchestrating Claudin-2 Expression in Colorectal Cancers. *Biomedicines*. 2021 Dec 28;10(1):60.
106. Cintra A, Fuxe K, Anggård E, Tinner B, Staines W, Agnati LF. Increased endothelin-like immunoreactivity in ibotenic acid-lesioned hippocampal formation of the rat brain. *Acta Physiol Scand*. 1989 Dec;137(4):557-8.
107. Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer*. 2000 Apr 1;88(7):1739-57.
108. Cordes N, Seidler J, Durzok R, Geinitz H, Brakebusch C. beta1-integrin-mediated signaling essentially contributes to cell survival after radiation-induced genotoxic injury. *Oncogene*. 2006 Mar 2;25(9):1378-90.
109. Corral J, Huntington JA, González-Conejero R, Mushunje A, Navarro M, Marco P, et al. Mutations in the shutter region of antithrombin result in formation of disulfide-linked dimers and severe venous thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2004 Jun;2(6):931-9.
110. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*. 1995;49:711-45.
111. Cristiano L. The pseudogenes of eukaryotic translation elongation factors (EEFs): Role in cancer and other human diseases. *Genes Dis*. 2021 Apr 16;9(4):941-958.
112. Cserni G, Vinh-Hung V, Burzykowski T. Is there a minimum number of lymph nodes that should be histologically assessed for a reliable nodal staging of T3N0M0 colorectal carcinomas? *J Surg Oncol*. 2002 Oct;81(2):63-9.
113. Cuezva JM, Krajewska M, de Heredia ML, Krajewski S, Santamaría G, Kim H, et al. The bioenergetic signature of cancer: a marker of tumor progression. *Cancer Res*. 2002 Nov 15;62(22):6674-81.
114. Cui S, Yang X, Zhang L, Zhao Y, Yan W. LncRNA MAFG-AS1 promotes the progression of colorectal cancer by sponging miR-147b and activation of NDUFA4. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Nov 17;506(1):251-58.

115. Cui Y, Han B, Zhang H, Liu H, Zhang F, Niu R. Identification of Metabolic-Associated Genes for the Prediction of Colon and Rectal Adenocarcinoma. *Onco Targets Ther.* 2021 Mar 31;14:2259-77.
116. Dahdaleh FS, Sherman SK, Poli EC, Vigneswaran J, Polite BN, Sharma MR, et al. Obstruction predicts worse long-term outcomes in stage III colon cancer: A secondary analysis of the N0147 trial. *Surgery.* 2018 Dec;164(6):1223-29.
117. Dai W, Feng H, Lee D. MCCC2 overexpression predicts poorer prognosis and promotes cell proliferation in colorectal cancer. *Exp Mol Pathol.* 2020 Aug;115:104428.
118. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N, et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Jan 21;374(3):211-22.
119. Dana RC, Welch WJ, Deftos LJ. Heat shock proteins bind calcitonin. *Endocrinology.* 1990 Jan;126(1):672-4.
120. Danø K, Behrendt N, Høyer-Hansen G, Johnsen M, Lund LR, Ploug M, et al. Plasminogen activation and cancer. *Thromb Haemost.* 2005 Apr;93(4):676-81.
121. Daugan MV, Revel M, Russick J, Dragon-Durey MA, Gaboriaud C, Robe-Rybkin T, et al. Complement C1s and C4d as Prognostic Biomarkers in Renal Cancer: Emergence of Noncanonical Functions of C1s. *Cancer Immunol Res.* 2021 Aug;9(8):891-908.
122. De Bortoli M, Castellino RC, Lu XY, Deyo J, Sturla LM, Adesina AM, et al. Medulloblastoma outcome is adversely associated with overexpression of EEF1D, RPL30, and RPS20 on the long arm of chromosome 8. *BMC Cancer.* 2006 Sep 12;6:223.
123. de Heer EC, Zois CE, Bridges E, van der Vegt B, Sheldon H, Veldman WA, et al. Glycogen synthase 1 targeting reveals a metabolic vulnerability in triple-negative breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2023 Jun 6;42(1):143.
124. DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism. *Sci Adv.* 2016 May 27;2(5):e1600200.
125. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Dec 23;111(51):18321-6.
126. Denadai MV, Viana LS, Affonso RJ Jr, Silva SR, Oliveira ID, Toledo SR, et al. Expression of integrin genes and proteins in progression and dissemination of colorectal adenocarcinoma. *BMC Clin Pathol.* 2013 May 24;13:16.

127. Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol.* 2010;49(1):57-62.
128. Diamantopoulou A, Mantas D, Kostakis ID, Agrogiannis G, Garoufalia Z, Kavantzias N, et al. A Clinicopathological Analysis of S100A14 Expression in Colorectal Cancer. *In Vivo.* 2020 Jan-Feb;34(1):321-30.
129. Diao B, Sun C, Yu P, Zhao Z, Yang P. LAMA5 promotes cell proliferation and migration in ovarian cancer by activating Notch signaling pathway. *FASEB J.* 2023 Sep;37(9):e23109.
130. Diao C, Guo P, Yang W, Sun Y, Liao Y, Yan Y, et al. SPT6 recruits SND1 to co-activate human telomerase reverse transcriptase to promote colon cancer progression. *Mol Oncol.* 2021 Apr;15(4):1180-1202.
131. Dias AR, Pereira MA, de Mello ES, Nahas SC, Ceconello I, Ribeiro U Jr. Lymph Node Yield After Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Rectal Cancer Specimens: A Randomized Trial Comparing Two Fixatives. *Dis Colon Rectum.* 2018 Aug;61(8):888-96.
132. Dinarvand P, Davaro EP, Doan JV, Ising ME, Evans NR, Phillips NJ, et al. Familial Adenomatous Polyposis Syndrome: An Update and Review of Extraintestinal Manifestations. *Arch Pathol Lab Med.* 2019 Nov;143(11):1382-98.
133. Ding Q, He K, Luo T, Deng Y, Wang H, Liu H, et al. SSRP1 Contributes to the Malignancy of Hepatocellular Carcinoma and Is Negatively Regulated by miR-497. *Mol Ther.* 2016 May;24(5):903-14.
134. Donati G, Montanaro L, Derenzini M. Ribosome biogenesis and control of cell proliferation: p53 is not alone. *Cancer Res.* 2012 Apr 1;72(7):1602-7.
135. Dong Z, Zhang JT. Initiation factor eIF3 and regulation of mRNA translation, cell growth, and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2006 Sep;59(3):169-80.
136. Dourado J, Rogers P, Emile S, Wignakumar A, Weiss B, Horesh N, et al. Predictors of nodal positivity in clinically under-staged patients with colon cancer: A National Cancer Database study and proposal of a predictive scoring system. *Am J Surg.* 2024 Sep;235:115777.
137. Dourado J, Rogers P, Emile S, Wignakumar A, Weiss B, Horesh N, et al. Predictors of nodal positivity in clinically under-staged patients with colon cancer: A National Cancer Database study and proposal of a predictive scoring system. *Am J Surg.* 2024 Sep;235:115777.
138. Drecoll E, Nitsche U, Bauer K, Berezowska S, Slotta-Huspenina J, Rosenberg R, et al. Expression analysis of heat shock protein 90 (HSP90) and Her2 in colon carcinoma. *Int J Colorectal Dis.* 2014 Jun;29(6):663-71.

139. Du W, Cheng H, Peng L, Yang D, Yang C. hmiR-34c-3p upregulation inhibits the proliferation of colon cancer cells by targeting EIF3D. *Anticancer Drugs*. 2018 Nov;29(10):975-82.
140. Dunne PD, McArt DG, Bradley CA, O'Reilly PG, Barrett HL, Cummins R, et al. Challenging the Cancer Molecular Stratification Dogma: Intratumoral Heterogeneity Undermines Consensus Molecular Subtypes and Potential Diagnostic Value in Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res*. 2016 Aug 15;22(16):4095-104.
141. Eberhard J, Gaber A, Wangefjord S, Nodin B, Uhlén M, Ericson Lindquist K, et al. A cohort study of the prognostic and treatment predictive value of SATB2 expression in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2012 Feb 28;106(5):931-8.
142. Edin S, Wikberg ML, Dahlin AM, Rutegård J, Öberg Å, Oldenborg PA, et al. The distribution of macrophages with a M1 or M2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(10):e47045.
143. Elhamamsy AR, Metge BJ, Alsheikh HA, Shevde LA, Samant RS. Ribosome Biogenesis: A Central Player in Cancer Metastasis and Therapeutic Resistance. *Cancer Res*. 2022 Jul 5;82(13):2344-53.
144. Emmink BL, Laoukili J, Kipp AP, Koster J, Govaert KM, Fatrai S, et al. GPx2 suppression of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress links the formation of differentiated tumor mass to metastatic capacity in colorectal cancer. *Cancer Res*. 2014 Nov 15;74(22):6717-30.
145. Endoh M, Zhu W, Hasegawa J, Watanabe H, Kim DK, Aida M, et al. Human Spt6 stimulates transcription elongation by RNA polymerase II in vitro. *Mol Cell Biol*. 2004 Apr;24(8):3324-36.
146. Esworthy RS, Chu FF, Paxton RJ, Akman S, Doroshov JH. Characterization and partial amino acid sequence of human plasma glutathione peroxidase. *Arch Biochem Biophys*. 1991 May 1;286(2):330-6
147. Falidas E, Kitsioulis E, Tsounis D, Kalogirou A, Tsiambas E, Tsouvelas G, et al. Impact of peroxiredoxin-6 expression on colon adenocarcinoma. *J BUON*. 2021 Sep-Oct;26(5):1893-97.
148. Fan LY, Sun CL, Chen YH, Gao GS. [GNB2L1 gene expression and clinical value in hepatocellular carcinoma based on bioinformatics]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2022 Sep 20;30(9):954-61.
149. Fan Y, Xiao W, Li Z, Li X, Chuang PY, Jim B, et al. RTN1 mediates progression of kidney disease by inducing ER stress. *Nat Commun*. 2015 Jul 31;6:7841.
150. Fang P, Yu X, Jeong SJ, Miranda A, Chen K, Chen X, et al. Structural basis for full-spectrum inhibition of translational functions on a tRNA synthetase. *Nat Commun*. 2015 Mar 31;6:6402.

151. Fang Z, He M, Song M. Serum lipid profiles and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study in the UK Biobank. *Br J Cancer*. 2021 Feb;124(3):663-70.
152. Farhana L, Nangia-Makker P, Arbit E, Shango K, Sarkar S, Mahmud H, et al. Bile acid: a potential inducer of colon cancer stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2016 Dec 1;7(1):181.
153. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011 Jan;91(1):151-75.
154. Fazi B, Melino S, De Rubeis S, Bagni C, Paci M, Piacentini M, et al. Acetylation of RTN-1C regulates the induction of ER stress by the inhibition of HDAC activity in neuroectodermal tumors. *Oncogene*. 2009 Oct 29;28(43):3814-24.
155. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun 1;61(5):759-67.
156. Fedorova MS, Krasnov GS, Lukyanova EN, Zaretsky AR, Dmitriev AA, Melnikova NV, et al. The CIMP-high phenotype is associated with energy metabolism alterations in colon adenocarcinoma. *BMC Med Genet*. 2019 Apr 9;20(Suppl 1):52.
157. Feichtinger RG, Oláhová M, Kishita Y, Garone C, Kremer LS, Yagi M, et al. Biallelic C1QBP Mutations Cause Severe Neonatal-, Childhood-, or Later-Onset Cardiomyopathy Associated with Combined Respiratory-Chain Deficiencies. *Am J Hum Genet*. 2017 Oct 5;101(4):525-38.
158. Feng Y, Lei X, Zhang L, Wan H, Pan H, Wu J, Zou M, Zhu L, Mi Y. COPB2: a transport protein with multifaceted roles in cancer development and progression. *Clin Transl Oncol*. 2021
159. Fernández Montes A, Alonso V, Aranda E, Élez E, García Alfonso P, Grávalos C, et al. SEOM-GEMCAD-TTD clinical guidelines for the systemic treatment of metastatic colorectal cancer (2022). *Clin Transl Oncol*. 2023 Sep;25(9):2718-31.
160. Fiorillo M, Scatena C, Naccarato AG, Sotgia F, Lisanti MP. Bedaquiline, an FDA-approved drug, inhibits mitochondrial ATP production and metastasis in vivo, by targeting the gamma subunit (ATP5F1C) of the ATP synthase. *Cell Death Differ*. 2021 Sep;28(9):2797-817.
161. Fiorito V, Tolosano E. Hemopexin and Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 17;23(2):997.
162. Flavin P, Redmond A, McBryan J, Cocchiglia S, Tibbitts P, Fahy-Browne P, et al. RuvBl2 cooperates with Ets2 to transcriptionally regulate hTERT in colon cancer. *FEBS Lett*. 2011 Aug 4;585(15):2537-44.
163. Florian S, Wingler K, Schmehl K, Jacobasch G, Kreuzer OJ, Meyerhof W, et al. Cellular and subcellular localization of gastrointestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radic Res*. 2001 Dec;35(6):655-63.

164. Ford AC, Veldhuyzen van Zanten SJ, Rodgers CC, Talley NJ, Vakil NB, Moayyedi P. Diagnostic utility of alarm features for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut*. 2008 Nov;57(11):1545-53.
165. Forsythe HL, Jarvis JL, Turner JW, Elmore LW, Holt SE. Stable association of hsp90 and p23, but Not hsp70, with active human telomerase. *J Biol Chem*. 2001 May 11;276(19):15571-4.
166. Fort L, Batista JM, Thomason PA, Spence HJ, Whitelaw JA, Tweedy L, et al. Fam49/CYRI interacts with Rac1 and locally suppresses protrusions. *Nat Cell Biol*. 2018 Oct;20(10):1159-71.
167. Fujiyoshi K, Väyrynen JP, Borowsky J, Papke DJ Jr, Arima K, Haruki K, et al. Tumour budding, poorly differentiated clusters, and T-cell response in colorectal cancer. *EBioMedicine*. 2020 Jul;57:102860.
168. Furtmüller PG, Burner U, Obinger C. Reaction of myeloperoxidase compound I with chloride, bromide, iodide, and thiocyanate. *Biochemistry*. 1998 Dec 22;37(51):17923-30.
169. Galceran J, Amejjide A, Carulla M, Mateos A, Quirós JR, Rojas D, Alemán A, Torrella A, Chico M, Vicente M, Díaz JM, Larrañaga N, Marcos-Gragera R, Sánchez MJ, Perucha J, Franch P, Navarro C, Ardanaz E, Bigorra J, Rodrigo P, Bonet RP; REDECAN Working Group. Cancer incidence in Spain, 2015. *Clin Transl Oncol*. 2017 Jul;19(7):799-825.
170. Gali RR, Board PG. Sequencing and expression of a cDNA for human glutathione synthetase. *Biochem J*. 1995 Aug 15;310 ( Pt 1)(Pt 1):353-8.
171. Gao SP, Sun HF, Fu WY, Li LD, Zhao Y, Chen MT, et al. High expression of COX5B is associated with poor prognosis in breast cancer. *Future Oncol*. 2017 Aug;13(19):1711-19.
172. Gao SP, Sun HF, Jiang HL, Li LD, Hu X, Xu XE, et al. Loss of COX5B inhibits proliferation and promotes senescence via mitochondrial dysfunction in breast cancer. *Oncotarget*. 2015 Dec 22;6(41):43363-74.
173. Garavaglia S, Bruzzone S, Cassani C, Canella L, Allegrone G, Sturla L, et al. The high-resolution crystal structure of periplasmic *Haemophilus influenzae* NAD nucleotidase reveals a novel enzymatic function of human CD73 related to NAD metabolism. *Biochem J*. 2012 Jan 1;441(1):131-41.
174. García-Vence M, Chantada-Vázquez MDP, Cameselle-Teijeiro JM, Bravo SB, Núñez C. A Novel Nanoproteomic Approach for the Identification of Molecular Targets Associated with Thyroid Tumors. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Nov 28;10(12):2370.

175. García-Vence M, Chantada-Vázquez MDP, Cameselle-Teijeiro JM, Bravo SB, Núñez C. A Novel Nanoproteomic Approach for the Identification of Molecular Targets Associated with Thyroid Tumors. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Nov 28;10(12):2370.
176. García-Vence M, Chantada-Vazquez MDP, Sosa-Fajardo A, Agra R, Barcia de la Iglesia A, Otero-Glez A, et al. Protein Extraction From FFPE Kidney Tissue Samples: A Review of the Literature and Characterization of Techniques. *Front Med (Lausanne)*. 2021 May 13;8:657313.
177. Ghesquière B, Wong BW, Kuchnio A, Carmeliet P. Metabolism of stromal and immune cells in health and disease. *Nature*. 2014 Jul 10;511(7508):167-76.
178. GLOBOCAN 2022: Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Incidence and Mortality, Both sexes, in 2022 ARCI: OMS; [última versión 08/02/24]
179. GLOBOCAN 2022: Age-standardized rate (World) per 100 000, incidence and mortality, males and females. ARCI: OMS; [último acceso el 08/02/24]
180. Goldstein MJ, Mitchell EP. Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer. *Cancer Invest*. 2005;23(4):338-51.
181. Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol*. 2002 Feb;26(2):179-89.
182. Golob-Schwarzl N, Schweiger C, Koller C, Krassnig S, Gogg-Kamerer M, Gantenbein N, et al. Separation of low and high grade colon and rectum carcinoma by eukaryotic translation initiation factors 1, 5 and 6. *Oncotarget*. 2017 Sep 5;8(60):101224-43.
183. Gomollón F, Castells A, Chaparro M, Herráiz M, de Madaria E, Mearin F, et al. Tratamiento de las enfermedades gastroenterológicas. 4th. Ed. Asociación Española de Gastroenterología, 2019.
184. Gonzalez EC, Roetzheim RG, Ferrante JM, Campbell R. Predictors of proximal vs. distal colorectal cancers. *Dis Colon Rectum*. 2001 Feb;44(2):251-8.
185. Gonzalez RS, Cates JM, Washington MK, Beauchamp RD, Coffey RJ, Shi C. Adenoma-like adenocarcinoma: a subtype of colorectal carcinoma with good prognosis, deceptive appearance on biopsy and frequent KRAS mutation. *Histopathology*. 2016 Jan;68(2):183-90.
186. Gonzalez RS, Cates JMM, Washington K. Associations among histological characteristics and patient outcomes in colorectal carcinoma with a mucinous component. *Histopathology*. 2019 Feb;74(3):406-14.
187. Gordon-Weeks A, Lim SY, Yuzhalin A, Lucotti S, Vermeer JAF, Jones K, et al. Tumour-Derived Laminin  $\alpha 5$  (LAMA5) Promotes Colorectal Liver Metastasis Growth, Branching Angiogenesis and Notch Pathway Inhibition. *Cancers (Basel)*. 2019 May 6;11(5):630.

188. Görög D, Nagy P, Péter A, Perner F. Influence of obesity on lymph node recovery from rectal resection specimens. *Pathol Oncol Res.* 2003;9(3):180-3.
189. Grady WM, Yu M, Markowitz SD. Epigenetic Alterations in the Gastrointestinal Tract: Current and Emerging Use for Biomarkers of Cancer. *Gastroenterology.* 2021 Feb;160(3):690-709.
190. Graña X, Reddy EP. Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors (CKIs). *Oncogene.* 1995 Jul 20;11(2):211-9.
191. Gray R, Barnwell J, McConkey C, Hills RK, Williams NS, Kerr DJ. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet.* 2007 Dec 15;370(9604):2020-9.
192. Green BL, Marshall HC, Collinson F, Quirke P, Guillou P, Jayne DG, et al. Long-term follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of conventional versus laparoscopically assisted resection in colorectal cancer. *Br J Surg.* 2013 Jan;100(1):75-82.
193. Grove DE, Fan CY, Ren HY, Cyr DM. The endoplasmic reticulum-associated Hsp40 DNAJB12 and Hsc70 cooperate to facilitate RMA1 E3-dependent degradation of nascent CFTRDeltaF508. *Mol Biol Cell.* 2011 Feb 1;22(3):301-14.
194. Guan Y, Zhu X, Liang J, Wei M, Huang S, Pan X. Upregulation of HSPA1A/HSPA1B/HSPA7 and Downregulation of HSPA9 Were Related to Poor Survival in Colon Cancer. *Front Oncol.* 2021 Oct 26;11:749673.
195. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015 Nov;21(11):1350-6.
196. Gunderson LL, Jessup JM, Sargent DJ, Greene FL, Stewart A. Revised tumor and node categorization for rectal cancer based on surveillance, epidemiology, and end results and rectal pooled analysis outcomes. *J Clin Oncol.* 2010 Jan 10;28(2):256-63.
197. Guo H, Zeng W, Feng L, Yu X, Li P, Zhang K, et al. Integrated transcriptomic analysis of distance-related field cancerization in rectal cancer patients. *Oncotarget.* 2017 May 15;8(37):61107-17.
198. Guo L, Fu J, Sun S, Zhu M, Zhang L, Niu H, et al. MicroRNA-143-3p inhibits colorectal cancer metastases by targeting ITGA6 and ASAP3. *Cancer Sci.* 2019 Feb;110(2):805-16.
199. Guo Q, Song Y, Zhang H, Wu X, Xia P, Dang C. Detection of hypermethylated fibrillin-1 in the stool samples of colorectal cancer patients. *Med Oncol.* 2013 Dec;30(4):695.

200. Guo W, Wang M, Yang Z, Liu D, Ma B, Zhao Y, et al.. Recent advances in small molecule and peptide inhibitors of glucose-regulated protein 78 for cancer therapy. *Eur J Med Chem.* 2023 Dec 5;261:115792.
201. Gupta S, Balasubramanian BA, Fu T, Genta RM, Rockey DC, Lash R. Polyps with advanced neoplasia are smaller in the right than in the left colon: implications for colorectal cancer screening. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012 Dec;10(12):1395-401.
202. Haasnoot KJC, Backes Y, Moons LMG, Kranenburg O, Trinh A, Vermeulen L, et al. Associations of non-pedunculated T1 colorectal adenocarcinoma outcome with consensus molecular subtypes, immunoscore, and microsatellite status: a multicenter case-cohort study. *Mod Pathol.* 2020 Dec;33(12):2626-36.
203. Haberman RS 2nd. The Haberman suction elevator. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989 Dec;101(6):707-8.
204. Hagerling C, Gonzalez H, Salari K, Wang CY, Lin C, Robles I, et al. Immune effector monocyte-neutrophil cooperation induced by the primary tumor prevents metastatic progression of breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Oct 22;116(43):21704-14.
205. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med.* 2005 May 5;352(18):1851-60.
206. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med.* 2005 May 5;352(18):1851-60.
207. Han JM, Jeong SJ, Park MC, Kim G, Kwon NH, Kim HK, et al. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell.* 2012 Apr 13;149(2):410-24. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.044. Epub 2012 Mar 15.
208. Han SP, Tang YH, Smith R. Functional diversity of the hnRNPs: past, present and perspectives. *Biochem J.* 2010 Sep 15;430(3):379-92.
209. Han Y, Sun S, Zhao M, Zhang Z, Gong S, Gao P, et al. CYC1 Predicts Poor Prognosis in Patients with Breast Cancer. *Dis Markers.* 2016;2016:3528064.
210. Hardy B, Raiter A, Yakimov M, Vilkin A, Niv Y. Colon cancer cells expressing cell surface GRP78 as a marker for reduced tumorigenicity. *Cell Oncol (Dordr).* 2012 Oct;35(5):345-54.
211. Hatta MNA, Mohamad Hanif EA, Chin SF, Low TY, Neoh HM. Parvimonas micra infection enhances proliferation, wound healing, and inflammation of a colorectal cancer cell line. *Biosci Rep.* 2023 Jun 28;43(6):BSR20230609.

212. He J, Wang X, Cai J, Wang W, Qin X. High expression of eIF3d is associated with poor prognosis in patients with gastric cancer. *Cancer Manag Res.* 2017 Oct 25;9:539-44.
213. He JY, Liu X, Qi ZH, Wang Q, Lu WQ, Zhang QT, et al. Small Nucleolar RNA, C/D Box 16 (SNORD16) Acts as a Potential Prognostic Biomarker in Colon Cancer. *Dose Response.* 2020 Apr 23;18(2):1559325820917829.
214. He W, Li X, Xu S, Ai J, Gong Y, Gregg JL, et al Aberrant methylation and loss of CADM2 tumor suppressor expression is associated with human renal cell carcinoma tumor progression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Jun 14;435(4):526-32.
215. He X, Gu Y, Cao Y, Hu B, Fang H, Fei Y, et al. Impact of intratumoural CD73 expression on prognosis and therapeutic response in patients with gastric cancer. *Eur J Cancer.* 2021 Nov;157:114-23.
216. He Z, Lin J, Chen C, Chen Y, Yang S, Cai X, et al. Identification of BGN and THBS2 as metastasis-specific biomarkers and poor survival key regulators in human colon cancer by integrated analysis. *Clin Transl Med.* 2022 Nov;12(11):e973.
217. Heer E, Ruan Y, Warkentin MT, Hilsden RJ, Rabeneck L, O'Sullivan DE, et al. Age-specific colorectal cancer incidence trends in Canada, 1971-2021. *Cancer Epidemiol.* 2024 Aug 5;92:102640.
218. Heetfeld M, Chougnat CN, Olsen IH, Rinke A, Borbath I, Crespo G, Barriuso J, Pavel M, O'Toole D, Walter T; other Knowledge Network members. Characteristics and treatment of patients with G3 gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Endocr Relat Cancer.* 2015 Aug;22(4):657-64.
219. Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, Tops CM, Vasen HF, Wijnen JT, et al. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. *CA Cancer J Clin.* 2006 Jul-Aug;56(4):213-25.
220. Hes FJ, Nielsen M, Bik EC, Konvalinka D, Wijnen JT, Bakker E, et al. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. *Gut.* 2008 Jan;57(1):71-6
221. Hong XC, Liang QL, Chen M, Yang HX, Huang J, Yi SL, et al. PRL-3 and MMP9 Expression and Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Circulating Tumor Cells From Patients With Colorectal Cancer: Potential Value in Clinical Practice. *Front Oncol.* 2022 Apr 29;12:878639.
222. Hou G, Lu Z, Jiang J, Yang X. Ribosomal protein L32 enhances hepatocellular carcinoma progression. *Cancer Med.* 2023 May;12(9):10791-10803.
223. Hu HF, Xu WW, Li YJ, He Y, Zhang WX, Liao L, et al. Anti-allergic drug azelastine suppresses colon tumorigenesis by directly targeting ARF1 to inhibit IQGAP1-ERK-Drp1-mediated mitochondrial fission. *Theranostics.* 2021 Jan 1;11(4):1828-44.

224. Hu M, Fu X, Si Z, Li C, Sun J, Du X, et al. Identification of Differently Expressed Genes Associated With Prognosis and Growth in Colon Adenocarcinoma Based on Integrated Bioinformatics Analysis. *Front Genet.* 2019 Dec 4;10:1245.
225. Hu Q, Chen J, Yang W, Xu M, Zhou J, Tan J, et al. GPX3 expression was down-regulated but positively correlated with poor outcome in human cancers. *Front Oncol.* 2023 Feb 9;13:990551.
226. Hua L, Song Y, Min J, Wang R, Li H, Zhu L, et al. AKR7A3 modulates the metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma through regulating PHGDH-suppressed autophagy. *Cancer Sci.* 2023 Aug;114(8):3101-13.
227. Huang Q, Tian R, Yu J, Du W. Identification of PSMD11 as a novel cuproptosis- and immune-related prognostic biomarker promoting lung adenocarcinoma progression. *Cancer Med.* 2024 Jun;13(11):e7379.
228. Huang S, Li D, Zhuang L, Sun L, Wu J. Identification of Arp2/3 Complex Subunits as Prognostic Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma. *Front Mol Biosci.* 2021 Jul 9;8:690151.
229. Huang XP, Zhao CX, Li QJ, Cai Y, Liu FX, Hu H, et al. Alteration of RPL14 in squamous cell carcinomas and preneoplastic lesions of the esophagus. *Gene.* 2006 Jan 17;366(1):161-8.
230. Humphries MP, Sundara Rajan S, Droop A, Suleman CAB, Carbone C, Nilsson C, et al. A Case-Matched Gender Comparison Transcriptomic Screen Identifies eIF4E and eIF5 as Potential Prognostic Markers in Male Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2017 May 15;23(10):2575-83.
231. Ibrahim EE, Babaei-Jadidi R, Saadeddin A, Spencer-Dene B, Hossaini S, Abuzinadah M, et al. Embryonic NANOG activity defines colorectal cancer stem cells and modulates through AP1- and TCF-dependent mechanisms. *Stem Cells.* 2012 Oct;30(10):2076-87.
232. Imajo M, Tsuchiya Y, Nishida E. Regulatory mechanisms and functions of MAP kinase signaling pathways. *IUBMB Life.* 2006 May-Jun;58(5-6):312-7.
233. Incidencia, mortalidade e supervivencia ao cancro galicia, ano 2022. Estimación realizada en base á automatización dos datos do Sistema Público de Saúde. Rexistro Galego de Tumores. Santiago de Compostela, Outubro 2023
234. Ishihara S, Watanabe T, Akahane T, Shimada R, Horiuchi A, Shibuya H, et al. Tumor location is a prognostic factor in poorly differentiated adenocarcinoma, mucinous adenocarcinoma, and signet-ring cell carcinoma of the colon. *Int J Colorectal Dis.* 2012 Mar;27(3):371-9.
235. Jackson KW, Christiansen VJ, Yadav VR, Silasi-Mansat R, Lupu F, Awasthi V, et al. Suppression of tumor growth in mice by rationally designed pseudo-peptide inhibitors

- of fibroblast activation protein and prolyl oligopeptidase. *Neoplasia*. 2015 Jan;17(1):43-54.
236. Jaganjac M, Poljak-Blazi M, Kirac I, Borovic S, Joerg Schaur R, et al. Granulocytes as effective anticancer agent in experimental solid tumor models. *Immunobiology*. 2010 Dec;215(12):1015-20.
237. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(6):2044-58.
238. Javid J, Mir R, Julka PK, Ray PC, Saxena A. Extracellular cytochrome c as a biomarker for monitoring therapeutic efficacy and prognosis of non-small cell lung cancer patients. *Tumour Biol*. 2015 Jun;36(6):4253-60.
239. Jensen SA, Handford PA. New insights into the structure, assembly and biological roles of 10-12 nm connective tissue microfibrils from fibrillin-1 studies. *Biochem J*. 2016 Apr 1;473(7):827-38.
240. Jewell JL, Guan KL. Nutrient signaling to mTOR and cell growth. *Trends Biochem Sci*. 2013 May;38(5):233-42.
241. Jia M, Zhang W, Zhu J, Huang C, Zhou J, Lian J, Wang Y, Teng H, Huang Z. Microglia-Specific Expression of *HEXA* and *HEXB* Leads to Poor Prognosis in Glioblastoma Patients. *Front Oncol*. 2021 Aug 4;11:685893.
242. Jia W, Xie G, Jia W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Feb;15(2):111-28.
243. Jiang J, Liu HL, Tao L, Lin XY, Yang YD, Tan SW, et al. Let-7d inhibits colorectal cancer cell proliferation through the CST1/p65 pathway. *Int J Oncol*. 2018 Aug;53(2):781-90.
244. Jiménez-López S, Sánchez JE. El factor eIF4G: La proteína andamio del complejo de inicio de la traducción en Eucariontes. *Rev Educ Bioquímica*. 2011;30(4):143-8
245. Jin Q, Chen H, Luo A, Ding F, Liu Z. S100A14 stimulates cell proliferation and induces cell apoptosis at different concentrations via receptor for advanced glycation end products (RAGE). *PLoS One*. 2011 Apr 29;6(4):e19375.
246. Johnson CA, Chester MI. Pathophysiology and treatment of the anemia of renal failure. *Clin Pharm*. 1988 Feb;7(2):117-22.
247. Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO, Schrock AB, Rankin A, Zhang BY, et al. Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2017 Aug 10;35(23):2624-30.
248. Jovanovic J, Takagi J, Choulier L, Abrescia NG, Stuart DI, van der Merwe PA, Mardon HJ, Handford PA. alphaVbeta6 is a novel receptor for human fibrillin-1.

- Comparative studies of molecular determinants underlying integrin-rgd affinity and specificity. *J Biol Chem*. 2007 Mar 2;282(9):6743-51.
249. Jurescu A, Văduva A, Vița O, Gheju A, Cornea R, Lăzureanu C, et al. Colorectal Carcinomas: Searching for New Histological Parameters Associated with Lymph Node Metastases. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Oct 2;59(10):1761.
250. Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, Spichtin H, Stoios D, Bundi M, Korcheva V, Mirlacher M, Loda M, Sauter G, Corless CL. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2004 Nov;17(11):1392-9.
251. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, Sack J, Ko CY. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 2005 Jun;48(6):1161-8.
252. Kang KT, Shin MJ, Moon HJ, Choi KU, Suh DS, Kim JH. TRRAP Enhances Cancer Stem Cell Characteristics by Regulating NANOG Protein Stability in Colon Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 26;24(7):6260.
253. Kao TJ, Wu CC, Phan NN, Liu YH, Ta HDK, Anuraga G, et al. Prognoses and genomic analyses of proteasome 26S subunit, ATPase (PSMC) family genes in clinical breast cancer. *Aging (Albany NY)*. 2021 Jul 30;13(14):17970.
254. Kasi A, Handa S, Bhatti S, Umar S, Bansal A, Sun W. Molecular Pathogenesis and Classification of Colorectal Carcinoma. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2020 Sep;16(5):97-106.
255. Kato S, Koshino A, Lasota J, Komura M, Wang C, Ebi M, Ogasawara N, Kojima K, Tsuzuki T, Kasai K, Takahashi S, Miettinen M, Kasugai K, Inaguma S. Use of SATB2 and CDX2 Immunohistochemistry to Characterize and Diagnose Colorectal Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2024 Sep 1;32(8):362-70.
256. Kato T, Daigo Y, Hayama S, Ishikawa N, Yamabuki T, Ito T, et al. A novel human tRNA-dihydrouridine synthase involved in pulmonary carcinogenesis. *Cancer Res*. 2005 Jul 1;65(13):5638-46.
257. Kazama Y, Watanabe T, Kanazawa T, Tada T, Tanaka J, Nagawa H. Mucinous carcinomas of the colon and rectum show higher rates of microsatellite instability and lower rates of chromosomal instability: a study matched for T classification and tumor location. *Cancer*. 2005 May 15;103(10):2023-9.
258. Keller DM, Zeng X, Wang Y, Zhang QH, Kapoor M, Shu H, et al. A DNA damage-induced p53 serine 392 kinase complex contains CK2, hSpt16, and SSRP1. *Mol Cell*. 2001 Feb;7(2):283-92.
259. Khan K, Hardy R, Haq A, Ogunbiyi O, Morton D, Chidgey M. Desmocollin switching in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2006 Nov 20;95(10):1367-70.

260. Khan MA, Hakeem AR, Scott N, Saunders RN. Significance of R1 resection margin in colon cancer resections in the modern era. *Colorectal Dis.* 2015 Nov;17(11):943-53.
261. Khapare N, Kundu ST, Sehgal L, Sawant M, Priya R, Gosavi P, et al. Plakophilin3 loss leads to an increase in PRL3 levels promoting K8 dephosphorylation, which is required for transformation and metastasis. *PLoS One.* 2012;7(6):e38561.
262. Kim EK, Song MJ, Jung Y, Lee WS, Jang HH. Proteomic Analysis of Primary Colon Cancer and Synchronous Solitary Liver Metastasis. *Cancer Genomics Proteomics.* 2019 Nov-Dec;16(6):583-92.
263. Kim G, Lim S, Kim KD. N-myc Downstream-Regulated Gene 2 (NDRG2) Function as a Positive Regulator of Apoptosis: A New Insight into NDRG2 as a Tumor Suppressor. *Cells.* 2021 Oct 4;10(10):2649.
264. Kim JT, Lee SJ, Kang MA, Park JE, Kim BY, Yoon DY, et al. Cystatin SN neutralizes the inhibitory effect of cystatin C on cathepsin B activity. *Cell Death Dis.* 2013 Dec 19;4(12):e974.
265. Kim MJ, Hong SM, Jang SJ, Yu E, Kim JS, Kim KR, Gong G, Ro JY. Invasive colorectal micropapillary carcinoma: an aggressive variant of adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2006 Jul;37(7):809-15.
266. Kim S, Wolfe A, Kim SE. Targeting cancer's sweet spot: UGP2 as a therapeutic vulnerability. *Mol Cell Oncol.* 2021 Oct 27;8(6):1990676.
267. Kim SE, Cole PD, Cho RC, Ly A, Ishiguro L, Sohn KJ, et al.  $\gamma$ -Glutamyl hydrolase modulation and folate influence chemosensitivity of cancer cells to 5-fluorouracil and methotrexate. *Br J Cancer.* 2013 Oct 15;109(8):2175-88.
268. Kim Y, Shin SY, Jeung J, Kim Y, Kang YW, Lee S, Oh CM. Integrative analysis of mitochondrial metabolic reprogramming in early-stage colon and liver cancer. *Front Oncol.* 2023 Aug 24;13:1218735.
269. Kim YJ, Kang HB, Yim HS, Kim JH, Kim JW. NDRG2 positively regulates E-cadherin expression and prolongs overall survival in colon cancer patients. *Oncol Rep.* 2013 Oct;30(4):1890-8.
270. Kindlund B, Sjöling Å, Yakkala C, Adamsson J, Janzon A, Hansson LE, Hermansson M, Janson P, Winqvist O, Lundin SB. CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in gastric cancer mucosa are proliferating and express high levels of IL-10 but little TGF- $\beta$ . *Gastric Cancer.* 2017 Jan;20(1):116-25.
271. Kitano H, Mamiya A, Tomomi I, Shinichiro K, Chiaki H. Coagulation factor IX regulates cell migration and adhesion in vitro. *Cell Biol Int.* 2015 Oct;39(10):1162-72.
272. Klingbiel D, Saridaki Z, Roth AD, Bosman FT, Delorenzi M, Tejpar S. Prognosis of stage II and III colon cancer treated with adjuvant 5-fluorouracil or FOLFIRI in

- relation to microsatellite status: results of the PETACC-3 trial. *Ann Oncol*. 2015 Jan;26(1):126-32
273. Klose J. Genotypes and phenotypes. *Electrophoresis*. 1999 Apr-May;20(4-5):643-52.
274. Kluck RM, Bossy-Wetzell E, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*. 1997 Feb 21;275(5303):1132-6.
275. Knijn N, Mogk SC, Teerenstra S, Simmer F, Nagtegaal ID. Perineural Invasion is a Strong Prognostic Factor in Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Am J Surg Pathol*. 2016 Jan;40(1):103-12.
276. Knox RD, Luey N, Sioson L, Kedziora A, Clarkson A, Watson N, et al. Medullary colorectal carcinoma revisited: a clinical and pathological study of 102 cases. *Ann Surg Oncol*. 2015 Sep;22(9):2988-96.
277. Koch M, Hussein F, Woeste A, Gründker C, Frontzek K, Emons G, et al. CD36-mediated activation of endothelial cell apoptosis by an N-terminal recombinant fragment of thrombospondin-2 inhibits breast cancer growth and metastasis in vivo. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Jul;128(2):337-46.
278. Konukiewitz B, Schmitt M, Silva M, Pohl J, Lang C, Steiger K, Halfter K, Engel J, Schlitter AM, Boxberg M, Pfarr N, Wilhelm D, Foersch S, Tschurtschenthaler M, Weichert W, Jesinghaus M. Loss of CDX2 in colorectal cancer is associated with histopathologic subtypes and microsatellite instability but is prognostically inferior to hematoxylin-eosin-based morphologic parameters from the WHO classification. *Br J Cancer*. 2021 Dec;125(12):1632-46.
279. Koopman M, Kortman GA, Mekenkamp L, Ligtenberg MJ, Hoogerbrugge N, Antonini NF, et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2009 Jan 27;100(2):266-73.
280. Krasnov GS, Oparina NI, Khankin SL, Mashkova TD, Ershov AN, Zatsepina OG, et al. [Colorectal cancer 2D-proteomics: identification of altered protein expression]. *Mol Biol (Mosk)*. 2009 Mar-Apr;43(2):348-56.
281. Kravtsova-Ivantsiv Y, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome system and activation of NF- $\kappa$ B: involvement of the ubiquitin ligase KPC1 in p105 processing and tumor suppression. *Mol Cell Oncol*. 2015 May 26;2(4):e1054552.
282. Kudriavtseva MV, Shalakhmetova TM. Tsitofluorimetricheskoe issledovanie sodержanie glikogena i ego fraktsii v kletkakh pecheni krysa v techenie 1-й ned postnatal'nogo ontogeneza [Cytofluorimetric study of the content of glycogen and its fractions in rat liver cells in the course of the 1st week of postnatal ontogeny]. *Tsitologiya*. 1979 May;21(5):566-71.

283. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, Smith RE, Colangelo LH, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol*. 2007 Jun 1;25(16):2198-204.
284. Kuiper RP, Nielsen M, De Voer RM, Hoogerbrugge N. *NTHL1* Tumor Syndrome. 2020 Apr 2. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*<sup>®</sup> [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024.
285. Kumar A, Vekma BL, Srivstava RN. Assessment of immunity status of primary school children against smallpox in a rural population of Bundelkhand. *Indian J Pediatr*. 1978 Aug;45(367):255-8.
286. Kumari S, Malla R. New Insight on the Role of Plasminogen Receptor in Cancer Progression. *Cancer Growth Metastasis*. 2015 Jul 29;8:35-42.
287. Kuroki M, Haruno M, Arakawa F, Wakisaka M, Matsuoka Y. Reaction profiles of seven enzyme immunoassay kits for carcinoembryonic antigen (CEA) analyzed with purified preparations of CEA and related normal antigens. *Clin Biochem*. 1992 Feb;25(1):29-35.
288. Kurz S, Thieme R, Amberg R, Groth M, Jahnke HG, Pieroh P, et al. The anti-tumorigenic activity of A2M-A lesson from the naked mole-rat. *PLoS One*. 2017 Dec 27;12(12):e0189514.
289. Kuwabara I, Kuwabara Y, Yang RY, Schuler M, Green DR, Zuraw BL, et al. Galectin-7 (PIG1) exhibits pro-apoptotic function through JNK activation and mitochondrial cytochrome c release. *J Biol Chem*. 2002 Feb 1;277(5):3487-97.
290. Lacy AM, García-Valdecasas JC, Delgado S, Castells A, Taurá P, Piqué JM, et al. Laparoscopy-assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet*. 2002 Jun 29;359(9325):2224-29.
291. Lam AK, Carmichael R, Gertraud Buettner P, et al. Clinicopathological significance of synchronous carcinoma in colorectal cancer. *Am J Surg*. 2011 Jul;202(1):39-44.
292. Larrinaga G, Perez I, Blanco L, Sanz B, Errarte P, Beitia M, et al. Prolyl endopeptidase activity is correlated with colorectal cancer prognosis. *Int J Med Sci*. 2014 Jan 10;11(2):199-208.
293. Larsson P, Pettersson D, Engqvist H, Werner Rönnerman E, Forssell-Aronsson E, et al. Pan-cancer analysis of genomic and transcriptomic data reveals the prognostic relevance of human proteasome genes in different cancer types. *BMC Cancer*. 2022 Sep 19;22(1):993.

294. Lascorz J, Bevier M, Schönfels WV, Kalthoff H, Aselmann H, Beckmann J, et al. Polymorphisms in the mitochondrial oxidative phosphorylation chain genes as prognostic markers for colorectal cancer. *BMC Med Genet.* 2012 Apr 30;13:31.
295. Lau TP, Roslani AC, Lian LH, Chai HC, Lee PC, Hilmi I, et al. Pair-wise comparison analysis of differential expression of mRNAs in early and advanced stage primary colorectal adenocarcinomas. *BMJ Open.* 2014 Aug 8;4(8):e004930.
296. Lauby-Secretan B, Vilahur N, Bianchini F, Guha N, Straif K; International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group. The IARC Perspective on Colorectal Cancer Screening. *N Engl J Med.* 2018 May 3;378(18):1734-1740.
297. Laudato S, Patil N, Abba ML, Leupold JH, Benner A, Gaiser T, et al. P53-induced miR-30e-5p inhibits colorectal cancer invasion and metastasis by targeting ITGA6 and ITGB1. *Int J Cancer.* 2017 Nov 1;141(9):1879-90.
298. Le Duff M, Gouju J, Jonchère B, Guillon J, Toutain B, Boissard A, et al. Regulation of senescence escape by the cdk4-EZH2-AP2M1 pathway in response to chemotherapy. *Cell Death Dis.* 2018 Feb 7;9(2):199.
299. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol.* 2003 Aug 1;21(15):2912-9.
300. Lee EY, Hwang J, Kim MH. Phosphocode-dependent glutamyl-prolyl-tRNA synthetase 1 signaling in immunity, metabolism, and disease. *Exp Mol Med.* 2023 Oct;55(10):2116-26.
301. Lee HC, Chang CY, Huang YC, Wu KL, Chiang HH, Chang YY, et al. Downregulated ADAMTS1 Incorporating A2M Contributes to Tumorigenesis and Alters Tumor Immune Microenvironment in Lung Adenocarcinoma. *Biology (Basel).* 2022 May 16;11(5):760
302. Lee JA, Park HE, Jin HY, Jin L, Cho NY, Bae JM, et al. Concomitant expression patterns of CDX2 and SATB2 as prognostic factors in stage III colorectal cancers. *Ann Diagn Pathol.* 2024 Aug;71:152289.
303. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017 Mar;15(3):411-19.
304. Lee YC, Tang CT, Kan JY, Chiang CP, Li HT, Sung JN, et al. Correlation of Beta2-Glycoprotein I With Tumor Prognosis in Breast Cancer Patients. *Anticancer Res.* 2023 Aug;43(8):3455-62.
305. Lefranc MP. Immunoglobulin and T Cell Receptor Genes: IMGT(®) and the Birth and Rise of Immunoinformatics. *Front Immunol.* 2014 Feb 5;5:22.

306. Lei S, Li S, Xiao W, Jiang Q, Yan S, Xiao W, et al. Azurocidin 1 inhibits the aberrant proliferation of triple-negative breast cancer through the regulation of pyroptosis. *Oncol Rep.* 2023 Oct;50(4):188.
307. Leijssen LGJ, Dinaux AM, Taylor MS, Deshpande V, Kunitake H, Bordeianou LG, Berger DL. Perineural Invasion Is a Prognostic but not a Predictive Factor in Nonmetastatic Colon Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2019 Oct;62(10):1212-21.
308. Lemire M, Qu C, Loo LWM, Zaidi SHE, Wang H, Berndt SI, et al. A genome-wide association study for colorectal cancer identifies a risk locus in 14q23.1. *Hum Genet.* 2015 Nov;134(11-12):1249-62.
309. Leszinski G, Gezer U, Siegele B, Stotzer O, Holdenrieder S. Relevance of histone marks H3K9me3 and H4K20me3 in cancer. *Anticancer Res.* 2012 May;32(5):2199-205.
310. Leung AM, Scharf AW, Vu HN. Factors affecting number of lymph nodes harvested in colorectal cancer. *J Surg Res.* 2011 Jun 15;168(2):224-30.
311. Li B, Ming H, Qin S, Zhou L, Huang Z, Jin P, et al. HSPA8 Activates Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling to Facilitate BRAF V600E Colorectal Cancer Progression by CMA-Mediated CAV1 Degradation. *Adv Sci (Weinh).* 2024 Jan;11(3):e2306535.
312. Li C, Lu K, Yang C, Du W, Liang Z. EIF3D promotes resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer through upregulating RUVBL1. *J Clin Lab Anal.* 2023 Jan;37(2):e24825.
313. Li C, Sun YD, Yu GY, Cui JR, Lou Z, Zhang H, et al. Integrated Omics of Metastatic Colorectal Cancer. *Cancer Cell.* 2020 Nov 9;38(5):734-47.e9.
314. Li G, Fu D, Liang W, Fan L, Chen K, Shan L, et al. CYC1 silencing sensitizes osteosarcoma cells to TRAIL-induced apoptosis. *Cell Physiol Biochem.* 2014;34(6):2070-80.
315. Li J, Tang Y, Long F, Tian L, Tang A, Ding L, et al. Integrating bulk RNA-seq and scRNA-seq analyses revealed the function and clinical value of thrombospondins in colon cancer. *Comput Struct Biotechnol J.* 2024 May 17;23:2251-66.
316. Li L, Chao Z, Waikong U, Xiao J, Ge Y, Wang Y, et al. Metabolic classifications of renal cell carcinoma reveal intrinsic connections with clinical and immune characteristics. *J Transl Med.* 2023 Feb 24;21(1):146.
317. Li L, Yang H, Li Y, Li XD, Zeng TT, Lin SX, et al. Hypoxia restrains the expression of complement component 9 in tumor-associated macrophages promoting non-small cell lung cancer progression. *Cell Death Discov.* 2018 Jun 7;4:63.
318. Li L, Yang L, Fan Z, Xue W, Shen Z, Yuan Y, et al. Hypoxia-induced GBE1 expression promotes tumor progression through metabolic reprogramming in lung adenocarcinoma. *Signal Transduct Target Ther.* 2020 May 22;5(1):54.

319. Li M, Zhao X, Yong H, Xu J, Qu P, Qiao S, et al. Transketolase promotes colorectal cancer metastasis through regulating AKT phosphorylation. *Cell Death Dis.* 2022 Feb 2;13(2):99.
320. Li P, Xiao ZT, Braciak TA, Ou QJ, Chen G, Oduncu FS. Association between Ki67 Index and Clinicopathological Features in Colorectal Cancer. *Oncol Res Treat.* 2016;39(11):696-702.
321. Li R, Hao Y, Wang Q, Meng Y, Wu K, Liu C, et al. ECHS1, an interacting protein of LASP1, induces sphingolipid-metabolism imbalance to promote colorectal cancer progression by regulating ceramide glycosylation. *Cell Death Dis.* 2021 Oct 6;12(10):911.
322. Li T, Xiong Q, Zou Z, Lei X, Jiang Q, Liu D. Prognostic significance of cystatin SN associated nomograms in patients with colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017 Dec 8;8(70):115153-63.
323. Li W, Zhang G, Wang HL, Wang L. Analysis of expression of cyclin E, p27kip1 and Ki67 protein in colorectal cancer tissues and its value for diagnosis, treatment and prognosis of disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016 Dec;20(23):4874-79.
324. Li X, Yan X, Wang F, Yang Q, Luo X, Kong J, Ju S. Correction to Down-regulated lncRNA SLC25A5-AS1 facilitates cell growth and inhibits apoptosis via miR-19a-3p/PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in gastric cancer. *J Cell Mol Med.* 2023 Oct;27(20):3215-6.
325. Li Y, Zhao J, Yuan Z, Yuan D, Fang M, Xie M, et al. Eukaryotic initiation factor 3b regulates the development and progression of breast cancer. *Am J Cancer Res.* 2023 May 15;13(5):2188-200.
326. Lian W, Jiang D, Lin W, Jiang M, Zhang Y, Wang H, et al. Dual role of CD73 as a signaling molecule and adenosine-generating enzyme in colorectal cancer progression and immune evasion. *Int J Biol Sci.* 2024 Jan 1;20(1):137-151.
327. Liang X, Zuo MQ, Zhang Y, Li N, Ma C, Dong MQ, et al. Structural snapshots of human pre-60S ribosomal particles before and after nuclear export. *Nat Commun.* 2020 Jul 15;11(1):3542.
328. Liang Y, Lei Y, Liang M, Du M, Liu Z, Li X, et al. GBE1 Is an Independent Prognostic Marker and Associated With CD163<sup>+</sup> Tumor-Associated Macrophage Infiltration in Lung Adenocarcinoma. *Front Oncol.* 2022 Jan 27;11:781344.
329. Liao J, Tao X, Ding Q, Liu J, Yang X, Yuan FE, et al. SSRP1 silencing inhibits the proliferation and malignancy of human glioma cells via the MAPK signaling pathway. *Oncol Rep.* 2017 Nov;38(5):2667-76.

330. Liebig C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Nov 1;27(31):5131-7.
331. Lim SB, Yu CS, Jang SJ, Kim TW, Kim JH, Kim JC. Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010 Apr;53(4):377-84.
332. Lin JS, Piper MA, Perdue LA, Rutter CM, Webber EM, O'Connor E, et al. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA*. 2016 Jun 21;315(23):2576-94.
333. Lin K, Huang J, Luo H, Luo C, Zhu X, Bu F, et al. Development of a prognostic index and screening of potential biomarkers based on immunogenomic landscape analysis of colorectal cancer. *Aging (Albany NY)*. 2020 Mar 31;12(7):5832-57.
334. Lindner I, Hemdan NY, Buchold M, Huse K, Bigl M, Oerlecke I, et al. Alpha2-macroglobulin inhibits the malignant properties of astrocytoma cells by impeding beta-catenin signaling. *Cancer Res*. 2010 Jan 1;70(1):277-87.
335. Lindor NM, Greene MH. The concise handbook of family cancer syndromes. Mayo Familial Cancer Program. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Jul 15;90(14):1039-71. doi: 10.1093/jnci/90.14.1039. Update in: *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2008;(38):1-93.
336. Liu C, Mei T. Circ\_0001821 Potentiates Cell Growth, Metastasis, and Stemness in Colorectal Cancer by Regulating miR-339-3p/CST1. *Biochem Genet*. 2023 Aug;61(4):1451-1469.
337. Liu DF, Ferguson K, Cooper GS, Grady WM, Willis J. p27 cell-cycle inhibitor is inversely correlated with lymph node metastases in right-sided colon cancer. *J Clin Lab Anal*. 1999;13(6):291-5.
338. Liu G, Xia Y, Wang H, Jin X, Chen S, Chen W, Zhang C, He Y. Downregulation of CYRI-B promotes migration, invasion and EMT by activating the Rac1-STAT3 pathway in gastric cancer. *Exp Cell Res*. 2023 Feb 1;423(1):113453.
339. Liu G, Xu X, Geng H, Li J, Zou S, Li X. FGA inhibits metastases and induces autophagic cell death in gastric cancer via inhibiting ITGA5 to regulate the FAK/ERK pathway. *Tissue Cell*. 2022 Jun;76:101767.
340. Liu H, Fredimoses M, Niu P, Liu T, Qiao Y, Tian X, et al. EPRS/GluRS promotes gastric cancer development via WNT/GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin signaling pathway. *Gastric Cancer*. 2021 Sep;24(5):1021-36.
341. Liu J, Li H, Sun L, Shen S, Zhou Q, Yuan Y, et al. Epigenetic Alternations of MicroRNAs and DNA Methylation Contribute to Liver Metastasis of Colorectal Cancer. *Dig Dis Sci*. 2019 Jun;64(6):1523-34.

342. Liu N, Yang C, Bai W, Wang Z, Wang X, Johnson M, et al. CADM2 inhibits human glioma proliferation, migration and invasion. *Oncol Rep.* 2019 Apr;41(4):2273-2280.
343. Liu QZ, Gao XH, Chang WJ, Gong HF, Fu CG, Zhang W, Cao GW. Expression of ITGB1 predicts prognosis in colorectal cancer: a large prospective study based on tissue microarray. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Oct 1;8(10):12802-10.
344. Liu R, Lu S, Deng Y, Yang S, He S, Cai J, et al. PSMB4 expression associates with epithelial ovarian cancer growth and poor prognosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2016 Jun;293(6):1297-307.
345. Liu TW, Gammon ST, Yang P, Fuentes D, Piwnica-Worms D. Myeloid cell-derived HOCl is a paracrine effector that trans-inhibits IKK/NF- $\kappa$ B in melanoma cells and limits early tumor progression. *Sci Signal.* 2021 Apr 6;14(677):eaax5971.
346. Liu W, Chen S, Xie W, Wang Q, Luo Q, Huang M, et al. MCCC2 is a novel mediator between mitochondria and telomere and functions as an oncogene in colorectal cancer. *Cell Mol Biol Lett.* 2023 Oct 12;28(1):80.
347. Liu X, Zhang X, Liu C, Mu W, Peng J, Song K. Immune and inflammation: related factor alterations as biomarkers for predicting prognosis and responsiveness to PD-1 monoclonal antibodies in cervical cancer. *Discov Oncol.* 2022 Sep 28;13(1):96.
348. Liu X, Zou X, Zhou Y, Chen R, Peng Y, Qu M. LDHA and LDHB overexpression promoted the Warburg effect in malignantly transformed GES-1 cells induced by N-nitroso compounds. *Food Chem Toxicol.* 2023 Oct;180:114007.
349. Liu Y, Beyer A, Aebersold R. On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance. *Cell.* 2016 Apr 21;165(3):535-50.
350. Liu Y, Deguchi Y, Tian R, Wei D, Wu L, Chen W, et al. Pleiotropic Effects of PPAR $\delta$  Accelerate Colorectal Tumorigenesis, Progression, and Invasion. *Cancer Res.* 2019 Mar 1;79(5):954-69.
351. Liu Y, Yuan Z, Song C. Methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 overexpression predicts an unfavorable prognosis and promotes cell proliferation in breast cancer. *Biomark Med.* 2019 Apr;13(6):427-36.
352. Liu Z, Li Q, Li K, Chen L, Li W, Hou M, et al. Telomerase reverse transcriptase promotes epithelial-mesenchymal transition and stem cell-like traits in cancer cells. *Oncogene.* 2013 Sep 5;32(36):4203-13.
353. Liu Z, Zhang Y, Xie J, Li C, Wang X, et al. Regenerating gene 1B silencing inhibits colon cancer cell HCT116 proliferation and invasion. *Int J Biol Markers.* 2015 May 26;30(2):e217-25.
354. Liu Z, Zhao X, Zhang L, Pei B. Cytochrome C inhibits tumor growth and predicts favorable prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2019 Dec;18(6):6026-32.

355. Loh PG, Yang HS, Walsh MA, Wang Q, Wang X, Cheng Z, et al. Structural basis for translational inhibition by the tumour suppressor Pcd4. *EMBO J*. 2009 Feb 4;28(3):274-85.
356. Lou Z, Meng RG, Zhang W, Yu ED, Fu CG. Preoperative carcinoembryonic antibody is predictive of distant metastasis in pathologically T1 colorectal cancer after radical surgery. *World J Gastroenterol*. 2013 Jan 21;19(3):389-93.
357. Loupakis F, Yang D, Yau L, Feng S, Cremolini C, Zhang W, et al. Primary tumor location as a prognostic factor in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015 Feb 24;107(3):dju427.
358. Lu J, Chen Z, Zhao H, Dong H, Zhu L, Zhang Y, et al. ABAT and ALDH6A1, regulated by transcription factor HNF4A, suppress tumorigenic capability in clear cell renal cell carcinoma. *J Transl Med*. 2020 Feb 24;18(1):101.
359. Lu YW, Zhang HF, Liang R, Xie ZR, Luo HY, Zeng YJ, et al. Colorectal Cancer Genetic Heterogeneity Delineated by Multi-Region Sequencing. *PLoS One*. 2016 Mar 29;11(3):e0152673.
360. Lugli A, Tzankov A, Zlobec I, Terracciano LM. Differential diagnostic and functional role of the multi-marker phenotype CDX2/CK20/CK7 in colorectal cancer stratified by mismatch repair status. *Mod Pathol*. 2008 Nov;21(11):1403-12.
361. Luo HY, Tang WL, Xiang L, Peng LL, Wu DB, Zhu ZY, et al. Comprehensive analysis of the correlation between GSTM1 and tumor immunity in colon cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2022 Dec;13(6):3025-37.
362. Luo ML, Zhou Z, Magni K, Christoforides C, Rappsilber J, Mann M, Reed R. Pre-mRNA splicing and mRNA export linked by direct interactions between UAP56 and Aly. *Nature*. 2001 Oct 11;413(6856):644-7.
363. Lv Y, Nie SL, Zhou JM, Liu F, Hu YB, Jiang JR, et al. Overexpression of NDUFA4L2 is associated with poor prognosis in patients with colorectal cancer. *ANZ J Surg*. 2017 Dec;87(12):E251-E255.
364. Lykke J, Roikjaer O, Jess P; Danish Colorectal Cancer Group. The relation between lymph node status and survival in Stage I-III colon cancer: results from a prospective nationwide cohort study. *Colorectal Dis*. 2013 May;15(5):559-65.
365. Ma C, Olevian D, Miller C, Herbst C, Jayachandran P, Kozak MM, et al. SATB2 and CDX2 are prognostic biomarkers in DNA mismatch repair protein deficient colon cancer. *Mod Pathol*. 2019 Jul;32(8):1217-31.
366. Ma XL, Hu B, Tang WG, Xie SH, Ren N, Guo L, et al. CD73 sustained cancer-stem-cell traits by promoting SOX9 expression and stability in hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol*. 2020 Feb 5;13(1):11.

367. Mahajan M, Sarkar A, Mondal S. Cell cycle protein BORA is associated with colorectal cancer progression by AURORA-PLK1 cascades: a bioinformatics analysis. *J Cell Commun Signal.* 2023 Sep;17(3):773-91.
368. Mai W, Kawakami K, Shakoori A, Kyo S, Miyashita K, Yokoi K, et al. Deregulated GSK3 $\beta$  sustains gastrointestinal cancer cells survival by modulating human telomerase reverse transcriptase and telomerase. *Clin Cancer Res.* 2009 Nov 15;15(22):6810-9.
369. Maida M, Dahiya DS, Shah YR, Tiwari A, Gopakumar H, Vohra I, et al. Screening and Surveillance of Colorectal Cancer: A Review of the Literature. *Cancers (Basel).* 2024 Aug 1;16(15):2746.
370. Maki M, Takahara T, Shibata H. Multifaceted Roles of ALG-2 in Ca $^{2+}$ -Regulated Membrane Trafficking. *Int J Mol Sci.* 2016 Aug 26;17(9):1401.
371. Maltseva D, Raygorodskaya M, Knyazev E, Zgoda V, Tikhonova O, Zaidi S, et al. Knockdown of the  $\alpha 5$  laminin chain affects differentiation of colorectal cancer cells and their sensitivity to chemotherapy. *Biochimie.* 2020 Jul;174:107-16.
372. Mamidi S, Höne S, Kirschfink M. The complement system in cancer: Ambivalence between tumour destruction and promotion. *Immunobiology.* 2017 Jan;222(1):45-54.
373. Manzo T, Prentice BM, Anderson KG, Raman A, Schalek A, Codreanu GS, et al. Accumulation of long-chain fatty acids in the tumor microenvironment drives dysfunction in intrapancreatic CD8 $^{+}$  T cells. *J Exp Med.* 2020 Aug 3;217(8):e20191920.
374. Marcello E, Saraceno C, Musardo S, Vara H, de la Fuente AG, Pelucchi S, et al. Endocytosis of synaptic ADAM10 in neuronal plasticity and Alzheimer's disease. *J Clin Invest.* 2013 Jun;123(6):2523-38.
375. Marintchev A, Edmonds KA, Marintcheva B, Hendrickson E, Oberer M, Suzuki Cet al. Topology and regulation of the human eIF4A/4G/4H helicase complex in translation initiation. *Cell.* 2009 Feb 6;136(3):447-60.
376. Maruyama T, Nara K, Yoshikawa H, Suzuki N. Txk, a member of the non-receptor tyrosine kinase of the Tec family, forms a complex with poly(ADP-ribose) polymerase 1 and elongation factor 1 $\alpha$  and regulates interferon- $\gamma$  gene transcription in Th1 cells. *Clin Exp Immunol.* 2007 Jan;147(1):164-75.
377. Masoomi H, Ziogas A, Lin BS, Barleben A, Mills S, Stamos MJ, et al. Population-based evaluation of adenocarcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum.* 2012 May;55(5):509-14.
378. Matassa DS, Amoroso MR, Agliarulo I, Maddalena F, Sisinni L, Paladino S, et al. Translational control in the stress adaptive response of cancer cells: a novel role for the heat shock protein TRAP1. *Cell Death Dis.* 2013 Oct 10;4(10):e851.

379. McArdle CS, Hole DJ. Emergency presentation of colorectal cancer is associated with poor 5-year survival. *Br J Surg*. 2004 May;91(5):605-9.
380. McDonnell T, Wincup C, Buchholz I, Pericleous C, Giles I, Ripoll V, et al. The role of beta-2-glycoprotein I in health and disease associating structure with function: More than just APS. *Blood Rev*. 2020 Jan;39:100610.
381. Mehranfard D, Perez G, Rodriguez A, Ladna JM, Neagra CT, Goldstein B, et al. Alterations in Gene Expression of Renin-Angiotensin System Components and Related Proteins in Colorectal Cancer. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2021 Jul 5;2021:9987115.
382. Meléndez R, Meléndez-Hevia E, Canela EI. The fractal structure of glycogen: A clever solution to optimize cell metabolism. *Biophys J*. 1999 Sep;77(3):1327-32.
383. Melling N, Kowitz CM, Simon R, Bokemeyer C, Terracciano L, Sauter G, Izbicki JR, Marx AH. High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer. *J Clin Pathol*. 2016 Mar;69(3):209-14.
384. Melo M, da Rocha AG, Vinagre J, Batista R, Peixoto J, Tavares C, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 May;99(5):E754-65
385. Menckeberg CL, Hol J, Simons-Oosterhuis Y, Raatgeep HR, de Ruyter LF, Lindenbergh-Kortleve DJ, et al. Human buccal epithelium acquires microbial hyporesponsiveness at birth, a role for secretory leukocyte protease inhibitor. *Gut*. 2015 Jun;64(6):884-93.
386. Menon SS, Guruvayoorappan C, Sakthivel KM, Rasmi RR. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker. *Clin Chim Acta*. 2019 Apr;491:39-45.
387. Messaoudi N, Cousineau I, Arslanian E, Henault D, Stephen D, Vandembroucke-Menu F, et al. Prognostic value of CD73 expression in resected colorectal cancer liver metastasis. *Oncoimmunology*. 2020 Apr 23;9(1):1746138.
388. Miao Y, Wang J, Ma X, Yang Y, Mi D. Identification prognosis-associated immune genes in colon adenocarcinoma. *Biosci Rep*. 2020 Nov 27;40(11):BSR20201734.
389. Mikami S, Masutani M, Sonenberg N, Yokoyama S, Imataka H. An efficient mammalian cell-free translation system supplemented with translation factors. *Protein Expr Purif*. 2006 Apr;46(2):348-57.
390. Milione M, Maisonneuve P, Spada F, Pellegrinelli A, Spaggiari P, Albarello L, et al. The Clinicopathologic Heterogeneity of Grade 3 Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms: Morphological Differentiation and Proliferation Identify Different Prognostic Categories. *Neuroendocrinology*. 2017;104(1):85-93.
391. Min HY, Cho J, Sim JY, Boo HJ, Lee JS, Lee SB, et al. S100A14: A novel negative regulator of cancer stemness and immune evasion by inhibiting STAT3-mediated

- programmed death-ligand 1 expression in colorectal cancer. *Clin Transl Med.* 2022 Jul;12(7):e986.
392. Minamiya Y, Kawai H, Saito H, Ito M, Hosono Y, Motoyama S, et al. REG1A expression is an independent factor predictive of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2008 Apr;60(1):98-104.
393. Miura R, Yokoyama Y, Shigeto T, Futagami M, Mizunuma H. Inhibitory effect of carbonyl reductase 1 on ovarian cancer growth via tumor necrosis factor receptor signaling. *Int J Oncol.* 2015 Dec;47(6):2173-80.
394. Modelska A, Turro E, Russell R, Beaton J, Sbarrato T, Spriggs K, et al. The malignant phenotype in breast cancer is driven by eIF4A1-mediated changes in the translational landscape. *Cell Death Dis.* 2015 Jan 22;6(1):e1603.
395. Moen L, Liu B, Bukirwa P, Chingonzoh T, Chokunonga E, Finesse A, Korir A, Lamin B, Lorenzoni CF, Manraj SS, N'Da G, Odzebe AWS, Ogunbiyi O, Somdyala NIM, Packzowski M, Parkin DM. Trends in the incidence of colorectal cancer in sub-Saharan Africa: A population-based registry study. *Int J Cancer.* 2024 Aug 15;155(4):675-82.
396. Morton D, Seymour M, Magill L, Handley K, Glasbey J, Glimelius B, et al. Preoperative Chemotherapy for Operable Colon Cancer: Mature Results of an International Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol.* 2023 Mar 10;41(8):1541-52.
397. Mosalem O, Coston TW, Imperial R, Mauer E, Thompson C, Yilma B, et al. A comprehensive analysis of POLE/POLD1 genomic alterations in colorectal cancer. *Oncologist.* 2024 May 22:oyae098.
398. Müller FE, Braun M, Syring I, Klümper N, Schmidt D, Perner S, et al. NDUFA4 expression in clear cell renal cell carcinoma is predictive for cancer-specific survival. *Am J Cancer Res.* 2015 Aug 15;5(9):2816-22.
399. Murakami A, Yakabe K, Yoshidomi K, Sueoka K, Nawata S, Yokoyama Y, et al. Decreased carbonyl reductase 1 expression promotes malignant behaviours by induction of epithelial mesenchymal transition and its clinical significance. *Cancer Lett.* 2012 Oct 1;323(1):69-76.
400. Murakoshi Y, Honda K, Sasazuki S, Ono M, Negishi A, Matsubara J, et al. Plasma biomarker discovery and validation for colorectal cancer by quantitative shotgun mass spectrometry and protein microarray. *Cancer Sci.* 2011 Mar;102(3):630-8.
401. Myöhänen S, Baylin SB. Sequence-specific DNA binding activity of RNA helicase A to the p16INK4a promoter. *J Biol Chem.* 2001 Jan 12;276(2):1634-42.

402. Myöhänen TT, Pyykkö E, Männistö PT, Carpen O. Distribution of prolyl oligopeptidase in human peripheral tissues and in ovarian and colorectal tumors. *J Histochem Cytochem.* 2012 Sep;60(9):706-15.
403. Myöhänen TT, Tenorio-Laranga J, Jokinen B, Vázquez-Sánchez R, Moreno-Baylach MJ, García-Horsman JA, et al. Prolyl oligopeptidase induces angiogenesis both in vitro and in vivo in a novel regulatory manner. *Br J Pharmacol.* 2011 Aug;163(8):1666-78.
404. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020 Jan;76(2):182-88.
405. Namba T, Dóczy J, Pinson A, Xing L, Kalebic N, Wilsch-Bräuninger M, et al. Human-Specific ARHGAP11B Acts in Mitochondria to Expand Neocortical Progenitors by Glutaminolysis. *Neuron.* 2020 Mar 4;105(5):867-881.e9.
406. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Apr 18;93(8):583-96.
407. Ng TH, Sham KWY, Xie CM, Ng SSM, To KF, Tong JHM, et al. Eukaryotic elongation factor-2 kinase expression is an independent prognostic factor in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2019 Jul 2;19(1):649.
408. Ngeow J, Heald B, Rybicki LA, Orloff MS, Chen JL, Liu X, et al. Prevalence of germline PTEN, BMPR1A, SMAD4, STK11, and ENG mutations in patients with moderate-load colorectal polyps. *Gastroenterology.* 2013 Jun;144(7):1402-9, 1409.e1-5.
409. Nie J, Liu T, Mao T, Yang H, Deng W, Liu X, et al. Transcriptome sequencing and single-cell sequencing analysis identify GARS1 as a potential prognostic and immunotherapeutic biomarker for multiple cancers, including bladder cancer. *Front Immunol.* 2023 Jun 19;14:1169588.
410. Niedzwiecka K, Kabala AM, Lasserre JP, Tribouillard-Tanvier D, Golik P, Dautant A, et al. Yeast models of mutations in the mitochondrial ATP6 gene found in human cancer cells. *Mitochondrion.* 2016 Jul;29:7-17.
411. Nickel MC, Bipat S, Stoker J. Diagnostic imaging of colorectal liver metastases with CT, MR imaging, FDG PET, and/or FDG PET/CT: a meta-analysis of prospective studies including patients who have not previously undergone treatment. *Radiology.* 2010 Dec;257(3):674-84.
412. Nielsen M, Joerink-van de Beld MC, Jones N, Vogt S, Tops CM, Vasen HF, et al. Analysis of MUTYH genotypes and colorectal phenotypes in patients With MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology.* 2009 Feb;136(2):471-6.

413. Ning G, Huang YL, Zhen LM, Xu WX, Li XJ, Wu LN, et al. Prognostic Value of Complement Component 2 and Its Correlation with Immune Infiltrates in Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int.* 2020 Jun 14;2020:3765937.
414. Nitsche U, Zimmermann A, Späth C, Müller T, Maak M, Schuster T, et al. Mucinous and signet-ring cell colorectal cancers differ from classical adenocarcinomas in tumor biology and prognosis. *Ann Surg.* 2013 Nov;258(5):775-82
415. Niu Y, Xue J, Wu X, Qu M, Wang L, Liang W, et al. Clinical Significance of Serum Haptoglobin and Protein Disulfide-Isomerase A3 in the Screening, Diagnosis, and Staging of Colorectal Cancer. *Front Pharmacol.* 2022 Jul 4;13:935500.
416. Noè R, Inglese N, Romani P, Serafini T, Paoli C, Calciolari B, et al. Organic Selenium induces ferroptosis in pancreatic cancer cells. *Redox Biol.* 2023 Dec;68:102962.
417. Nozaki T, Fujihara H, Watanabe M, Tsutsumi M, Nakamoto K, Kusuoka O, et al. Parp-1 deficiency implicated in colon and liver tumorigenesis induced by azoxymethane. *Cancer Sci.* 2003 Jun;94(6):497-500.
418. Nugteren S, den Uil SH, Delis-van Diemen PM, Simons-Oosterhuis Y, Lindenbergh-Kortleve DJ, van Haaften DH, et al. High expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in stage III micro-satellite stable colorectal cancer is associated with reduced disease recurrence. *Sci Rep.* 2022 Jul 16;12(1):12174.
419. Nurmi AK, Pelttari LM, Kiiski JI, Khan S, Nurmikolu M, Suvanto M, et al. NTHL1 is a recessive cancer susceptibility gene. *Sci Rep.* 2023 Nov 30;13(1):21127.
420. O-charoenrat P, Rusch V, Talbot SG, Sarkaria I, Viale A, Socci N, et al. Casein kinase II alpha subunit and C1-inhibitor are independent predictors of outcome in patients with squamous cell carcinoma of the lung. *Clin Cancer Res.* 2004 Sep 1;10(17):5792-803.
421. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst.* 2004 Oct 6;96(19):1420-5.
422. O'connor T, Ireland LS, Harrison DJ, Hayes JD. Major differences exist in the function and tissue-specific expression of human aflatoxin B1 aldehyde reductase and the principal human aldo-keto reductase AKR1 family members. *Biochem J.* 1999 Oct 15;343 Pt 2(Pt 2):487-504.
423. Oh SY, Kim CW, Kim S, Kim MH, Kim YI, Lee JL, et al. Complete Obstruction, a Real Risk Factor: A Comprehensive Study on Obstruction in Stage IIA Colon Cancer With Propensity Score Matching Analysis. *Clin Colorectal Cancer.* 2024 Jun;23(2):135-146.e3.

424. Okumura R, Kodama T, Hsu CC, Sahlgren BH, Hamano S, Kurakawa T, et al. Lypd8 inhibits attachment of pathogenic bacteria to colonic epithelia. *Mucosal Immunol.* 2020 Jan;13(1):75-85.
425. Olszewska E, Borzym-Kluczyk M, Rzewnicki I, Rutkowska J, Knas M, Rogowski M, Waniewska E, Wielgosz R. Hexosaminidase as a new potential marker for larynx cancer. *Clin Biochem.* 2009 Jul;42(10-11):1187-9.
426. Otsubo T, Iwaya K, Mukai Y, Mizokami Y, Serizawa H, Matsuoka T, et al. Involvement of Arp2/3 complex in the process of colorectal carcinogenesis. *Mod Pathol.* 2004 Apr;17(4):461-7.
427. Ou R, Lin C, Chen Y. CST2 is activated by RUNX1 and promotes pancreatic cancer progression by activating PI3K/AKT pathway. *Arch Biochem Biophys.* 2023 Oct 1;747:109760.
428. Özgür E, Keskin M, Yörüker EE, Holdenrieder S, Gezer U. Plasma Histone H4 and H4K20 Trimethylation Levels Differ Between Colon Cancer and Precancerous Polyps. *In Vivo.* 2019 Sep-Oct;33(5):1653-8.
429. Palma F, Agostini D, Mason P, Dachà M, Piccoli G, Biagiarelli B, et al. Purification and characterization of the carboxyl-domain of human hexokinase type III expressed as fusion protein. *Mol Cell Biochem.* 1996 Feb 9;155(1):23-9.
430. Pan Q, Yu F, Jin H, Zhang P, Huang X, Peng J, et al. eIF3f Mediates SGOC Pathway Reprogramming by Enhancing Deubiquitinating Activity in Colorectal Cancer. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Sep;10(27):e2300759.
431. Paolini NA, Attwood M, Sondalle SB, Vieira CMDS, van Adrichem AM, di Summa FM, et al. A Ribosomopathy Reveals Decoding Defective Ribosomes Driving Human Dysmorphisms. *Am J Hum Genet.* 2017 Mar 2;100(3):506-522.
432. Patel P, De P. Trends in colorectal cancer incidence and related lifestyle risk factors in 15-49-year-olds in Canada, 1969-2010. *Cancer Epidemiol.* 2016 Jun;42:90-100.
433. Pathria G, Scott DA, Feng Y, Sang Lee J, Fujita Y, Zhang G, et al. Targeting the Warburg effect via LDHA inhibition engages ATF4 signaling for cancer cell survival. *EMBO J.* 2018 Oct 15;37(20):e99735.
434. Payne CM, Bernstein C, Dvorak K, Bernstein H. Hydrophobic bile acids, genomic instability, Darwinian selection, and colon carcinogenesis. *Clin Exp Gastroenterol.* 2008;1:19-47.
435. Pelosof L, Yerram S, Armstrong T, Chu N, Danilova L, Yanagisawa B, et al. GPX3 promoter methylation predicts platinum sensitivity in colorectal cancer. *Epigenetics.* 2017 Jul 3;12(7):540-50.
436. Peng S, Du T, Wu W, Chen X, Lai Y, Zhu D, et al. Decreased expression of serine protease inhibitor family G1 (SERPING1) in prostate cancer can help distinguish high-

- risk prostate cancer and predicts malignant progression. *Urol Oncol.* 2018 Aug;36(8):366.e1-366.e9.
437. Peng XC, Gong FM, Wei M, Chen X, Chen Y, Cheng K, Gao F, Xu F, Bi F, Liu JY. Proteomic analysis of cell lines to identify the irinotecan resistance proteins. *J Biosci.* 2010 Dec;35(4):557-64.
438. Perez RE, Calhoun S, Shim D, Levenson VV, Duan L, Maki CG. Prolyl endopeptidase inhibitor Y-29794 blocks the IRS1-AKT-mTORC1 pathway and inhibits survival and *in vivo* tumor growth of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Ther.* 2020 Nov 1;21(11):1033-1040.
439. Petersen VC, Baxter KJ, Love SB, Shepherd NA. Identification of objective pathological prognostic determinants and models of prognosis in Dukes' B colon cancer. *Gut.* 2002 Jul;51(1):65-9.
440. Petrelli F, Pezzica E, Cabiddu M, Coinu A, Borgonovo K, Ghilardi M, et al. Tumour Budding and Survival in Stage II Colorectal Cancer: a Systematic Review and Pooled Analysis. *J Gastrointest Cancer.* 2015 Sep;46(3):212-8.
441. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, Ghidini M, Turati L, Dallera P, et al. Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2017 Feb 1;3(2):211-219.
442. Pickard MR, Edwards SE, Cooper CS, Williams GT. Apoptosis regulators Fau and Bcl-G are down-regulated in prostate cancer. *Prostate.* 2010 Oct 1;70(14):1513-23.
443. Pickard MR, Green AR, Ellis IO, Caldas C, Hedge VL, Mourtada-Maarabouni M, et al. Dysregulated expression of Fau and MELK is associated with poor prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2009;11(4):R60.
444. Pickard MR, Mourtada-Maarabouni M, Williams GT. Candidate tumour suppressor Fau regulates apoptosis in human cells: an essential role for Bcl-G. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Sep;1812(9):1146-53.
445. 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 Nov 6;105(21):1607-16
446. Plebuch M, Soldan M, Hungerer C, Koch L, Maser E. Increased resistance of tumor cells to daunorubicin after transfection of cDNAs coding for anthracycline inactivating enzymes. *Cancer Lett.* 2007 Sep 18;255(1):49-56.
447. Polekhina G, Board PG, Gali RR, Rossjohn J, Parker MW. Molecular basis of glutathione synthetase deficiency and a rare gene permutation event. *EMBO J.* 1999 Jun 15;18(12):3204-13.
448. Pottgiesser SJ, Heinzelmann S, Bauer G. Intercellular HOCl-mediated Apoptosis Induction in Malignant Cells: Interplay Between NOX1-Dependent Superoxide Anion

- Generation and DUOX-related HOCl-generating Peroxidase Activity. *Anticancer Res.* 2015 Nov;35(11):5927-43.
449. Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Lett.* 2017 Feb 28;387:95-105.
450. Pudova EA, Kudryavtseva AV, Fedorova MS, Zaretsky AR, Shcherbo DS, Lukyanova EN, et al. HK3 overexpression associated with epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer. *BMC Genomics.* 2018 Feb 9;19(Suppl 3):113.
451. Puppo M, Bucci G, Rossi M, Giovarelli M, Bordo D, Moshiri A, et al. miRNA-Mediated KHSRP Silencing Rewires Distinct Post-transcriptional Programs during TGF- $\beta$ -Induced Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Cell Rep.* 2016 Jul 26;16(4):967-78.
452. Qin Z, Xiang C, Zhong F, Liu Y, Dong Q, Li K, et al. Transketolase (TKT) activity and nuclear localization promote hepatocellular carcinoma in a metabolic and a non-metabolic manner. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019 Apr 11;38(1):154.
453. Qu HL, Hasen GW, Hou YY, Zhang CX. THBS2 promotes cell migration and invasion in colorectal cancer via modulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Kaohsiung J Med Sci.* 2022 May;38(5):469-78.
454. Quah HM, Chou JF, Gonen M, Shia J, Schrag D, Landmann RG, et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum.* 2008 May;51(5):503-7.
455. Quasar Collaborative Group; Gray R, Barnwell J, McConkey C, Hills RK, Williams NS, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet.* 2007 Dec 15;370(9604):2020-9.
456. Quesada-Calvo F, Massot C, Bertrand V, Longuespée R, Blétard N, Somja J, et al. OLFM4, KNG1 and Sec24C identified by proteomics and immunohistochemistry as potential markers of early colorectal cancer stages. *Clin Proteomics.* 2017 Mar 24;14:9.
457. Quintero E, Carrillo M, Leoz ML, Cubiella J, Gargallo C, Lanás A, et al. Risk of Advanced Neoplasia in First-Degree Relatives with Colorectal Cancer: A Large Multicenter Cross-Sectional Study. *PLoS Med.* 2016 May 3;13(5):e1002008.
458. Ramasamy S, Singh S, Taniere P, Langman MJ, Eggo MC. Sulfide-detoxifying enzymes in the human colon are decreased in cancer and upregulated in differentiation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Aug;291(2):G288-96.
459. Ramasubramanian A, Arumugam P, Ramani P, Kannan BC, Murugan MS. Identification of Novel Cytochrome C1 (CYC1) Gene Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma- An Evaluative Study. *Ann Maxillofac Surg.* 2022 Jul-Dec;12(2):144-50.

460. Rawala-Sheikh R, Ahmad SS, Monroe DM, Roberts HR, Walsh PN. Role of gamma-carboxyglutamic acid residues in the binding of factor IXa to platelets and in factor-X activation. *Blood*. 1992 Jan 15;79(2):398-405.
461. Rebane-Klemm E, Reinsalu L, Puurand M, Shevchuk I, Bogovskaja J, Suurmaa K, et al. Colorectal polyps increase the glycolytic activity. *Front Oncol*. 2023 Jun 5;13:1171887.
462. Rejali L, Seifollahi Asl R, Sanjabi F, Fatemi N, Asadzadeh Aghdaei H, Saeedi Niasar M, et al. Principles of Molecular Utility for CMS Classification in Colorectal Cancer Management. *Cancers (Basel)*. 2023 May 13;15(10):2746.
463. Rekhman N, Baine MK, Bishop JA. Quick reference handbook for surgical pathologists. 2nd edition. Springer Nature Switzerland AG, Cham, Switzerland 2019
464. Ren H, Mai G, Liu Y, Xiang R, Yang C, Su W. Eukaryotic Translation Initiation Factor 3 Subunit B Is a Promoter in the Development and Progression of Pancreatic Cancer. *Front Oncol*. 2021 Apr 29;11:644156.
465. Ren M, Zhou C, Liang H, Wang X, Xu L. RNAi-Mediated Silencing of EIF3D Alleviates Proliferation and Migration of Glioma U251 and U87MG Cells. *Chem Biol Drug Des*. 2015 Oct;86(4):715-22.
466. Repetto O, Maiero S, Magris R, Miolo G, Cozzi MR, Steffan A, et al. Quantitative Proteomic Approach Targeted to Fibrinogen  $\beta$  Chain in Tissue Gastric Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2018 Mar 7;19(3):759.
467. Retzlaff M, Stahl M, Eberl HC, Lagleder S, Beck J, Kessler H, et al. Hsp90 is regulated by a switch point in the C-terminal domain. *EMBO Rep*. 2009 Oct;10(10):1147-53.
468. Režen T, Rozman D, Kovács T, Kovács P, Sipos A, Bai P, et al. The role of bile acids in carcinogenesis. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Apr 16;79(5):243.
469. Rosso M, Lapyckyj L, Amiano N, Besso MJ, Sánchez M, Chuluyan E, et al. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) expression downregulates E-cadherin, induces  $\beta$ -catenin re-localisation and triggers apoptosis-related events in breast cancer cells. *Biol Cell*. 2014 Sep;106(9):308-22.
470. Roy SK, Shrivastava A, Srivastav S, Shankar S, Srivastava RK. SATB2 is a novel biomarker and therapeutic target for cancer. *J Cell Mol Med*. 2020 Oct;24(19):11064-9.
471. Sahni S, Krisp C, Molloy MP, Nahm C, Maloney S, Gillson J, et al. PSMD11, PTPRM and PTPRB as novel biomarkers of pancreatic cancer progression. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2020 Nov;1864(11):129682.
472. Sakai LY, Keene DR, Glanville RW, Bächinger HP. Purification and partial characterization of fibrillin, a cysteine-rich structural component of connective tissue microfibrils. *J Biol Chem*. 1991 Aug 5;266(22):14763-70

473. Sallinen V. High Pathological Response Rate After Neoadjuvant Immunotherapy in Locally Advanced Mismatch Repair-Deficient Colon Cancer (NICHE-2 Study). *Gastroenterology*. 2024 Aug 6:S0016-5085(24)05303-4.
474. Salminen E, Palmu S, Vahlberg T, Roberts PJ, Söderström KO. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol*. 2005 Jun 7;11(21):3245-9.
475. Salvo E, Garasa S, Dotor J, Morales X, Peláez R, Altevogt P, Rouzaut A. Combined targeting of TGF- $\beta$ 1 and integrin  $\beta$ 3 impairs lymph node metastasis in a mouse model of non-small-cell lung cancer. *Mol Cancer*. 2014 May 19;13:112.
476. Samadder NJ, Smith KR, Wong J, Thomas A, Hanson H, Boucher K, et al. Cancer Risk in Families Fulfilling the Amsterdam Criteria for Lynch Syndrome. *JAMA Oncol*. 2017 Dec 1;3(12):1697-701.
477. Sánchez-Aragó M, Chamorro M, Cuezva JM. Selection of cancer cells with repressed mitochondria triggers colon cancer progression. *Carcinogenesis*. 2010 Apr;31(4):567-76.
478. Sanghani SP, Quinney SK, Fredenburg TB, Sun Z, Davis WI, Murry DJ, et al. Carboxylesterases expressed in human colon tumor tissue and their role in CPT-11 hydrolysis. *Clin Cancer Res*. 2003 Oct 15;9(13):4983-91.
479. Santelli E, Leone M, Li C, Fukushima T, Preece NE, Olson AJ, et al. Structural analysis of Siah1-Siah-interacting protein interactions and insights into the assembly of an E3 ligase multiprotein complex. *J Biol Chem*. 2005 Oct 7;280(40):34278-87.
480. Santos C, López-Doriga A, Navarro M, Mateo J, Biondo S, Martínez Villacampa M, et al. Clinicopathological risk factors of Stage II colon cancer: results of a prospective study. *Colorectal Dis*. 2013 Apr;15(4):414-22.
481. Schatz C, Sprung S, Schartinger V, Codina-Martínez H, Lechner M, Hermsen M, et al. Dysregulation of Translation Factors EIF2S1, EIF5A and EIF6 in Intestinal-Type Adenocarcinoma (ITAC). *Cancers (Basel)*. 2021 Nov 11;13(22):5649.
482. Schmitt M, Silva M, Konukiewitz B, Lang C, Steiger K, Halfter K, et al. Loss of SATB2 Occurs More Frequently Than CDX2 Loss in Colorectal Carcinoma and Identifies Particularly Aggressive Cancers in High-Risk Subgroups. *Cancers (Basel)*. 2021 Dec 7;13(24):6177.
483. Schmoll HJ, Taberero J, Maroun J, de Braud F, Price T, Van Cutsem E, et al. Capecitabine Plus Oxaliplatin Compared With Fluorouracil/Folinic Acid As Adjuvant Therapy for Stage III Colon Cancer: Final Results of the NO16968 Randomized Controlled Phase III Trial. *J Clin Oncol*. 2015 Nov 10;33(32):3733-40.
484. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. *Larsen's Human Embryology*, 5th edition. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2015

485. Schreck SF, Parker C, Plumb ME, Sodetz JM. Human complement protein C8 gamma. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Oct 18;1482(1-2):199-208.
486. Schwarz M, Löser A, Cheng Q, Wichmann-Costaganna M, Schädel P, Werz O, et al. Side-by-side comparison of recombinant human glutathione peroxidases identifies overlapping substrate specificities for soluble hydroperoxides. *Redox Biol*. 2023 Feb;59:102593.
487. Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host Microbe*. 2014 Mar 12;15(3):317-28.
488. Seitz HK, Matsuzaki S, Yokoyama A, Homann N, Väkeväinen S, Wang XD. Alcohol and cancer. *Alcohol Clin Exp Res*. 2001 May;25(5 Suppl ISBRA):137S-143S.
489. Seitz HK, Stickel F. Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism. *Genes Nutr*. 2010 Jun;5(2):121-8.
490. Shang B, Lu F, Jiang S, Xing M, Mao X, Yang G, et al. ALDOC promotes non-small cell lung cancer through affecting MYC-mediated UBE2N transcription and regulating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Aging (Albany NY)*. 2023 Sep 18;15(18):9614-32.
491. Shang J, Zhang Z, Song W, Zhou B, Zhang Y, Li G, et al. S100A10 as a novel biomarker in colorectal cancer. *Tumour Biol*. 2013 Dec;34(6):3785-90.
492. Sharma D, Singh M, Rani R. Role of LDH in tumor glycolysis: Regulation of LDHA by small molecules for cancer therapeutics. *Semin Cancer Biol*. 2022 Dec;87:184-95.
493. Shen FF, Zhang F, Yang HJ, Li JK, Su JF, Yu PT, et al. *ADAMTS9-AS2* and *CADM2* expression and association with the prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Biomark Med*. 2020 Oct;14(15):1415-26.
494. Shen H, Huang J, Pei H, Zeng S, Tao Y, Shen L, et al. Comparative proteomic study for profiling differentially expressed proteins between Chinese left- and right-sided colon cancers. *Cancer Sci*. 2013 Jan;104(1):135-41.
495. Shen H, Yang J, Huang Q, Jiang MJ, Tan YN, Fu JF, Zhu LZ, Fang XF, Yuan Y. Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers. *World J Gastroenterol*. 2015 Jun 7;21(21):6470-8.
496. Shen L, Qu X, Li H, Xu C, Wei M, Wang Q, et al. NDRG2 facilitates colorectal cancer differentiation through the regulation of Skp2-p21/p27 axis. *Oncogene*. 2018 Mar;37(13):1759-74.
497. Shen P, Reineke LC, Knutsen E, Chen M, Pichler M, Ling H, et al. Metformin blocks MYC protein synthesis in colorectal cancer via mTOR-4EBP-eIF4E and MNK1-eIF4G-eIF4E signaling. *Mol Oncol*. 2018 Nov;12(11):1856-70.

498. Shi H, Cordin O, Minder CM, Linder P, Xu RM. Crystal structure of the human ATP-dependent splicing and export factor UAP56. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Dec 21;101(51):17628-33.
499. Shi H, Hayes M, Kirana C, Miller R, Keating J, Macartney-Coxson D, et al. TUFM is a potential new prognostic indicator for colorectal carcinoma. *Pathology*. 2012 Oct;44(6):506-12.
500. Shi HJ, Stubbs R, Hood K. Characterization of de novo synthesized proteins released from human colorectal tumour explants. *Electrophoresis*. 2009 Jul;30(14):2442-53.
501. Shriver SP, Shriver MD, Tirpak DL, Bloch LM, Hunt JD, Ferrell RE, et al. Trinucleotide repeat length variation in the human ribosomal protein L14 gene (RPL14): localization to 3p21.3 and loss of heterozygosity in lung and oral cancers. *Mutat Res*. 1998 Nov;406(1):9-23.
502. Siegel RL, Fedewa SA, Anderson WF, Miller KD, Ma J, Rosenberg PS, et al. Colorectal Cancer Incidence Patterns in the United States, 1974-2013. *J Natl Cancer Inst*. 2017 Aug 1;109(8):djw322.
503. Siegel RL, Wagle NS, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*. 2023 May-Jun;73(3):233-54.
504. Simmler P, Cortijo C, Koch LM, Galliker P, Angori S, Bolck HA, et al. SF3B1 facilitates HIF1-signaling and promotes malignancy in pancreatic cancer. *Cell Rep*. 2022 Aug 23;40(8):111266.
505. Singh S, Vanden Broeck A, Miller L, Chaker-Margot M, Klinge S. Nucleolar maturation of the human small subunit processome. *Science*. 2021 Sep 10;373(6560):eabj5338.
506. Slattery ML, Lundgreen A, Wolff RK. MAP kinase genes and colon and rectal cancer. *Carcinogenesis*. 2012 Dec;33(12):2398-408.
507. Smith HG, Schlesinger NH, Chiranth D, Qvortrup C. The Association of Mismatch Repair Status with Microscopically Positive (R1) Margins in Stage III Colorectal Cancer: A Retrospective Cohort Study. *Ann Surg Oncol*. 2024 Jun 21.
508. Smith HG, Skovgaards DM, Chiranth D, Schlesinger NH. The impact of subdivisions of microscopically positive (R1) margins on patterns of relapse in stage III colorectal cancer - A retrospective cohort study. *Colorectal Dis*. 2022 Jul;24(7):828-37.
509. Son J, Lyssiotis CA, Ying H, Wang X, Hua S, Ligorio M, et al. Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. *Nature*. 2013 Apr 4;496(7443):101-5.
510. Song H, Zeng J, Roychoudhury S, Biswas P, Mohapatra B, Ray S, et al. Targeting Histone Chaperone FACT Complex Overcomes 5-Fluorouracil Resistance in Colon Cancer. *Mol Cancer Ther*. 2020 Jan;19(1):258-69.

511. Song L, Yang C, He XF. Individual and combined effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on colorectal cancer risk: an updated meta-analysis. *Biosci Rep*. 2020 Aug 28;40(8):BSR20201927.
512. Soon PS, Libe R, Benn DE, Gill A, Shaw J, Sywak MS, et al. Loss of heterozygosity of 17p13, with possible involvement of ACADVL and ALOX15B, in the pathogenesis of adrenocortical tumors. *Ann Surg*. 2008 Jan;247(1):157-64.
513. Söylemez Z, Arıkan ES, Solak M, Arıkan Y, Tokyol Ç, Şeker H. Investigation of the expression levels of CPEB4, APC, TRIP13, EIF2S3, EIF4A1, IFNg, PIK3CA and CTNNB1 genes in different stage colorectal tumors. *Turk J Med Sci*. 2021 Apr 30;51(2):661-74.
514. Spindler BA, Bergquist JR, Thiels CA, Habermann EB, Kelley SR, Larson DW, et al. Incorporation of CEA Improves Risk Stratification in Stage II Colon Cancer. *J Gastrointest Surg*. 2017 May;21(5):770-7.
515. Spriggs KA, Bushell M, Willis AE. Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. *Mol Cell*. 2010 Oct 22;40(2):228-37.
516. Stagg J, Divisekera U, McLaughlin N, Sharkey J, Pommey S, Denoyer D, et al. Anti-CD73 antibody therapy inhibits breast tumor growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jan 26;107(4):1547-52.
517. Steiner A, Hrovat-Schaale K, Prigione I, Yu CH, Laohamonthonkul P, Harapas CR, Low RRJ, De Nardo D, Dagley LF, Mlodzianoski MJ, Rogers KL, Zillinger T, Hartmann G, Gantier MP, Gattorno M, Geyer M, Volpi S, Davidson S, Masters SL. Deficiency in coatmer complex I causes aberrant activation of STING signalling. *Nat Commun*. 2022 Apr 28;13(1):2321.
518. Stjepanovic N, Moreira L, Carneiro F, Balaguer F, Cervantes A, Balmaña J, et al. Hereditary gastrointestinal cancers: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 2019 Oct 1;30(10):1558-71.
519. Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat Res*. 2001 Oct 1;482(1-2):21-6.
520. Stringer EJ, Duluc I, Saandi T, Davidson I, Bialecka M, Sato T, et al. Cdx2 determines the fate of postnatal intestinal endoderm. *Development*. 2012 Feb;139(3):465-74.
521. Sun L, Liu R, Wu ZJ, Liu ZY, Wan AH, Yan S, et al. Galectin-7 Induction by EHMT2 Inhibition Enhances Immunity in Microsatellite Stability Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2024 Mar;166(3):466-82.
522. Sun L, Wan A, Zhou Z, Chen D, Liang H, Liu C, et al. RNA-binding protein RALY reprogrammes mitochondrial metabolism via mediating miRNA processing in colorectal cancer. *Gut*. 2021 Sep;70(9):1698-712.

523. Sun Y, Shang Y, Ren G, Zhou L, Feng B, Li K, et al. Coronin3 regulates gastric cancer invasion and metastasis by interacting with Arp2. *Cancer Biol Ther.* 2014 Sep;15(9):1163-73.
524. Sun Z, Ji S, Wu J, Tian J, Quan W, Shang A, et al. Proteomics-Based Identification of Candidate Exosomal Glycoprotein Biomarkers and Their Value for Diagnosing Colorectal Cancer. *Front Oncol.* 2021 Oct 19;11:725211.
525. Sung HJ, Ahn JM, Yoon YH, Rhim TY, Park CS, Park JY, et al. Identification and validation of SAA as a potential lung cancer biomarker and its involvement in metastatic pathogenesis of lung cancer. *J Proteome Res.* 2011 Mar 4;10(3):1383-95.
526. Suzuki S, Tanigawara Y. Forced expression of S100A10 reduces sensitivity to oxaliplatin in colorectal cancer cells. *Proteome Sci.* 2014 May 9;12:26.
527. Swaminathan G, Cartwright CA. Rack1 promotes epithelial cell-cell adhesion by regulating E-cadherin endocytosis. *Oncogene.* 2012 Jan 19;31(3):376-89.
528. Symonds DA, Vickery AL. Mucinous carcinoma of the colon and rectum. *Cancer.* 1976 Apr;37(4):1891-1900.
529. Szabo R, Netzel-Arnett S, Hobson JP, Antalis TM, Bugge TH. Matriptase-3 is a novel phylogenetically preserved membrane-anchored serine protease with broad serpin reactivity. *Biochem J.* 2005 Aug 15;390(Pt 1):231-42.
530. Tai CS, Lin YR, Teng TH, Lin PY, Tu SJ, Chou CH, et al. Haptoglobin expression correlates with tumor differentiation and five-year overall survival rate in hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2017 Feb 3;12(2):e0171269.
531. Tan L, Cho KJ, Kattan WE, Garrido CM, Zhou Y, Neupane P, Capon RJ, Hancock JF. Acylpeptide hydrolase is a novel regulator of KRAS plasma membrane localization and function. *J Cell Sci.* 2019 Jul 31;132(15):jcs232132.
532. Tang C, Ke M, Yu X, Sun S, Luo X, Liu X, et al. GART Functions as a Novel Methyltransferase in the RUVBL1/ $\beta$ -Catenin Signaling Pathway to Promote Tumor Stemness in Colorectal Cancer. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Sep;10(25):e2301264.
533. Tanigawa G, Orci L, Amherdt M, Ravazzola M, Helms JB, Rothman JE. Hydrolysis of bound GTP by ARF protein triggers uncoating of Golgi-derived COP-coated vesicles. *J Cell Biol.* 1993 Dec;123(6 Pt 1):1365-71.
534. Taniguchi K, Karin M. NF- $\kappa$ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol.* 2018 May;18(5):309-324.
535. Tekcham DS, Chen D, Liu Y, Ling T, Zhang Y, Chen H, et al. F-box proteins and cancer: an update from functional and regulatory mechanism to therapeutic clinical prospects. *Theranostics.* 2020 Mar 4;10(9):4150-4167.

536. Thomas LA, Veysey MJ, French G, Hylemon PB, Murphy GM, Dowling RH. Bile acid metabolism by fresh human colonic contents: a comparison of caecal versus faecal samples. *Gut*. 2001 Dec;49(6):835-42.
537. Thorsen SB, Lundberg M, Villablanca A, Christensen SL, Belling KC, Nielsen BS, et al. Detection of serological biomarkers by proximity extension assay for detection of colorectal neoplasias in symptomatic individuals. *J Transl Med*. 2013 Oct 10;11:253.
538. Tian Y, Zhao K, Yuan L, Li J, Feng S, Feng Y, et al. EIF3B correlates with advanced disease stages and poor prognosis, and it promotes proliferation and inhibits apoptosis in non-small cell lung cancer. *Cancer Biomark*. 2018;23(2):291-300.
539. Tong W, Wang Q, Sun D, Suo J. Curcumin suppresses colon cancer cell invasion via AMPK-induced inhibition of NF- $\kappa$ B, uPA activator and MMP9. *Oncol Lett*. 2016 Nov;12(5):4139-46.
540. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2016 Jan;25(1):16-27.
541. Trastulli S, Cirocchi R, Desiderio J, Coratti A, Guarino S, Renzi C, et al. Robotic versus Laparoscopic Approach in Colonic Resections for Cancer and Benign Diseases: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015 Jul 27;10(7)
542. Trinh A, Ladrach C, Dawson HE, Ten Hoorn S, Kuppen PJK, Reimers MS, et al. Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data. *Br J Cancer*. 2018 Nov;119(10):1244-51.
543. Tsai ST, Wong TY, Ou CY, Fang SY, Chen KC, Hsiao JR, et al. The interplay between alcohol consumption, oral hygiene, ALDH2 and ADH1B in the risk of head and neck cancer. *Int J Cancer*. 2014 Nov 15;135(10):2424-36.
544. Tschesche H, Knäuper V, Krämer S, Michaelis J, Oberhoff R, Reinke H. Latent collagenase and gelatinase from human neutrophils and their activation. *Matrix Suppl*. 1992;1:245-55.
545. Tummala P, Rooke M, Dahlstrom JE, Takahashi S, Casarotto MG, Fernando N, et al. Glutathione transferase Omega 1 confers protection against azoxymethane-induced colorectal tumour formation. *Carcinogenesis*. 2021 Jun 21;42(6):853-63.
546. Tuteja N, Tuteja R, Ochem A, Taneja P, Huang NW, Simoncsits A, et al. Human DNA helicase II: a novel DNA unwinding enzyme identified as the Ku autoantigen. *EMBO J*. 1994 Oct 17;13(20):4991-5001.
547. Ueda S, Kuwabara I, Liu FT. Suppression of tumor growth by galectin-7 gene transfer. *Cancer Res*. 2004 Aug 15;64(16):5672-6.

548. Ullah MA, Islam NN, Moin AT, Park SH, Kim B. Evaluating the Prognostic and Therapeutic Potentials of the Proteasome 26S Subunit, ATPase (*PSMC*) Family of Genes in Lung Adenocarcinoma: A Database Mining Approach. *Front Genet.* 2022 Jul 22;13:935286.
549. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004 Feb 18;96(4):261-8.
550. Urosevic J, Nebreda AR, Gomis RR. MAPK signaling control of colon cancer metastasis. *Cell Cycle.* 2014;13(17):2641-2.
551. Valadez-Cosmes P, Raftopoulou S, Mihalic ZN, Marsche G, Kargl J. Myeloperoxidase: Growing importance in cancer pathogenesis and potential drug target. *Pharmacol Ther.* 2022 Aug;236:108052.
552. Vasaikar S, Huang C, Wang X, Petyuk VA, Savage SR, Wen B, et al. Proteogenomic Analysis of Human Colon Cancer Reveals New Therapeutic Opportunities. *Cell.* 2019 May 2;177(4):1035-1049.e19.
553. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology.* 1999 Jun;116(6):1453-6.
554. Verhoeff SR, van Erning FN, Lemmens VE, de Wilt JH, Pruijt JF. Adjuvant chemotherapy is not associated with improved survival for all high-risk factors in stage II colon cancer. *Int J Cancer.* 2016 Jul 1;139(1):187-93.
555. Verspaget HW, Sier CF, Ganesh S, Griffioen G, Lamers CB. Prognostic value of plasminogen activators and their inhibitors in colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 1995 Jul-Aug;31A(7-8):1105-9.
556. Vinagre J, Almeida A, Pópulo H, Batista R, Lyra J, Pinto V, et al P. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. *Nat Commun.* 2013;4:2185.
557. Vuik FE, Nieuwenburg SA, Bardou M, Lansdorp-Vogelaar I, Dinis-Ribeiro M, Bento MJ, Zadnik V, Pellisé M, Esteban L, Kaminski MF, Suchanek S, Ngo O, Májek O, Leja M, Kuipers EJ, Spaander MC. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut.* 2019 Oct;68(10):1820-26.
558. Vyas M, Patel N, Celli R, Wajapeyee N, Jain D, Zhang X. Glucose Metabolic Reprogramming and Cell Proliferation Arrest in Colorectal Micropapillary Carcinoma. *Gastroenterology Res.* 2019 Jun;12(3):128-34.
559. Vyberg M, Nielsen S. Proficiency testing in immunohistochemistry--experiences from Nordic Immunohistochemical Quality Control (NordiQC). *Virchows Arch.* 2016 Jan;468(1):19-29.

560. Walker JR, Corpina RA, Goldberg J. Structure of the Ku heterodimer bound to DNA and its implications for double-strand break repair. *Nature*. 2001 Aug 9;412(6847):607-14.
561. Wan ES, Qiu W, Morrow J, Beaty TH, Hetmanski J, Make BJ, et al. Genome-wide site-specific differential methylation in the blood of individuals with Klinefelter syndrome. *Mol Reprod Dev*. 2015 May;82(5):377-86.
562. Wang H, He Z, Xia L, Zhang W, Xu L, Yue X et al. PSMB4 overexpression enhances the cell growth and viability of breast cancer cells leading to a poor prognosis. *Oncol Rep*. 2018 Oct;40(4):2343-52.
563. Wang H, Liang L, Fang JY, Xu J. Somatic gene copy number alterations in colorectal cancer: new quest for cancer drivers and biomarkers. *Oncogene*. 2016 Apr 21;35(16):2011-9.
564. Wang J, Wang X, Lin S, Chen C, Wang C, Ma Q, et al. Identification of kininogen-1 as a serum biomarker for the early detection of advanced colorectal adenoma and colorectal cancer. *PLoS One*. 2013 Jul 23;8(7):e70519.
565. Wang K, Zhang FL, Jia W. Glutathione S-transferase  $\omega$  1 promotes the proliferation, migration and invasion, and inhibits the apoptosis of non-small cell lung cancer cells, via the JAK/STAT3 signaling pathway. *Mol Med Rep*. 2021 Jan;23(1):71.
566. Wang L, Tuo H, Song Z, Li W, Peng Y. Reg3A (regenerating family member 3 alpha) acts as a tumor suppressor by targeting DMBT1 (deleted in malignant brain tumors 1) in gastric cancer. *Bioengineered*. 2021 Dec;12(1):7644-7655.
567. Wang L, Wen X, Luan F, Fu T, Gao C, Du H, et al. EIF3B is associated with poor outcomes in gastric cancer patients and promotes cancer progression via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Cancer Manag Res*. 2019 Aug 21;11:7877-91.
568. Wang L, Zhao L, Wei G, Saur D, Seidler B, Wang J, et al. Homoharringtonine could induce quick protein synthesis of PSMD11 through activating MEK1/ERK1/2 signaling pathway in pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem*. 2018 Aug;119(8):6644-56.
569. Wang M, Chen T, Zhang J, Wen X. PP2A drives the stemness in colorectal cancer cells by decreasing the Hippo signaling pathway. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2023 Dec 20;69(14):114-20.
570. Wang M, Zhang G, Zhang Y, Cui X, Wang S, Gao S, et al. Fibrinogen Alpha Chain Knockout Promotes Tumor Growth and Metastasis through Integrin-AKT Signaling Pathway in Lung Cancer. *Mol Cancer Res*. 2020 Jul;18(7):943-54.
571. Wang Q, Chai D, Sobhani N, Sun N, Neeli P, Zheng J, Tian H. C1QBP regulates mitochondrial plasticity to impact tumor progression and antitumor immune response. *Front Physiol*. 2022 Nov 17;13:1012112.

572. Wang Q, Jia S, Jiao Y, Xu L, Wang D, Chen X, et al. SSRP1 influences colorectal cancer cell growth and apoptosis via the AKT pathway. *Int J Med Sci.* 2019 Oct 21;16(12):1573-82.
573. Wang S, Liu Y, Xiao H, Chen Z, Yang X, Yin J, et al. Inhibition of SF3B1 improves the immune microenvironment through pyroptosis and synergizes with  $\alpha$ PDL1 in ovarian cancer. *Cell Death Dis.* 2023 Nov 27;14(11):775.
574. Wang S, Zhou J, Wang XY, Hao JM, Chen JZ, Zhang XM, et al. Down-regulated expression of SATB2 is associated with metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *J Pathol.* 2009 Sep;219(1):114-22.
575. Wang X, Li T. Ropivacaine inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer cells through ITGB1. *Bioengineered.* 2021 Dec;12(1):44-53.
576. Wang X, Shi X, Lu H, Zhang C, Li X, Zhang T, et al. Succinylation Inhibits the Enzymatic Hydrolysis of the Extracellular Matrix Protein Fibrillin 1 and Promotes Gastric Cancer Progression. *Adv Sci (Weinh).* 2022 Sep;9(27):e2200546.
577. Wang X, Wu F, Wang H, Duan X, Huang R, Tuersuntuoheti A, et al. PDCD6 cooperates with C-Raf to facilitate colorectal cancer progression via Raf/MEK/ERK activation. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020 Aug 3;39(1):147.
578. Wang X, Zhao S, Guo Y, Wang C, Han S, Wang X. CST2 promotes cell proliferation and regulates cell cycle by activating Wnt- $\beta$ -catenin signalling pathway in serous ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol.* 2024 Dec;44(1):2363515.
579. Wang Y, Zhao J, Wang Y, Gao J, Yang H, Li H. MiR-17-5p Targets and Downregulates CADM2, Activating the Malignant Phenotypes of Colon Cancer Cells. *Mol Biotechnol.* 2022 Dec;64(12):1388-1400.
580. Wang YH, Liu CL, Chiu WC, Twu YC, Liao YJ. HMGCS2 Mediates Ketone Production and Regulates the Proliferation and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2019 Nov 26;11(12):1876.
581. Wang Z, Chen J, Sun J, Cui Z, Wu H. RNA interference-mediated silencing of eukaryotic translation initiation factor 3, subunit B (EIF3B) gene expression inhibits proliferation of colon cancer cells. *World J Surg Oncol.* 2012 Jun 26;10:119.
582. Wanis KN, Ott M, Van Koughnett JAM, Colquhoun P, Brackstone M. Long-term oncological outcomes following emergency resection of colon cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Nov;33(11):1525-32.
583. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Fitzgibbons PL, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med.* 2009 Oct;133(10):1539-51.
584. Watanabe J, Muro K, Shitara K, Yamazaki K, Shiozawa M, Ohori H, et al. Panitumumab vs Bevacizumab Added to Standard First-line Chemotherapy and

- Overall Survival Among Patients With RAS Wild-type, Left-Sided Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023 Apr 18;329(15):1271-82.
585. Wells KO, Hawkins AT, Krishnamurthy DM, Dharmarajan S, Glasgow SC, Hunt SR, et al. Omission of Adjuvant Chemotherapy Is Associated With Increased Mortality in Patients With T3N0 Colon Cancer With Inadequate Lymph Node Harvest. *Dis Colon Rectum*. 2017 Jan;60(1):15-21.
586. Weren RD, Ligtenberg MJ, Geurts van Kessel A, De Voer RM, Hoogerbrugge N, Kuiper RP. NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? *J Pathol*. 2018 Feb;244(2):135-42.
587. 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 Jun;47(6):668-71.
588. West NP, Hohenberger W, Weber K, Perrakis A, Finan PJ, Quirke P. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon. *J Clin Oncol*. 2010 Jan 10;28(2):272-8.
589. Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, Ou K, Golaz O, Sanchez JC, et al. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology (N Y)*. 1996 Jan;14(1):61-5.
590. Winn B, Tavares R, Fanion J, Noble L, Gao J, Sabo E, Resnick MB. Differentiating the undifferentiated: immunohistochemical profile of medullary carcinoma of the colon with an emphasis on intestinal differentiation. *Hum Pathol*. 2009 Mar;40(3):398-404.
591. Witzel-Schlömp K, Hobart MJ, Fernie BA, Orren A, Würzner R, Rittner C, et al. Heterogeneity in the genetic basis of human complement C9 deficiency. *Immunogenetics*. 1998 Jul;48(2):144-7.
592. Wolfe AL, Zhou Q, Toska E, Galeas J, Ku AA, Koche RP, et al. UDP-glucose pyrophosphorylase 2, a regulator of glycogen synthesis and glycosylation, is critical for pancreatic cancer growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Aug 3;118(31):e2103592118.
593. Wu X, Qian S, Zhang J, Feng J, Luo K, Sun L, et al. Lipopolysaccharide promotes metastasis via acceleration of glycolysis by the nuclear factor- $\kappa$ B/snail/hexokinase3 signaling axis in colorectal cancer. *Cancer Metab*. 2021 May 12;9(1):23.
594. Wu Y, Wei X, Feng H, Hu B, Liu B, Luan Y, et al. Transcriptome Analyses Identify an RNA Binding Protein Related Prognostic Model for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Front Genet*. 2021 Jan 7;11:617872.

595. Wu Z, Zhou S, Liang D, Mu L. GPX2 acts as an oncogene and cudraflavone C has an anti-tumor effect by suppressing GPX2-dependent Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in colorectal cancer cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2024 Feb;397(2):1115-25.
596. Xie C, Zhou M, Lin J, Wu Z, Ding S, Luo J, et al. EEF1D Promotes Glioma Proliferation, Migration, and Invasion through EMT and PI3K/Akt Pathway. *Biomed Res Int*. 2020 Sep 24;2020:7804706.
597. Xie CM, Liu XY, Sham KW, Lai JM, Cheng CH. Silencing of EEF2K (eukaryotic elongation factor-2 kinase) reveals AMPK-ULK1-dependent autophagy in colon cancer cells. *Autophagy*. 2014 Sep;10(9):1495-508.
598. Xie J, Zhang W, Liang X, Shuai C, Zhou Y, Pan H, et al. RPL32 Promotes Lung Cancer Progression by Facilitating p53 Degradation. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2020 Sep 4;21:75-85.
599. Xie JP, Zhu XS, Dai YC, Yu C, Xie T, Chen ZX. Expression of enoyl coenzyme A hydratase, short chain, 1, in colorectal cancer and its association with clinicopathological characteristics. *Mol Clin Oncol*. 2014 Nov;2(6):1081-1084.
600. Xie Q, Liu L, Chen X, Cheng Y, Li J, Zhang X, et al. Identification of Cysteine Protease Inhibitor CST2 as a Potential Biomarker for Colorectal Cancer. *J Cancer*. 2021 Jun 22;12(17):5144-52.
601. Xu D, Wu J, Dong L, Luo W, Li L, Tang D, et al. Serpincl Acts as a Tumor Suppressor in Hepatocellular Carcinoma Through Inducing Apoptosis and Blocking Macrophage Polarization in an Ubiquitin-Proteasome Manner. *Front Oncol*. 2021 Nov 22;11:738607.
602. Xu F, Xu J, Lou Z, Di M, Wang F, Hu H, Lai M. Micropapillary component in colorectal carcinoma is associated with lymph node metastasis in T1 and T2 Stages and decreased survival time in TNM stages I and II. *Am J Surg Pathol*. 2009 Sep;33(9):1287-92.
603. Xu F, Zhang S, Liu Z, Gu J, Li Y, Wang L, et al. TEX9 and eIF3b functionally synergize to promote the progression of esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*. 2019 Sep 3;19(1):875.
604. Xu G, Zhang W, Ma MK, McLeod HL. Human carboxylesterase 2 is commonly expressed in tumor tissue and is correlated with activation of irinotecan. *Clin Cancer Res*. 2002 Aug;8(8):2605-11.
605. Xu J, Fang J, Cheng Z, Fan L, Hu W, Zhou F, Shen H. Overexpression of the Kininogen-1 inhibits proliferation and induces apoptosis of glioma cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018 Aug 2;37(1):180.

606. Xu J, Qian J, Zhang W, Chen E, Zhang G, Cao G, et al. [Corrigendum] LYPD8 regulates the proliferation and migration of colorectal cancer cells through inhibiting the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ . *Oncol Rep.* 2021 May;45(5):53.
607. Xu J, Ying Y, Xiong G, Lai L, Wang Q, Yang Y. Knockdown of serpin peptidase inhibitor clade C member 1 inhibits the growth of nasopharyngeal carcinoma cells. *Mol Med Rep.* 2019 May;19(5):3658-66.
608. Xu X, Gong C, Wang Y, Yin Z, Wang X, Hu Y, et al. Bioinformatics analysis and experimental validation identified HMGA2/microRNA-200c-3p/LSAMP/Wnt axis as an immunological factor of patients with colorectal cancer. *Am J Cancer Res.* 2023 Sep 15;13(9):3898-920.
609. Xu Z, Becerra AZ, Aquina CT, Hensley BJ, Justiniano CF, Boodry C, et al. Emergent Colectomy Is Independently Associated with Decreased Long-Term Overall Survival in Colon Cancer Patients. *J Gastrointest Surg.* 2017 Mar;21(3):543-53.
610. Yamada K, Aiba K, Kitaura Y, Kondo Y, Nomura N, Nakamura Y, et al. Clinical, biochemical and metabolic characterisation of a mild form of human short-chain enoyl-CoA hydratase deficiency: significance of increased N-acetyl-S-(2-carboxypropyl)cysteine excretion. *J Med Genet.* 2015 Oct;52(10):691-8.
611. Yamamoto T, Kudo M, Peng WX, Takata H, Takakura H, Teduka K, et al. Identification of aldolase A as a potential diagnostic biomarker for colorectal cancer based on proteomic analysis using formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Tumour Biol.* 2016 Oct;37(10):13595-606.
612. Yamamoto YH, Kimura T, Momohara S, Takeuchi M, Tani T, Kimata Y, et al. A novel ER J-protein DNAJB12 accelerates ER-associated degradation of membrane proteins including CFTR. *Cell Struct Funct.* 2010;35(2):107-16.
613. Yamanaka T, Oki E, Yamazaki K, Yamaguchi K, Muro K, Uetake H, et al. 12-Gene Recurrence Score Assay Stratifies the Recurrence Risk in Stage II/III Colon Cancer With Surgery Alone: The SUNRISE Study. *J Clin Oncol.* 2016 Aug 20;34(24):2906-13.
614. Yang C, Shao Y, Wang X, Wang J, Wang P, Huang C, et al. The Effect of the Histone Chaperones HSPA8 and DEK on Tumor Immunity in Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 31;24(3):2653.
615. Yang H, Zhou Y, Zhou Z, Liu J, Yuan X, Matsuo K, et al. A novel polymorphism rs1329149 of CYP2E1 and a known polymorphism rs671 of ALDH2 of alcohol metabolizing enzymes are associated with colorectal cancer in a southwestern Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Sep;18(9):2522-7.
616. Yang J, Fan J, Li Y, Li F, Chen P, Fan Y, Xia X, Wong ST. Genome-wide RNAi screening identifies genes inhibiting the migration of glioblastoma cells. *PLoS One.* 2013 Apr 12;8(4):e61915.

617. Yang J, Roe SM, Cliff MJ, Williams MA, Ladbury JE, Cohen PT, et al. Molecular basis for TPR domain-mediated regulation of protein phosphatase 5. *EMBO J.* 2005 Jan 12;24(1):1-10.
618. Yang KM, Jeong MJ, Yoon KH, Jung YT, Kwak JY. Oncologic outcome of colon cancer with perforation and obstruction. *BMC Gastroenterol.* 2022 May 15;22(1):247.
619. Yang Y, Li J, Jin L, Wang D, Zhang J, Wang J, et al. Independent Correlation Between Ki67 Index and Circulating Tumor Cells in the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Anticancer Res.* 2017 Aug;37(8):4693-700.
620. Ye J, Yang P, Yang Y, Xia S. Complement C1s as a diagnostic marker and therapeutic target: Progress and prospective. *Front Immunol.* 2022 Oct 6;13:1015128.
621. Yew PR. Ubiquitin-mediated proteolysis of vertebrate G1- and S-phase regulators. *J Cell Physiol.* 2001 Apr;187(1):1-10.
622. Yin Y, Long J, Sun Y, Li H, Jiang E, Zeng C, Zhu W. The function and clinical significance of eIF3 in cancer. *Gene.* 2018 Oct 5;673:130-3.
623. Ying B, Xu W, Nie Y, Li Y. HSPA8 Is a New Biomarker of Triple Negative Breast Cancer Related to Prognosis and Immune Infiltration. *Dis Markers.* 2022 Nov 21;2022:8446857.
624. Yoneda K, Iida H, Endo H, Hosono K, Akiyama T, Takahashi H, et al. Identification of Cystatin SN as a novel tumor marker for colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2009 Jul;35(1):33-40.
625. Young JP, Win AK, Rosty C, Flight I, Roder D, Young GP, et al. Rising incidence of early-onset colorectal cancer in Australia over two decades: report and review. *J Gastroenterol Hepatol.* 2015 Jan;30(1):6-13.
626. Yu C, Guo Y, Bian Z, Yang L, Millwood IY, Walters RG, et al. Association of low-activity ALDH2 and alcohol consumption with risk of esophageal cancer in Chinese adults: A population-based cohort study. *Int J Cancer.* 2018 Oct 1;143(7):1652-61.
627. Yu C, Hong H, Zhang S, Zong Y, Ma J, Lu A, et al. Identification of key genes and pathways involved in microsatellite instability in colorectal cancer. *Mol Med Rep.* 2019 Mar;19(3):2065-76.
628. Yu J, Liu D, Sun X, Yang K, Yao J, Cheng C, Wang C, Zheng J. CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling via transactivation of GSK-3 $\beta$  and Axin2 expression. *Cell Death Dis.* 2019 Jan 10;10(1):26.
629. Yu Z, Jiang X, Qin L, Deng H, Wang J, Ren W, et al. A novel UBE2T inhibitor suppresses Wnt/ $\beta$ -catenin signaling hyperactivation and gastric cancer progression by blocking RACK1 ubiquitination. *Oncogene.* 2021 Feb;40(5):1027-42.

630. Yuan Y, Liu Z, Li B, Gong Z, Piao C, Liu Z, et al. FBXO30 functions as a tumor suppressor and an E3 ubiquitin ligase for hZIP1-mediated HIF-1 $\alpha$  degradation in renal cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2023 Mar;62(3):40.
631. Yuan Y, Sun X, Liu M, Li S, Dong Y, Hu K, Zhang J, et al. Negative correlation between acetyl-CoA acyltransferase 2 and cetuximab resistance in colorectal cancer. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2023 Jun 13;55(9):1467-78.
632. Yun M, Choi AJ, Woo SR, Noh JK, Sung JY, Lee JW, et al. Inhibition of Carbonyl Reductase 1 Enhances Metastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma through  $\beta$ -catenin-Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition. *J Cancer*. 2020 Jan 1;11(3):533-41.
633. 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 Apr 1;35(10):1086-95.
634. Zarak A, Castillo A, Kichler K, de la Cruz L, Tamariz L, Kaza S. Robotic versus laparoscopic surgery for colonic disease: a meta-analysis of postoperative variables. *Surg Endosc*. 2015 Jun;29(6):1341-7.
635. Zeng ML, Zhu XJ, Liu J, Shi PC, Kang YL, Lin Z, et al. An Integrated Bioinformatic Analysis of the S100 Gene Family for the Prognosis of Colorectal Cancer. *Biomed Res Int*. 2020 Nov 26;2020:4746929.
636. Zeng N, Okumura T, Alauddin M, Khozooei S, Rajaxavier J, Zhang S, et al. LEFTY2/endometrial bleeding-associated factor up-regulates Na<sup>+</sup> Coupled Glucose Transporter SGLT1 expression and Glycogen Accumulation in Endometrial Cancer Cells. *PLoS One*. 2020 Apr 1;15(4):e0230044.
637. Zeng Q, Lei F, Chang Y, Gao Z, Wang Y, Gao Q, et al. An oncogenic gene, SNRPA1, regulates PIK3R1, VEGFC, MKI67, CDK1 and other genes in colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019 Sep;117:109076.
638. Zhai H, Shi Y, Chen X, Wang J, Lu Y, Zhang F, et al. CacyBP/SIP promotes the proliferation of colon cancer cells. *PLoS One*. 2017 Feb 14;12(2):e0169959.
639. Zhan F, Deng Q, Chen Z, Xie C, Xiang S, Qiu S, et al. SAR1A regulates the RhoA/YAP and autophagy signaling pathways to influence osteosarcoma invasion and metastasis. *Cancer Sci*. 2022 Dec;113(12):4104-19.
640. Zhang C, Hu C, Su K, Wang K, Du X, Xing B, et al. The Integrative Analysis of Thrombospondin Family Genes in Pan-Cancer Reveals that THBS2 Facilitates Gastrointestinal Cancer Metastasis. *J Oncol*. 2021 Nov 10;2021:4405491.
641. Zhang CH, Li YY, Zhang QW, Biondi A, Fico V, Persiani R, et al. The Prognostic Impact of the Metastatic Lymph Nodes Ratio in Colorectal Cancer. *Front Oncol*. 2018 Dec 18;8:628.

642. Zhang H, Fu L. The role of ALDH2 in tumorigenesis and tumor progression: Targeting ALDH2 as a potential cancer treatment. *Acta Pharm Sin B*. 2021 Jun;11(6):1400-11.
643. Zhang L, Yang Y, Lin W, Shao F, Gao Y, He J. Complement-related molecular classification and a gene signature for lung adenocarcinoma. *Exp Hematol Oncol*. 2023 Feb 21;12(1):22.
644. Zhang LL, Chang W, He SB, Zhang B, Ma G, Shang PF, et al. High expression of eIF4A1 predicts unfavorable prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Mol Cell Probes*. 2022 Oct;65:101845.
645. Zhang S, Grosse F. Domain structure of human nuclear DNA helicase II (RNA helicase A). *J Biol Chem*. 1997 Apr 25;272(17):11487-94.
646. Zhang T, Ma Y, Fang J, Liu C, Chen L. A Deregulated PI3K-AKT Signaling Pathway in Patients with Colorectal Cancer. *J Gastrointest Cancer*. 2019 Mar;50(1):35-41.
647. Zhang Y, Chen J, Tian J, Zhou Y, Liu Y. Role and function of plakophilin 3 in cancer progression and skin disease. *Cancer Sci*. 2024 Jan;115(1):17-23.
648. Zhang Y, Sun L, Sun Y, Chen Y, Wang X, Xu M, et al. Overexpressed CES2 has prognostic value in CRC and knockdown CES2 reverses L-OHP-resistance in CRC cells by inhibition of the PI3K signaling pathway. *Exp Cell Res*. 2020 Apr 1;389(1):111856.
649. Zhang Y, Wang H. Integrin signalling and function in immune cells. *Immunology*. 2012 Apr;135(4):268-75.
650. Zhang Y, Zhang C, Li J, Jiang M, Guo S, Yang G, et al. Inhibition of AKT induces p53/SIRT6/PARP1-dependent parthanatos to suppress tumor growth. *Cell Commun Signal*. 2022 Jun 17;20(1):93.
651. Zhao M, Chen J, Chen H, Zhang J, Li D. Aldo-keto reductases 7A subfamily: A mini review. *Chem Biol Interact*. 2024 Mar 1;391:110896.
652. Zhao M, Li M, Zheng Y, Hu Z, Liang J, Bi G, et al. Identification and analysis of a prognostic ferroptosis and iron-metabolism signature for esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer*. 2022 Mar 6;13(5):1611-22.
653. Zhao QM, Kuang F, Wu H, Zhang YH. Attenuation of enoyl coenzyme A hydratase 1 expression in colorectal cancer cells using small interfering RNA inhibits cell proliferation and migration. *Mol Med Rep*. 2015 Jul;12(1):470-4.
654. Zhao X, Zhao Z, Xu W, Liu H, Chang J, Xu W, et al. Circ-SAR1A Promotes Renal Cell Carcinoma Progression Through miR-382/YBX1 Axis. *Cancer Manag Res*. 2020 Aug 18;12:7353-61.

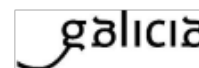
655. Zheng HC, Sugawara A, Okamoto H, Takasawa S, Takahashi H, Masuda S, et al. Expression profile of the REG gene family in colorectal carcinoma. *J Histochem Cytochem.* 2011 Jan;59(1):106-15.
656. Zheng X, Xu K, Zhou B, Chen T, Huang Y, Li Q, Wen F, et al. A circulating extracellular vesicles-based novel screening tool for colorectal cancer revealed by shotgun and data-independent acquisition mass spectrometry. *J Extracell Vesicles.* 2020 Apr 14;9(1):1750202.
657. Zhou DM, Liu J, Liu F, Luo GW, Li HT, Zhang R, Chen BL, Hua W. A novel FoxM1-PSMB4 axis contributes to proliferation and progression of cervical cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jan 15;521(3):746-52.
658. Zhou M, Sandercock AM, Fraser CS, Ridlova G, Stephens E, Schenauer MR, et al. Mass spectrometry reveals modularity and a complete subunit interaction map of the eukaryotic translation factor eIF3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Nov 25;105(47):18139-44.
659. Zhou Q, Li X, Zhou H, Zhao J, Zhao H, Li L, et al. Mitochondrial respiratory chain component NDUFA4: a promising therapeutic target for gastrointestinal cancer. *Cancer Cell Int.* 2024 Mar 5;24(1):97.
660. Zhou Z, Zhang R, Zhou A, Lv J, Chen S, Zou H, et al. Proteomics appending a complementary dimension to precision oncotherapy. *Comput Struct Biotechnol J.* 2024 Apr 20;23:1725-39.
661. Zhu Q, Gu X, Wei W, Wu Z, Gong F, Dong X. BRD9 is an essential regulator of glycolysis that creates an epigenetic vulnerability in colon adenocarcinoma. *Cancer Med.* 2023 Jan;12(2):1572-87.
662. Zhu S, Zu L, Xu S. [The Expression of RTN1 in Lung Adenocarcinoma and <sup>[P]</sup><sub>SEP</sub>Its Effect on Immune Microenvironment]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2022 Jun 20;25(6):385-95.
663. Zlobec I, Bihl MP, Schwarb H, Terracciano L, Lugli A. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J Cancer.* 2010 Jul 15;127(2):367-80.

# Anexos

---



## 1. DOCUMENTO DE EVALUACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE GALICIA DE PONTEVEDRA-VIGO-OURENSE



### DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE PONTEVEDRA-VIGO-OURENSE

María Asunción Verdejo González, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense

#### **CERTIFICA:**

Que este Comité evaluó en su reunión del día 18/02/2021 el estudio:

**Título:** Uso de proteómica para determinación de biomarcadores en cáncer de colon localizado y localmente avanzado

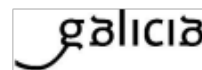
**Versión:**

**Promotor:** Soledad Cameselle García

**Investigadora:** Soledad Cameselle García

**Código de Registro:** 2020/565

Y que este Comité, tomando en consideración la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible, los requisitos éticos, metodológicos y legales exigibles a los estudios de investigación con seres humanos, sus muestras o registro y los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité, emite un dictamen **FAVORABLE** para la realización del citado estudio.



**Y HACE CONSTAR QUE:**

1. El Comité Territorial de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense cumple tanto en su composición, como en sus procedimientos normalizados de trabajo, los requisitos legales vigentes.
2. La composición actual del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Pontevedra - Vigo - Ourense es:
  - D. Alfonso Casas Losada (Presidente). Médico especialista en Psiquiatría.
  - D<sup>a</sup>. María de las Mercedes Guerra García (Vicepresidenta). Farmacéutica de Atención Primaria.
  - D<sup>a</sup>. Asunción Verdejo González (Secretaria). Médica Especialista en Farmacología Clínica.
  - D. Víctor del Campo Pérez (Secretario Suplente). Médico Especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública.
  - D<sup>a</sup>. Marisol Alra Quintela. Médica Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.
  - D<sup>a</sup>. Iria Aparicio Rodríguez. Médica especialista en Obstetricia y Ginecología.
  - D. Jorge Luis Arias Otero. Licenciado en Físicas. Centro Tecnológico AIMEN.
  - D. Paulo Bueno Capedins. Licenciado en Matemáticas. Experto en Protección de Datos.
  - D<sup>a</sup> Manuela Fernández Barreira. Licenciada en Derecho.
  - D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Elena Gallardo Martín. Médica Especialista en Oncología Médica.
  - D. Adolfo Paradelo Carreiro. Farmacéutico de Atención Especializada.
  - D. Eloy Sánchez Hernández. Médico Especialista en Aparato Digestivo.
  - D<sup>a</sup>. Cristina Torreira Banzas. Médica Especialista en Análisis Clínicos.
  - D<sup>a</sup>. Miriana Vázquez Campo. Diplomada Universitaria de Enfermería.

Para que conste donde proceda y a petición de quien proceda.

En Vigo, la Secretaria del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Pontevedra - Vigo - Ourense



## 2. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE ADULTO/A

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Uso de proteómica para la determinación de biomarcadores en cáncer de colon localizado y localmente avanzado.

**INVESTIGADOR:** Soledad Cameselle García

**CENTRO:** Complejo Hospitalario Universitario de Ourense

Este documento tiene como objetivo ofrecerle información sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. Este estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Galicia.

Si decide participar en él, puede recibir información personalizada del investigador, leer antes este documento y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevarse el documento, consultarlo con otras personas y tomarse tiempo para decidir si participa.

La participación en este estudio es completamente voluntaria y usted puede decidir no participar, o si acepta hacerlo, cambiar de parecer retirando su consentimiento en cualquier momento sin obligación de dar explicaciones. Le aseguramos que esta decisión no afectará a la relación con los profesionales sanitarios que le atienden ni a la asistencia sanitaria a la que usted tiene derecho.

#### ¿Cuál es la finalidad del estudio?

El objetivo de este estudio es la búsqueda de un biomarcador, esto es, un indicador que nos permita saber qué pacientes intervenidos de un cáncer de colon podrían tener más riesgo de recaída de la enfermedad durante los primeros 5 años después de la cirugía. Para eso, se van a analizar las características de las proteínas de su tumor mediante una serie de técnicas que se conocen con el nombre de proteómica.

Se trata de un estudio retrospectivo y experimental y no implica modificaciones en el manejo de su enfermedad ni pruebas, ni visitas adicionales a las ya realizadas. Este tipo de estudio es importante para identificar pacientes con cáncer de colon que se pudiesen beneficiar de un tratamiento complementario más intensivo tras la cirugía.

#### ¿Por qué me ofrecen participar a mí?

Usted ha sido invitado a participar debido ha sido diagnosticado de un cáncer colorrectal intervenido y por tanto se incluye en la población objeto de este estudio.

#### ¿En qué consiste mi participación?

Su participación consiste en permitirnos consultar y recoger los datos de su historia clínica. Se recogerán datos como mes y año de nacimiento, sexo, fecha del diagnóstico del cáncer de colon, fecha de recaída o última visita, fecha de la cirugía y tipo de intervención, así como las características de la enfermedad y el tratamiento recibido. Se hará un seguimiento de su evolución durante un periodo de 5 años tras la cirugía.

Debe saber que su participación no implica cambios en su tratamiento, ni mayor duración de su consulta habitual.

Además, una muestra de su tumor será enviado desde el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense al Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Allí, en la Unidad de Proteómica del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago, bajo la responsabilidad de Susana Bravo Ruiz se analizará la muestra.

Se analizará como se expresan las proteínas en el tumor. Después se compararán los datos de los pacientes que participen en el estudio para identificar un posible biomarcador de agresividad.

Su participación tendrá una duración total estimada de 10 minutos.

**¿Qué molestias o inconvenientes tiene?**

Su participación no implica molestias adicionales a las de la práctica clínica.

**¿Obtendré algún beneficio por participar?**

No se espera que usted obtenga un beneficio directo por participar en el estudio. La investigación tiene como objetivo descubrir aspectos desconocidos o poco claros sobre el cáncer de colon localizado. Esta información puede ser útil en el futuro para otras personas.

**¿Recibiré la información que se obtenga del estudio?**

Si Vd. lo desea, se le proporcionará un resumen de los resultados del estudio.

**¿ Se publicarán los resultados de este estudio?**

Los resultados de este estudio serán enviados a revistas científicas para su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que pueda llevar a la identificación de los participantes.

**Información referente a sus datos/muestras:**

La obtención, tratamiento, conservación, comunicación y cesión de sus datos/muestras se hará conforme a lo dispuesto en el Reglamento General de Protección de Datos (Reglamento UE 2016-679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016), la normativa española sobre protección de datos de carácter personal vigente, la Ley 14/2007 de investigación biomédica y el RD 1716/2011.

La institución en la que se desarrolla esta investigación es la responsable del tratamiento de sus datos, pudiendo contactar con el Delegado/a de Protección de datos a través dos siguientes medios: **endereço electrónico:** ...../ **Tfno.:**.....

Los datos/muestras necesarias para realizar este estudio serán recogidos y conservados de modo

- **Pseudonimizados (Codificados)**, la pseudonimización es el tratamiento de datos personales de manera tal que no pueden atribuirse a un/a interesado/a sin que se emplee información adicional. En este estudio solo el equipo investigador conocerá el código que permitirá saber a su identidad.

La normativa que rige el tratamiento de datos de personas, le otorga el derecho a acceder a sus datos, oponerse, corregirlos, cancelarlos, limitar su tratamiento, restringir o solicitar la supresión de sus datos. También puede solicitar una copia de los mismos o que esta sea remitida a un tercero (derecho de portabilidad).

Para ejercer estos derechos puede usted dirigirse al Delegado/a de Protección de Datos del centro a través de los medios de contacto antes indicados o al investigador/a principal de este estudio en la dirección electrónica: [soledad.cameselle.garcia@sergas.es](mailto:soledad.cameselle.garcia@sergas.es) y/o tfno.: 605534509

Así mismo, usted tiene derecho a interponer una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos, cuando considere que alguno de sus derechos no fue respetado.

El equipo investigador y las autoridades sanitarias que tienen deber de guardar a la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos en el estudio. Se podrá transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. En el caso de que alguna información, sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de los datos equivalente, como mínimo, al exigido por la normativa española y europea.

Al acabar el estudio y conforme a la normativa, sus muestras biológicas y sus datos serán **Anonimizados**, es decir, que se rompe todo vínculo que pueda identificar a la persona donante de la muestra/datos, no pudiendo ser identificado ni siquiera por el equipo investigador. El remanente de las muestras será devuelto al archivo de muestras del Servicio de Anatomía Patológica de origen (Complejo Hospitalario Universitario de Ourense).

Vd. podrá solicitar la destrucción o anonimización de su muestra en cualquier momento, dirigiéndose al investigador principal. Tiene que saber que esto no será de aplicación a los datos resultantes de los análisis que ya fueran hechos.

**¿Existen intereses económicos en este estudio?**

Esta investigación está promovida por Ihab Abdulkader Nallib con fondos aportados por el Grupo de Investigación de Patología del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS).

El investigador no recibirá retribución específica por la dedicación al estudio.

Vd. no será retribuido por participar. Es posible que de los resultados del estudio se deriven productos comerciales o patentes; en este caso, Vd. no participará de los beneficios económicos originados.

**Como contactar con el equipo investigador de este estudio?**

Vd. puede contactar con Soledad Cameselle García en el teléfono 605534509 y/o a través del correo electrónico: [soledad.cameselle.garcia@sergas.es](mailto:soledad.cameselle.garcia@sergas.es)

**Muchas gracias por su colaboración.**

**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDO DE INVESTIGACIÓN**

TÍTULO: \_\_\_\_\_

Yo, \_\_\_\_\_

- He leído la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entrego, pude conversar con \_\_\_\_\_ y hacer todas las preguntas sobre el estudio necesarias.
- Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que eso repercuta en mis cuidados médicos.
- Accedo a que se utilicen mis datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presto libremente a mi conformidad para participar en este estudio.

**Al acabar el estudio, los DATOS/MUESTRAS, acepto que sean:**

- Anonimizados para usos futuros noutras investigações.

RESTRICCIONES DE USO: Non autorizo emplear mis muestras en investigações que

.....  
.....  
.....

Firmado.: El/la participante,

Firmado.:El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre e apellidos: \_\_\_\_\_

Nombre y apellidos: \_\_\_\_\_

Fecha:

Fecha:

**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO ANTE TESTIGOS PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN** (para los casos en los que el participante no puede leer/escribir)

El testigo imparcial tendrá que identificarse y ser una persona ajena al equipo investigador.

TÍTULO: \_\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_, como testigo imparcial, afirmo que en mi presencia:

- Se le ha leído a \_\_\_\_\_ la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se le entregó, y pudo hacer todas las preguntas sobre el estudio necesarias.
- Comprendo que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que eso repercuta en sus cuidados médicos.
- Accedo a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presta libremente a su conformidad para participar en este estudio.

**Al acabar el estudio, los DATOS/MUESTRAS, acepto que sean:**

- Anonimizados para usos futuros noutras investigaci3ns.

RESTRICCIONES DE USO: Non autorizo emplear mis muestras en investigaci3ns que  
.....  
.....  
.....

Firmado.: El/la testigo,

Firmado.:El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre e apellidos: \_\_\_\_\_

Nombre y apellidos: \_\_\_\_\_

Fecha:

Fecha:



**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA EL REPRESENTANTE LEGAL PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

TÍTULO: \_\_\_\_\_

Yo, \_\_\_\_\_ (nombre y apellidos), representante legal de -  
\_\_\_\_\_ (nombre y apellidos):

- He leído la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con \_\_\_\_\_ y hacer todas las preguntas sobre el estudio necesarias.
- Comprendo que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que eso repercuta en sus cuidados médicos.
- Accedo a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presto libremente su conformidad para participar en este estudio.

**Al acabar el estudio, los DATOS/MUESTRAS, acepto que sean:**

Anonimizados para usos futuros noutras investigações.

RESTRICCIONES DE USO: Non autorizo emplear mis muestras en investigações que  
.....  
.....  
.....

Firmado.: El/la representante legal,

Firmado.:El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre e apellidos: \_\_\_\_\_

Nombre y apellidos: \_\_\_\_\_

Fecha:

Fecha:



### 3. PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS

- Cameselle-García, S. et al. P-221 Prediction of colon cancer recurrence based on proteomic biomarkers. *Annals of Oncology*, Volume 34, S94.

*Annals of Oncology*

abstracts

**P-220** S-1 plus oxalipatin versus capecitabine plus oxalipatin chemotherapy in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis

J. Lalusis, J. Pandey

St. Luke's Medical Center - Quezon City, Quezon City, Philippines

**Background:** S-1, also known as TS-1, is an oral fluoropyrimidine formulation similar to capecitabine mainly developed in Japan. It consists of 3 components: tegafur, 5-chloro-2,4-dihydropyridine (gimeracil or CDHP), and oteracil potassium. S-1 has comparable efficacy and lower risk of hand-foot syndrome compared to capecitabine. Several trials have shown the feasibility and efficacy of S-1 plus oxalipatin (SOX) as an upfront chemotherapy for metastatic colorectal cancer. There have also been several studies comparing SOX with Capecitabine plus oxalipatin (CapeOx), a well-established first-line chemotherapy combination for metastatic colon cancer. Efficacy data from these studies have been conflicting with some suggesting non-inferiority of SOX with CapeOx and some proposing a preference of one over the other. This meta-analysis evaluated data from high-quality trials to provide evidence in forming recommendations on the use of S-1 plus oxalipatin in the treatment of metastatic colorectal cancer.

**Methods:** A systematic search of English-language articles on PubMed, Cochrane and Google scholar was utilized to identify randomized trials (RCTs) investigating S-1 plus Oxalipatin (SOX) versus Capecitabine plus Oxalipatin (CapeOx) in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer. Clinical trials published from 2008 to February 2023 were included in the search. Quality of the studies were assessed using the Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2). Inverse variance was the statistical method used with random effects as the analysis model in the production of production of the Forest plot and calculation of risk ratio (RR) at 95% confidence intervals (CI).

**Results:** Quality assessment of the four (4) RCTs included in the study (N = 796), all of which were conducted in Asia, showed a low risk of bias. Heterogeneity was absent with a computed I<sup>2</sup> of 0% (p = 0.87) indicating no significant difference between the groups. Pooled results of the 4 studies showed statistically significant increase in overall response rate of patients given SOX regimen compared to CapeOx (RR 1.41, 95% CI 1.19-1.66, p < 0.0001).

**Conclusions:** SOX therapy significantly improved overall response rate compared to CapeOx in the treatment. This suggests S-1 plus Oxalipatin as a possible first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer alternative to Capecitabine plus Oxalipatin.

**Legal entity responsible for the study:** The authors.

**Funding:** Has not received any funding.

**Disclosure:** All authors have declared no conflicts of interest.

<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.04.276>

**P-221** Prediction of colon cancer recurrence based on proteomic biomarkers

S. Cameselle-García<sup>1</sup>, M. Salgado Fernandez<sup>1</sup>, A. Fernández-Montes<sup>1</sup>, N. García Cid<sup>1</sup>, R. Alvarez Lloa<sup>2</sup>, M. Penin Corderi<sup>3</sup>, F. Gude-Sampedro<sup>3</sup>, J. García Gómez<sup>3</sup>, J. García Mata<sup>4</sup>, I. Abdulkader Nalib<sup>5</sup>, S. Bravo López<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Complejo Universitario Hospitalario de Ourense, Ourense, Spain; <sup>2</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain; <sup>3</sup>Pathology Department, University Clinical Hospital of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain; <sup>4</sup>University Clinical Hospital and Health Research Institute (IDIS); CIBERONC, Santiago de Compostela University School of Medicine, Santiago de Compostela, Spain

**Background:** Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer and the second leading cause of cancer-related death worldwide. The current standard care for nonmetastatic colon cancer (CC) is surgery followed by adjuvant treatment when a stage III or high-risk stage II CC is diagnosed. Although 80% of patients with stage II CC and 60% of patients with stage III CC are cured with surgery alone, some of them would benefit of adjuvant treatment. The detection of predictive biomarkers is important to select patients in high-risk of recurrence to guide the decision of treatment. The aim of this study is to find a useful biomarker to detect patients with stage I-III CC in high risk of recurrence by the use of differential proteomic.

**Methods:** A total of 73 tumor samples from patients with completely resected stage I-III CC were included in this study. Patients were stratified into two groups: Group A (disease free after 5 years follow-up) and Group B (patients who have relapsed). We perform a quantitative proteomic large-scale LC-MS/MS-based assay using label free techniques as SWATH-MS to obtain the quantitative proteomic profiling of tumor samples to identify effective protein networks and biomarkers to predict risk of recurrence in these patients. We select the most interesting proteins based on the p-value 1.5. We also analysed the main clinical and molecular characteristics.

**Results:** 25 patients were included in group A and 48 patients in group B. The median age was 68,12 (8,8; 44-85) in group A and 70,27 (8,5; 48-89) in group B. 52% of the patients in group A and 60,4% in group B were men. Group A included 48% of patients with stage III and 52% stage II CC, while group B included 51,7% of patients

with stage III CC and 41,7% with stage II at diagnostic. Only 2 patients with stage I CC were included both in group B. 87,5% of patients in group B had a clinical or histopathological negative prognostic factor vs 68% of patients in group A. NRAS gene was mutated in 6,3% of patients in group B, with no NRAS mutations in group A. Loss of CDX2 immunohistochemical expression was detected in 10,4 % of tumors of group B vs 4% in group A. The quantitative proteomic profiling showed that 4 proteins were significantly overexpressed in group B tumors: Integrin beta-1, fibrillin-1, cacyclin binding protein and prolargin.

**Conclusions:** The overexpression of Integrin beta-1, fibrillin-1, cacyclin binding protein in the tumors of the group of patients with high risk of relapse and stage I-III CC suggests a possible role of these proteins as biomarkers. Prolargin was overexpressed showing very high levels in only 4 patients, 2 of them having autoimmune diseases that can justify these findings. More studies are needed to validate these proteins as predictive biomarkers.

**Legal entity responsible for the study:** The authors.

**Funding:** Has not received any funding.

**Disclosure:** All authors have declared no conflicts of interest.

<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.04.277>

**P-222** Prognostic value of skeletal muscle area at diagnosis in patients with metastatic colorectal cancer: A single institution experience

M. Ríos<sup>1</sup>, D. Viñal<sup>2</sup>, A. Rueda-Lara<sup>2</sup>, M. Alameda<sup>2</sup>, G. Martín-Montalvo<sup>2</sup>, N. Rodríguez-Salas<sup>2</sup>, J. Fellu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Autonomous University of Madrid, Madrid, Spain; <sup>2</sup>Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

**Background:** Sarcopenia is a poor prognostic feature of patients with cancer. Skeletal muscle area is a surrogate marker for sarcopenia. We aim to assess the prognostic value of the SMA at diagnosis in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC).

**Methods:** This is an observational retrospective study. We included all the patients with diagnosis of de novo mCRC from January 2017 to June 2018 at Hospital Universitario La Paz. We measured the skeletal muscle area at diagnosis using Image J software.

**Results:** A total of 81 patients were included. Seventy percent of the patients were men, and 87% had ECOG 0/1 at diagnosis. Primary tumors were located in right/left colon/rectum in 33, 36, and 31% of the patients, respectively. Median skeletal muscle area (SMA) at diagnosis was 117,7 cm<sup>2</sup> (range: 66 to 205 cm<sup>2</sup>). We selected 113,92 cm<sup>2</sup> as the cut-off value for SMA based upon the Youden Index of the area under the curve (AUC) for survival at 36 months (AUC: 0.71, p = 0.014). Forty-eight patients (59%) had a high SMA. High SMA was significantly associated with male sex (p < 0.001) and with receiving active treatment rather than best supportive care (p = 0.005). SMA was also directly correlated with albumin levels (r = 0.254; p = 0.02). After a median follow up of 41 months, 59 deaths were observed. Median overall survival was 10.8 months (95% confidence interval (CI): 0,0 to 22,1) in the low SMA group and 19,2 months (95%CI: 7,2 to 31,3) with a Hazard Ratio (HR) for death of 0.57 (95%CI: 0.34 to 0.95); p = 0.034. At 36 months, 34% and 14% of the patients remain alive in the high and low SMA cohorts, respectively.

**Conclusions:** In our study, SMA at diagnosis was an adverse prognostic factor for survival in patients with mCRC. Larger real-world data and interventional studies are needed to confirm this results and improve the outcomes these patients.

**Legal entity responsible for the study:** The authors.

**Funding:** Has not received any funding.

**Disclosure:** All authors have declared no conflicts of interest.

<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.04.278>

**P-223** Nutritional screening and assessment in patients followed for gastrointestinal cancers in west of Algeria

A. Djounidi, N. Merair

Oran Military Hospital, Oran, Algeria

**Background:** Malnutrition is very common among cancer patients, and is associated with an increase in morbidity and mortality. The highest prevalence of cancer patients with nutritional deficits is seen in those with tumors of the gastrointestinal tract (GI). However the prevalence and severity of malnutrition is not assessed systematically in Algerian GI cancer patients. This is why the implementation of strategies to detect early malnutrition at all stages of the disease is essential to take measures to avoid their fatal consequences and to improve the quality of life of patients. The aim of this work is to try to find out which nutritional test is to be used systematically to detect a risk of malnutrition in patients with GI cancer.

**Methods:** This is a prospective study carried out in the medical oncology department of the military hospital of Oran between September 1, 2022 and March 1, 2023. All



- Cameselle-García S, Fernández Montes A. Is the transverse colon the new right?-similarities in EGFR drug response and prognosis. *J Gastrointest Oncol*. 2024 Oct 31;15(5):2363-2366.

### Editorial Commentary

## Is the transverse colon the new right?—similarities in EGFR drug response and prognosis

Soledad Cameselle-García<sup>^</sup>, Ana Fernández Montes<sup>^</sup>

Gastrointestinal Cancer Unit, Medical Oncology Department, Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, Ourense, Spain

*Correspondence to:* Ana Fernández Montes, MD. Gastrointestinal Cancer Unit, Medical Oncology Department, Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, Ramón Puga S/N, 32005 Ourense, Spain. Email: afm1003@hotmail.com.

*Comment on:* Solar Vasconcelos JP, Chen N, Titmuss E, *et al*. Transverse Colon Primary Tumor Location as a Biomarker in Metastatic Colorectal Cancer: A Pooled Analysis of CCTG/AGITG CO.17 and CO.20 Randomized Clinical Trials. *Clin Cancer Res* 2024;30:1121-30.

**Keywords:** Colon; anti-epidermal growth factor receptor (anti-EGFR); laterality; transverse

Submitted Apr 16, 2024. Accepted for publication Aug 12, 2024. Published online Oct 10, 2024.

doi: 10.21037/jgo-24-272

View this article at: <https://dx.doi.org/10.21037/jgo-24-272>

There is currently no clear definition regarding the exact division point between right-sided and left-sided colon cancer. The most widely-accepted definition establishes the right colon as the region of the large intestine extending from the ileocecal valve to the proximal two-thirds of the transverse colon, while the left colon includes the distal third of the transverse colon, descending colon, and sigmoid colon (1). This differentiation is supported by the different embryonic origins of these regions. More recently, the colon was dichotomized, with the right colon including the ileocecal valve to the splenic flexure, and the left colon from the splenic flexure to the rectum (2). It is now known that these anatomical differences are complemented by clinical and molecular differences that confer unique characteristics to each location.

Right-sided colon carcinomas account for a third of all colorectal cancer (CRC). They are more common in women, often have a mucinous component, with a signet ring cell histology, and tend to be more undifferentiated tumors. Additionally, cancers on the right side tend to spread peritoneally, while those on the left side are more likely to metastasize to the lungs and liver (3,4). This different biological behavior reflects the existence of distinct carcinogenesis pathways on each side, which has served as a rational basis to explain the differences in response to anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) treatments, as

proposed in the recent article by Solar Vasconcelos *et al*. (4).

Tumors on the right side are characterized by being associated with mutations in the *BRAF* and *RAS* genes, as well as microsatellite instability and an increased hypermethylation of cytosine-phosphate-guanine (CpG) islands (5). Forty percent of CRC harbor *KRAS* missense mutations in codons 12, 13, or 61 which confer a lack of response to anti-EGFR therapies (6). *KRASG12C* is detected in 2–4% of metastatic CRC (mCRC) and depicts an aggressive disease with a disappointing response to standard treatments (7). Recent studies however, have evaluated the combination of small oral inhibitory molecules, as sotorasib or adagrasib, with anti-EGFR therapies achieving promising results (8,9).

Tumors on the left side are typically associated with chromosomal instability (CIN), high DNA copy number variation (CNV), and high dependence on the *WNT* and *MYC* pathways. Left-sided tumors also present more mutations in *RAS*, *APC* and *p53*, *HER1* and *HER2* amplifications, as well as gene expression profiles that confer greater sensitivity to EGFR-targeted therapies (10,11).

Retrospective analyses of randomized studies have evaluated the efficacy of anti-EGFR therapies in patients with *RAS* wild-type CRC based on laterality. One such study addressed the prognostic and predictive value of tumor laterality and *RAS* wild-type status in patients

<sup>^</sup> ORCID: Soledad Cameselle-García, 0000-0002-2678-7230; Ana Fernández Montes, 0000-0003-4630-5830.

treated with chemotherapy and anti-EGFR therapy across six phase III studies, CALGB 80405, CRYSTAL, PRIME, PEAK, FIRE 3, and 200501819 (12). This retrospective analysis showed that left-sided tumors had greater benefit in overall survival (OS), objective response rate (ORR), and progression-free survival (PFS) with the addition of an anti-EGFR drug to chemotherapy compared to chemotherapy alone or chemotherapy plus bevacizumab in first-line treatment of mCRC. However, the benefit is not as clear in tumors located on the right side. These results are consistent with data from the PARADIGM10 study (13). In the phase III PARADIGM study, 823 patients with *RAS* wild-type mCRC were randomized to receive panitumumab or bevacizumab in combination with standard first-line chemotherapy. This study showed greater benefit in OS in patients treated with the anti-EGFR combination and with tumors located on the left side, as well as in the overall population. On the other hand, this benefit was not achieved in patients with right-sided tumors. In this context, the value of associating an anti-EGFR in patients with left-sided *RAS* wild-type CRC is clearly established, while its use in right-sided colon cancer remains controversial.

A recent meta-analysis analyzing the PEAK, CALGB/SWOG 80405, FIRE-3, PARADIGM, and CAIRO5 studies showed a benefit in PFS when associating an anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) versus an anti-EGFR in *RAS* wild-type mCRC patients with right-sided tumors (14). Given the results of previous studies and the limited efficacy of anti-EGFR agents in this patient subgroup, National Comprehensive Cancer Network (NCCN) and European Society for Medical Oncology (ESMO) guidelines now recommend in first-line treatment of advanced or mCRC, combining an anti-VEGF agent with chemotherapy for tumor harboring proficient mismatch repair/microsatellite stable (pMMR/MSS) and wild-type *RAS* and *RAF*; combining an anti-EGFR agent with chemotherapy for left-sided tumor harboring pMMR/MSS and wild-type *RAS* and *RAF* (15,16).

Further questions are raised in the case of patients diagnosed with *RAS* wild-type colon cancer located in the transverse colon. Patients with a tumor located in the transverse colon are not well represented in clinical studies due to their low frequency and lack of previous consensus in terms of a definition. Indeed, the CALGB 8040513 study excluded these patients (17), while other studies [CRYSTAL (18), PRIME (19), PEAK (20), FIRE-3 (21), and 20050181 (22)] included this population with those patients having disease in the right colon. Thus, the fact that characteristics

associated with the most distal third of the colon may more closely reflect characteristics of left-sided tumors based on embryonic origin was not taken into account.

Both the prognostic and predictive value of response to anti-EGFR drugs diminish with more advanced treatment lines, and location may not be relevant in the advanced setting due to the acquisition of new resistance mutations. Many trials, such as CORRECT or SUNLIGHT have reported significantly improved outcomes beyond second line in unselected patients. The use of multikinase inhibitors as regorafenib has been useful in this setting despite its limited clinical benefit (8). Improvements in the understanding of underlying mechanisms of resistance, as *ERBB2* amplification or *PIK3CA* (23), will change this approach in the future.

In this context, the study by Solar Vasconcelos *et al.* shows interesting results regarding the predictive value of response to anti-EGFR drugs and prognosis of tumors located in the transverse colon, aiming to confirm similar outcomes for the transverse colon and the right colon, justifying the existing dichotomy between the right and left colon (4). The analysis included a pool of 553 patients from the CO.20 (24) and eCCTG/AGIT CO.17 (25) clinical trials. These studies included mCRC patients treated with anti-EGFR in advanced lines of therapy. The CCTG/AGIT CO.17 trial included 572 patients. After excluding patients with unknown *BRAF* and *RAS* status, data from 201 patients were analyzed. The CO.20 study included 750 patients, and data from 352 patients were analyzed, including only those who had received cetuximab monotherapy treatment and excluding those with a mutation in *KRAS* exon 2. Of the 553 patients included, up to 352 presented a mutation in *NRAS*, *BRAF* V600E, or *KRAS* exons 3 or 4; these data were however not analyzed but nonetheless could have impacted the data. Ninety percent of patients were heavily pretreated, having received at least two lines of treatment, and may have developed resistance mutations that were not tested for.

When evaluating patients by laterality, only 32 of the 553 patients were classified as having a tumor located in the transverse colon, limiting representativeness for drawing solid conclusions. The results showed interesting outcomes when analyzing the efficacy of anti-EGFR (cetuximab) treatment. Cetuximab treatment compared to best supportive care did not increase OS or PFS in patients with tumors located in the transverse colon or right colon, reinforcing the similarity between these locations. It also did not result in an increase in ORR, which was 0% in patients

with tumors located in the transverse colon and 3.4% in those with right-sided tumors. However, statistically significant differences were found in tumors located on the left side compared with transverse, with a response rate of around 10%, median OS of 9.7 *vs.* 5.9 months [hazard ratio (HR) =0.42; 95% confidence interval (CI): 0.27–0.67; P=0.0002] and median PFS of 3.8 *vs.* 1.8 months (HR =0.49; 95% CI: 0.31–0.76; P=0.001) (4). These data are consistent with those of previous publications (12,14).

Despite the limitations, the data presented in this study indicate that there are multiple similarities between tumors located in the right colon and in the transverse colon from a prognostic standpoint, as a worse prognosis was observed in the placebo arm compared to the left colon (4). This reinforces the idea of the importance of colon laterality based on embryonic origin, and hence its dichotomization.

From the perspective of predicting response to anti-EGFR therapy, drawing conclusions for outcomes in the transverse colon is more complex, and these results should be considered as hypothesis-generating due to the low number of cases, retrospective nature, and absence of using location as a stratification criterion in both analyzed meta-analyses. As such, further in-depth data analyses are necessary to determine reliable conclusions regarding the predictive value in terms of response to anti-EGFR therapy in the transverse colon.

### Acknowledgments

*Funding:* None.

### Footnote

*Provenance and Peer Review:* This article was commissioned by the editorial office, *Journal of Gastrointestinal Oncology*. The article has undergone external peer review.

*Peer Review File:* Available at <https://jgo.amegroups.com/article/view/10.21037/jgo-24-272/prf>

*Conflicts of Interest:* Both authors have completed the ICMJE uniform disclosure form (available at <https://jgo.amegroups.com/article/view/10.21037/jgo-24-272/coif>). S.C.G. has received payment for lectures and presentations from Roche. A.F.M. has received consulting fees from Amgen, Merck, Astra Zeneca, MSD, and BMS. She has also received payment for lectures and presentations from Amgen, Servier, Lilly, Merck, BMS, MSD, Eisai, Daichi, Beigene,

Roche, and Astra Zeneca. Additionally, she has received support for attending meetings and/or travel from Roche and Astra Zeneca. The authors have no other conflicts of interest to declare.

*Ethical Statement:* The authors are accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

*Open Access Statement:* This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0 International License (CC BY-NC-ND 4.0), which permits the non-commercial replication and distribution of the article with the strict proviso that no changes or edits are made and the original work is properly cited (including links to both the formal publication through the relevant DOI and the license). See: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

### References

1. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012;487:330-7.
2. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, et al. Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol* 2017;3:211-9.
3. Benedix F, Meyer F, Kube R, et al. Right- and left-sided colonic cancer - different tumour entities. *Zentralbl Chir* 2010;135:312-7.
4. Solar Vasconcelos JP, Chen N, Titmuss E, et al. Transverse Colon Primary Tumor Location as a Biomarker in Metastatic Colorectal Cancer: A Pooled Analysis of CCTG/AGITG CO.17 and CO.20 Randomized Clinical Trials. *Clin Cancer Res* 2024;30:1121-30.
5. Mukund K, Syulyukina N, Ramamoorthy S, et al. Right and left-sided colon cancers - specificity of molecular mechanisms in tumorigenesis and progression. *BMC Cancer* 2020;20:317.
6. Koulouridi A, Karagianni M, Messaritakis I, et al. Prognostic Value of KRAS Mutations in Colorectal Cancer Patients. *Cancers (Basel)* 2022;14:3320.
7. Ciardiello D, Maiorano BA, Martinelli E. Targeting KRASG12C in colorectal cancer: the beginning of a new era. *ESMO Open* 2023;8:100745.
8. Fakhri MG, Kopetz S, Kuboki Y, et al. Sotorasib for

- previously treated colorectal cancers with KRASG12C mutation (CodeBreaK100): a prespecified analysis of a single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2022;23:115-24.
9. Yaeger R, Weiss J, Pelster MS, et al. Adagrasib with or without Cetuximab in Colorectal Cancer with Mutated KRAS G12C. *N Engl J Med* 2023;388:44-54.
  10. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* 2015;21:1350-6.
  11. Bylsma LC, Gillezeau C, Garawin TA, et al. Prevalence of RAS and BRAF mutations in metastatic colorectal cancer patients by tumor sidedness: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Med* 2020;9:1044-57.
  12. Arnold D, Lueza B, Douillard JY, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol* 2017;28:1713-29.
  13. Watanabe J, Muro K, Shitara K, et al. Panitumumab vs Bevacizumab Added to Standard First-line Chemotherapy and Overall Survival Among Patients With RAS Wild-type, Left-Sided Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2023;329:1271-82.
  14. Rossini D, Boccaccino A, Carullo M, et al. Primary tumour side as a driver for treatment choice in RAS wild-type metastatic colorectal cancer patients: a systematic review and pooled analysis of randomised trials. *Eur J Cancer* 2023;184:106-16.
  15. Cervantes A, Adam R, Roselló S, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2023;34:10-32.
  16. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Colon Cancer Version 2.2024. April 30, 2024.
  17. Lenz HJ, Ou FS, Venook AP, et al. Impact of Consensus Molecular Subtype on Survival in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Results From CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol* 2019;37:1876-85.
  18. Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;360:1408-17.
  19. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010;28:4697-705.
  20. Schwartzberg LS, Rivera F, Karthaus M, et al. PEAK: a randomized, multicenter phase II study of panitumumab plus modified fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (mFOLFOX6) or bevacizumab plus mFOLFOX6 in patients with previously untreated, unresectable, wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2014;32:2240-7.
  21. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1065-75.
  22. Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:4706-13.
  23. Bray SM, Lee J, Kim ST, et al. Genomic characterization of intrinsic and acquired resistance to cetuximab in colorectal cancer patients. *Sci Rep* 2019;9:15365.
  24. Siu LL, Shapiro JD, Jonker DJ, et al. Phase III randomized, placebo-controlled study of cetuximab plus brivanib alaninate versus cetuximab plus placebo in patients with metastatic, chemotherapy-refractory, wild-type K-RAS colorectal carcinoma: the NCIC Clinical Trials Group and AGITG CO.20 Trial. *J Clin Oncol* 2013;31:2477-84.
  25. van der Kruijssen DEW, van der Kuil AJS, Vink GR, et al. Time-varying prognostic value of primary tumor sidedness in metastatic colorectal cancer: A population-based study and meta-analysis. *Int J Cancer* 2023;152:1360-9.

**Cite this article as:** Cameselle-García S, Fernández Montes A. Is the transverse colon the new right?—similarities in EGFR drug response and prognosis. *J Gastrointest Oncol* 2024. doi: 10.21037/jgo-24-272

## 4. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### 4.1. Tablas

<b>Tabla 1.</b>	Criterios de Amsterdam II* .....	38
<b>Tabla 2.</b>	Criterios de Bethesda revisados* .....	38
<b>Tabla 3.</b>	Se muestran las características que definen los síndromes hereditarios de CCR asociados a poliposis más frecuentes. <i>Elaboración propia a partir de Gomollon et al, 2019 y referencias de tabla.</i> .....	41
<b>Tabla 4.</b>	Clasificación de la OMS de los tumores epiteliales malignos de colon y recto (5ª Ed.)* .....	45
<b>Tabla 5.</b>	Grado histológico tumoral según la AJCC, 8ª edición* .....	46
<b>Tabla 6.</b>	Grado histológico tumoral según la OMS, 5ª edición* .....	46
<b>Tabla 7.</b>	Resumen de las características principales del cáncer colorrectal según los cuatro subgrupos moleculares definidos por The Cancer Genome Atlas ( <i>Elaboración propia a partir de las referencias: Guinney et al, 2015; Rejali et al, 2023</i> ). .....	48
<b>Tabla 8.</b>	Estadía TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).....	52
<b>Tabla 9.</b>	Estadía TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).....	52
<b>Tabla 10.</b>	Estadía TNM para adenocarcinomas, carcinomas neuroendocrinos de alto grado y carcinomas escamosos de colon y recto (AJCC, 8ª edición*).....	53
<b>Tabla 11.</b>	Grupos de estadía pronóstico según la AJCC (8ª edición*).....	53
<b>Tabla 12.</b>	Características de los anticuerpos, dilución y recuperación antigénica.....	74
<b>Tabla 13.</b>	Distribución por edad en el total de la población y en los grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> . .....	81
<b>Tabla 14.</b>	Distribución por sexo en el total de la población y en los grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> . .....	81
<b>Tabla 15.</b>	Distribución por localización y lateralidad de los tumores analizados en el total de la población, en el grupo <i>Sin recaída</i> y en el grupo <i>Recaída</i> . .....	83
<b>Tabla 16.</b>	Distribución por tipo de cirugía y si fue una intervención de urgencia en el total de la población estudiada y en los grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> . .....	84
<b>Tabla 17.</b>	Distribución de los pacientes según estadía, profundidad de la afectación tumoral (T), afectación ganglionar (N), número de ganglios afectados, presencia o no de depósitos tumorales y la afectación de margen tras la intervención ( <i>AJCC, 8ª edición*</i> ). .....	86

<b>Tabla 18.</b>	Distribución de los pacientes según la presencia de factores de mal pronóstico en el total de la población y en los grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> .	88
<b>Tabla 19.</b>	Distribución de los niveles de CEA prequirúrgico (ng/mL) en el total de la población estudiada y los distintos grupos.	90
<b>Tabla 20.</b>	Distribución según Ki-67 y subtipo histológico en los distintos grupos y en el total de la población.	92
<b>Tabla 21.</b>	Distribución según la administración de tratamiento adyuvante y la administración o no de oxaliplatino en el total de la población y en los grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> .	95
<b>Tabla 22.</b>	Distribución de los pacientes según la localización de la recaída y la causa del fallecimiento en el total de la población y en el grupo <i>Recaída</i> .	95
<b>Tabla 23.</b>	Distribución de los resultados del estudio inmunohistoquímico y molecular en el total de la población y en los dos grupos <i>Sin recaída</i> y <i>Recaída</i> .	96
<b>Tabla 24.</b>	Análisis de riesgos proporcionales de Cox. Edad, sexo y variables clínicas de mal pronóstico.	104
<b>Tabla 25.</b>	Resumen del análisis de las proteínas significativamente infraexpresadas en el grupo <i>Recaída</i> .	175
<b>Tabla 26.</b>	Resumen del análisis de las proteínas expresadas de manera exclusiva en el grupo <i>Sin recaída</i> .	188
<b>Tabla 27.</b>	Resumen del análisis de las proteínas que se postulan como biomarcadores expresadas de manera exclusiva en el grupo <i>Recaída</i> .	217

## 4.2. Figuras

<b>Figura 1.</b>	Incidencia y mortalidad estandarizada por edad de distintos tumores a nivel mundial obtenida de datos de registro de GLOBOCAN del año 2022.....	35
<b>Figura 2.</b>	Evolución de las tasas de incidencia y mortalidad cada 100.000 personas en España desde el año 1993 hasta el año 2022. GLOBOCAN, 2022.....	36
<b>Figura 3.</b>	Número de casos incidentes de tumores por tipo tumoral y sexo en Galicia en el año 2022. Elaborado a partir del Registro Gallego de Tumores.....	36
<b>Figura 4.</b>	Supervivencia relativa (%) de los tumores colorrectales por sexo en Galicia durante el periodo 2015-2019. Datos obtenidos del Registro Gallego de Tumores. ....	37
<b>Figura 5.</b>	Algoritmo para el diagnóstico molecular de síndrome de Lynch en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Elaboración propia basada en las guías ESMO de cáncer hereditario (Stjepanovic et al, 2019).....	39
<b>Figura 6.</b>	Esquema de las principales vías de desarrollo del cáncer de colon. Elaboración propia a partir de la referencia: Kasi et al, 2020. ....	43
<b>Figura 7.</b>	Principales características diferenciales entre cáncer de colon derecho e izquierdo. Elaboración propia. ....	50
<b>Figura 8.</b>	Curvas de Kaplan-Meier que muestran la supervivencia en función de los distintos estadios de CC según la 8ª clasificación de la AJCC (Amin et al, 2017).....	56
<b>Figura 9.</b>	Esquema de tratamiento para los pacientes con cáncer de colon en estadio II. Elaboración propia a partir de referencia guía ESMO de CC localizado (Argilés et al, 2020).....	57
<b>Figura 10.</b>	Representación esquemática del proceso conocido como “splicing alternativo”. Elaboración propia.....	61
<b>Figura 11.</b>	Evaluación del índice de Ki-67 en los tumores. En este estudio, el porcentaje de células tumorales positivas para anticuerpo anti-Ki-67 (índice de Ki-67), se evaluó con un sistema automatizado de análisis de imagen (PathScan combi). Arriba, en la imagen A se pueden observar los núcleos positivos para Ki-67 (teñidos de marrón) y el área tumoral seleccionada con el ratón (línea verde) para cuantificar Ki-67. En la imagen B, el área a cuantificar muestra los núcleos positivos para Ki-67 en rojo y el resto de los núcleos en azul (negativos), según el algoritmo del sistema de análisis de imagen.....	75
<b>Figura 12.</b>	Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el total de la población estudiada. ....	82
<b>Figura 13.</b>	Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el grupo <i>Sin recaída</i> .....	83

<b>Figura 14.</b>	Diagrama sectorial que muestra la localización del tumor en el grupo <i>Recaída</i> .....	83
<b>Figura 15.</b>	Grado histológico tumoral. (A) Adenocarcinoma de bajo grado, se observa formación de glándulas en más del 90% del tumor. (B). Adenocarcinoma de alto grado, hay escasa formación de glándulas y escasa cohesión celular. Tinción con hematoxilina-eosina; aumento original de 200X.....	91
<b>Figura 16.</b>	Tipos histológicos de adenocarcinoma. Adenocarcinoma NOS (A). Adenocarcinoma mucinoso (B). Adenocarcinoma serrado (C). Carcinoma de células en anillo de sello (D). Tinción con hematoxilina-eosina; aumento original de 200X; recuadro 400X. ....	93
<b>Figura 17.</b>	<b>Expresión inmunohistoquímica de Ki-67.</b> (A) La evaluación automatizada de la actividad proliferativa de este tumor mediante análisis de imagen (PathScan, Elancourt, Francia) evidenció un índice de Ki-67 de 9,5%. (B) En el tumor de la imagen inferior el índice de Ki-67 fue de 70,5%. Inmunotinción para Ki-67; aumento original 200X. ....	94
<b>Figura 18.</b>	Diagrama sectorial que muestra el tipo de mutaciones encontradas en todos los pacientes incluidos en la presente serie. ....	97
<b>Figura 19.</b>	Expresión inmunohistoquímica de p53. (A) Patrón de tinción para p53 normal (“wild-type”) con alternancia de núcleos negativos y positivos (de intensidad débil). (B). Patrón de tinción “block”, con tinción nuclear fuerte y difusa en todos los núcleos de las células tumorales (refleja la acumulación de una proteína p53 por mutación). (C) Patrón de tinción “null”, con ausencia completa de tinción nuclear en el tumor, lo cual refleja falta de la proteína p53 por mutación. Inmunotinción para p53; aumento original 200X, en el recuadro 400X. ....	100
<b>Figura 20.</b>	Expresión inmunohistoquímica de CDX2 y SATB2. (A) Fuerte positividad nuclear (y citoplasmática) para CDX2 en las células tumorales, así como en glándulas no tumorales atrapadas por el tumor (asterisco). (B) La figura muestra negatividad del tumor para CDX2. (C) En la figura inferior izquierda hay positividad nuclear del tumor y células normales (asterisco) para SATB2. (D) La imagen de la derecha muestra positividad nuclear en las glándulas normales (asterisco) pero negatividad en las células tumorales. Inmunotinción para CDX2 (A y B) y para SATB2 (C y D); aumento original de 200X.....	101
<b>Figura 21.</b>	Expresión inmunohistoquímica de proteínas reparadoras del apareamiento del ADN (Mismatch Repair-MMR). Las figuras A-D muestran la positividad nuclear para las proteínas de los genes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 respectivamente, tanto en las células tumorales como en las células de glándulas no tumorales adyacentes (asteriscos). En las figuras inferiores (E y F) hay negatividad tumoral para MLH1 y PMS2, respectivamente, con expresión conservada en linfocitos y las células no tumorales del estroma (asterisco). Inmunotinciones para MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2; aumento original de 200X. ....	102

<b>Figura 22.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE en el grupo de pacientes que se sometieron a una cirugía urgente es inferior. ....	103
<b>Figura 23.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que debutaron con una perforación. ....	104
<b>Figura 24.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que debutaron con una obstrucción. ....	105
<b>Figura 25.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que presentaron ILV en la pieza quirúrgica. ....	105
<b>Figura 26.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE es inferior en el grupo de pacientes que presentaron IPN en la pieza quirúrgica. ....	106
<b>Figura 27.</b>	Diagrama de cajas que muestra la dispersión de los niveles de CEA prequirúrgico en los pacientes incluidos en nuestra serie. ....	106
<b>Figura 28.</b>	Curva Kaplan Meyer de muestra que la SLE en el grupo de pacientes que recaen a nivel peritoneal es inferior a los que recaen en otras localizaciones. ....	107
<b>Figura 29.</b>	Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la ausencia o expresión inmunohistoquímica de CDX2. ....	108
<b>Figura 30.</b>	Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la ausencia o expresión IHQ de SATB2. ....	108
<b>Figura 31.</b>	Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la presencia o no de mutación en <i>KRAS</i> . ....	109
<b>Figura 32.</b>	Curva Kaplan Meyer de SLE en función de la presencia o no de mutaciones en <i>TP53</i> . ....	109
<b>Figura 33.</b>	Análisis de componentes principales de los datos del estudio. La figura ilustra los dos componentes principales (PC1 y PC2) que explican la mayoría de las variaciones en el conjunto de datos. En este caso el análisis muestra un 80.4% de separación en PC1. ....	111
<b>Figura 34.</b>	Proteínas sobreexpresadas e infraexpresadas en tumores de pacientes con recaída. A) Volcano plot en el que se ven las proteínas significativamente ( $p < 0.05$ , línea punteada) sobreexpresadas (rojo) e infraexpresadas (verde) en tumores de pacientes con recaída. B) Heat map en el que se representan las proteínas sobreexpresadas y las proteínas infraexpresadas con menos de $FC < 0.2$ (debido al gran número de proteínas infraexpresadas se opta por representar únicamente las que tienen un FC mas pequeño, más infraexpresadas. C) Analisis funcional de los procesos biológicos mas alterados en ambos grupos de proteínas encontradas sobreexpresadas e infraexpresadas (FunRich). D) Analisis funcional de las "pathways" más alteradas en ambos grupos de proteínas encontradas sobreexpresadas e infraexpresadas (FunRich). ....	112
<b>Figura 35.</b>	Proteínas sobreexpresadas en tumores de pacientes con recaída. Representación de las interacciones mediante el análisis con la base de datos String. ....	113

<b>Figura 36.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de ITGB1 se función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del area obtenida en el análisis SWATH-MS para ITGB1 en una muestra.....	114
<b>Figura 37.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de FBN1 en función de: A) presencia de recaída o libre de enfermedad y B) lateralidad.....	115
<b>Figura 38.</b>	Diagrama de cajas se muestra que muestra la expresión diferencial de PRELP en el grupo recaída y libre de enfermedad. Se observa como 4 pacientes presentan resultados excepcionalmente elevados de PRELP en el grupo recaída.....	115
<b>Figura 39.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de CACYBP se función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del area obtenida en el análisis SWATH-MS para CACYBP en una muestra y C) en función de la lateralidad.....	116
<b>Figura 40.</b>	Representación mediante String de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con Recaída. Se identifican seis <i>clusters</i> principales de interacciones proteína-proteína.....	117
<b>Figura 41.</b>	Representación del cluster principal ( <i>cluster 1</i> ) de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	118
<b>Figura 42.</b>	Representación del <i>cluster 2</i> de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	118
<b>Figura 43.</b>	Representación del <i>cluster 3</i> de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	119
<b>Figura 44.</b>	Representación del <i>cluster 4</i> de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	120
<b>Figura 45.</b>	Representación del <i>cluster 5</i> de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	120
<b>Figura 46.</b>	Representación del <i>cluster 6</i> de interacciones de las proteínas infraexpresadas en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String.....	121
<b>Figura 47.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína RACK1 en función de: A) su lateralidad y B) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad.....	122
<b>Figura 48.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EIF2S1 en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) la presencia o no de	

- recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para ITGB1 en una muestra y C) en función de la lateralidad..... 123
- Figura 49.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EIF4A1 en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para EIF4A1 en una muestra. .... 124
- Figura 50.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de ATP5F1B en función de: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para ATP5F1B en una muestra..... 125
- Figura 51.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de EEF1D en función de: A) lateralidad y B) recaída en función de lateralidad..... 127
- Figura 52.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína EEF1G a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) lateralidad y B) en función de su recurrencia por lateralidad siendo las diferencias más significativas en el lado izquierdo..... 128
- Figura 53.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína EEF2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para EEF2 en una muestra..... 129
- Figura 54.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína TUFM a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) recaída en función de lateralidad..... 130
- Figura 55.** Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína FAU a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para FAU en una muestra. .... 131
- Figura 56.** Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína RPL14 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída o libre de enfermedad, B) lateralidad y C) recidiva y lateralidad. .... 132
- Figura 57.** Imágenes adaptadas del artículo: Guinney et al, 2015 en el que se muestra: A) Análisis de enriquecimiento de ARNm de conjunto de genes: firmas de especial interés en CCR, algoritmo ESTIMATE30 para inferir mezcla de células inmunes y estromales en muestras de tumores, vías canónicas, firmas inmunes y vías metabólicas. B) Análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes de datos proteómicos TCGA..... 134

<b>Figura 58.</b>	Diagrama de cajas donde se evidencia una mayor expresión de transketolasa (TKT) en los tumores del colon derecho de forma significativa.....	135
<b>Figura 59.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína ALDOC en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída. ....	136
<b>Figura 60.</b>	Representación esquemática de la generación de lactato mediada por la vía de la glucólisis aerobia. Elaboración propia. ....	137
<b>Figura 61.</b>	Diagrama de cajas que muestra la mayor expresión de LDHA en carcinomas colónicos del lado derecho.....	138
<b>Figura 62.</b>	Representación esquemática del papel funcional de GSTO1 en la activación de la vía de NLPR3 inflamasoma. Elaboración propia a partir del artículo de Tummala et al, 2021.....	139
<b>Figura 63.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína GSTO1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	139
<b>Figura 64.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ENO1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la lateralidad y B) la lateralidad y recaída. ....	141
<b>Figura 65.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína A2M a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para A2M en una muestra. ....	142
<b>Figura 66.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína HSPA5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída y B) en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para HSPA5 en una muestra. ....	143
<b>Figura 67.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HSPA8 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída. ....	144
<b>Figura 68.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína HSP90AA1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para HSP90AA1 en una muestra. ....	144
<b>Figura 69.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína DDOST a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de	

	los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para DDOST en una muestra.....	145
<b>Figura 70.</b>	Diagrama de cajas que muestra la mayor expresión de KHSRP en carcinomas colónicos del lado derecho. ....	146
<b>Figura 71.</b>	Representación esquemática del papel funcional de HMGCS2 y su implicación en la vía MYC en el desarrollo del hepatocarcinoma. Elaboración propia basada en el artículo de Wang et al, 2019.....	147
<b>Figura 72.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HMGCS2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.....	148
<b>Figura 73.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ACAA2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	149
<b>Figura 74.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ACADVL a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	150
<b>Figura 75.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína MPO a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída.....	151
<b>Figura 76.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína AZU1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	152
<b>Figura 77.</b>	Representación esquemática del papel funcional de CTSG sobre la vía de AKT/mTOR. Elaboración propia.....	153
<b>Figura 78.</b>	Diagrama de cajas que muestra la comparativa de la expresión de la proteína CTSG a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS por: A) la presencia o ausencia de recaída, B) en función de la lateralidad y C) la presencia o no de recaída en función de la lateralidad. Cada uno de los puntos corresponde al valor del área obtenida en el análisis SWATH-MS para CTSG en una muestra.....	153
<b>Figura 79.</b>	Representación esquemática del papel funcional de COPA y su relación con la expresión de STING. Elaboración propia basada en Steiner et al, 2022.....	154
<b>Figura 80.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína COPA a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	155
<b>Figura 81.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína COPB1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída. ....	156
<b>Figura 82.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SLC25A5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de la lateralidad. ....	157

<b>Figura 83.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína PARP1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) lateralidad y B) lateralidad y recaída. ....	159
<b>Figura 84.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína H4C6 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	160
<b>Figura 85.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína XRCC5 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	161
<b>Figura 86.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína DHX9 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	162
<b>Figura 87.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína DDX39B a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	163
<b>Figura 88.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína AKR1A1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída y B) lateralidad y recaída. ....	164
<b>Figura 89.</b>	Representación esquemática de los mecanismos implicados en la acumulación de acetaldehído y su interacción a nivel del ADN. Elaboración propia. ....	165
<b>Figura 90.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína ALDH2 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	165
<b>Figura 91.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína CBR1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	166
<b>Figura 92.</b>	Representación esquemática del papel del grupo hemo como promotor de la carcinogénesis. Con permiso de Canesin et al, 2021. ....	167
<b>Figura 93.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína HPX a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	168
<b>Figura 94.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína C1QBP a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída.....	169
<b>Figura 95.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPING1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	170
<b>Figura 96.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPING1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	171

<b>Figura 97.</b>	Representación esquemática de la cascada de la coagulación. Elaboración propia. ....	172
<b>Figura 98.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína SERPINC1 a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	173
<b>Figura 99.</b>	Diagrama de cajas que muestra la expresión diferencial de la proteína APOH a partir de las áreas obtenidas en el SWATH-MS en función de: A) la presencia de recaída, B) lateralidad y C) lateralidad y recaída. ....	174
<b>Figura 100.</b>	Diagrama de Venn que compara las proteínas expresadas diferencialmente de forma significativas ( $p > 0$ igual de 0.05 y $FC > 0$ igual 1.5) entre los grupos <i>Recaída</i> y <i>Sin recaída</i> . ....	176
<b>Figura 101.</b>	Análisis funcional de los procesos biológicos más alterados en ambos grupos de proteínas encontradas exclusivamente en el grupo de <i>Recaída</i> y <i>Sin Recaída</i> (FunRich) (A). Análisis funcional de las funciones moleculares más alterados en ambos grupos de proteínas encontradas en el grupo de <i>Recaída</i> y <i>Sin Recaída</i> (FunRich) (B). ....	177
<b>Figura 102.</b>	Representación de interacciones de las 48 proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes <i>Sin recaída</i> obtenida mediante String. En la tabla se muestran los principales procesos biológicos identificados. ....	178
<b>Figura 103.</b>	Representación de interacciones de las proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes <i>Sin recaída</i> obtenida mediante la base de datos String, destacando los 3 <i>clusters</i> principales. ....	179
<b>Figura 104.</b>	Representación de las interacciones de las proteínas del <i>cluster 1</i> obtenida mediante la base de datos String. ....	179
<b>Figura 105.</b>	Representación de las interacciones de las proteínas del <i>cluster 2</i> obtenida mediante la base de datos String. ....	180
<b>Figura 106.</b>	Representación de las interacciones de las proteínas del <i>cluster 3</i> obtenida mediante la base de datos String. ....	180
<b>Figura 107.</b>	Diagrama esquemático que representa el mecanismo por el cual <i>AKR7A3</i> promueve la metástasis de células de adenocarcinoma ductal pancreático a través de la diana 3-fosfoglicerato deshidrogenasa de la autofagia mediada por la vía AMPK-Beclin1. Elaboración propia. ....	181
<b>Figura 108.</b>	Representación del metabolismo del GABA. Elaboración propia. ....	183
<b>Figura 109.</b>	Representación esquemática del mecanismo de acción de CYRIB y su interacción con la vía RAC1-STAT3. Elaboración propia. ....	186
<b>Figura 110.</b>	Representación de gráfica del mecanismo de acción de DUX4 tomada con permiso de Canesin et al, 2021. ....	187
<b>Figura 111.</b>	Representación del mecanimos de acción propuesto de NDRG2 y su implicación en la diferenciación tumoral (Shen et al, 2018). ....	188

<b>Figura 112.</b>	Representación de las interacciones de las proteínas presentes de manera exclusiva en el grupo de pacientes <i>Recaída</i> obtenida mediante la base de datos String. Se destacan los 31 <i>clusters</i> identificados.....	189
<b>Figura 113.</b>	Representación del <i>cluster</i> 1 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	189
<b>Figura 114.</b>	Representación de gráfica de las interacciones de la vía SGOC y su implicación en la tumorigénesis. Imagen tomada con permiso del artículo Pan et al, 2023.....	191
<b>Figura 115.</b>	Representación de esquemática de las vías que median en la progresión e invasión del CCR así como sus interacciones. Imagen tomada con permiso del artículo Shen et al, 2018.....	191
<b>Figura 116.</b>	Esquema sobre el papel EIF1, EIF5 y EIF6 en el CCR. Imagen del artículo CRC. Imagen tomada con permiso del artículo Golob-Schwarzl et al, 2017.....	192
<b>Figura 117.</b>	Representación del <i>cluster</i> 2 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	193
<b>Figura 118.</b>	Representación esquemática de los mecanismos que regulan la proliferación celular en células tumorales de CCR a través de NDUFA4. Imagen tomada con permiso del artículo de Zhou et al, 2024. ....	194
<b>Figura 119.</b>	Representación del <i>cluster</i> 3 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	195
<b>Figura 120.</b>	Representación del <i>cluster</i> 4 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	196
<b>Figura 121.</b>	Representación del <i>cluster</i> 5 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	196
<b>Figura 122.</b>	Representación del <i>cluster</i> 6 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	197
<b>Figura 123.</b>	Representación del <i>cluster</i> 7 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	198
<b>Figura 124.</b>	Representación del <i>cluster</i> 8 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	199
<b>Figura 125.</b>	Representación del <i>cluster</i> 9 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	200

<b>Figura 126.</b> Representación del <i>cluster</i> 10 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	201
<b>Figura 127.</b> Representación del <i>cluster</i> 11 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	202
<b>Figura 128.</b> Representación gráfica de las consecuencias de la inhibición de LAMA5. Imagen tomada con permiso del artículo de Maltseva et al, 2020. ....	203
<b>Figura 129.</b> Representación del <i>cluster</i> 12 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	204
<b>Figura 130.</b> Representación del <i>cluster</i> 13 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	204
<b>Figura 131.</b> Representación del <i>cluster</i> 14 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	205
<b>Figura 132.</b> Representación del <i>cluster</i> 15 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	205
<b>Figura 133.</b> Representación del <i>cluster</i> 16 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	206
<b>Figura 134.</b> Representación del <i>cluster</i> 17 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	206
<b>Figura 135.</b> Representación esquemática del heterotetrámero de anexina II-S100A10 sobreexpresado en células tumorales. Los plasminógenos se unen al dominio S100A10 del heterotetrámero y la uPA se une a uPAR. Esto provoca una sobreexpresión de plasmina que lleva a la degradación de la matriz extracelular, invasión y diseminación a distancia. Imagen tomada con permiso del artículo de Kumari et al, 2015. ....	207
<b>Figura 136.</b> Representación del <i>cluster</i> 18 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	208
<b>Figura 137.</b> Representación del <i>cluster</i> 19 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	208
<b>Figura 138.</b> Representación del <i>cluster</i> 20 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	209

<b>Figura 139.</b> Representación del <i>cluster</i> 21 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	210
<b>Figura 140.</b> Representación del <i>cluster</i> 22 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	211
<b>Figura 141.</b> Representación del <i>cluster</i> 23 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	211
<b>Figura 142.</b> Representación del <i>cluster</i> 24 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	212
<b>Figura 143.</b> Representación del <i>cluster</i> 25 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	213
<b>Figura 144.</b> Representación del <i>cluster</i> 26 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	213
<b>Figura 145.</b> Representación del <i>cluster</i> 27 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	213
<b>Figura 146.</b> Representación del <i>cluster</i> 28 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	214
<b>Figura 147.</b> Representación del <i>cluster</i> 29 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	214
<b>Figura 148.</b> Representación del <i>cluster</i> 30 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	215
<b>Figura 149.</b> Representación esquemática de la regulación de la expresión de CES1 por NF- $\kappa$ B y HNF4A en los subtipos de CRC CMS4 y CMS2, respectivamente. Imagen tomada con permiso del artículo de Capece et al, 2021.....	215
<b>Figura 150.</b> Representación del <i>cluster</i> 31 de interacciones de las proteínas identificadas de manera exclusiva en el grupo de pacientes con recaída obtenida mediante la base de datos String. ....	216



El cáncer colorrectal (CCR) es el cuarto más frecuente a nivel mundial y la tercera causa de muerte relacionada con cáncer. En las últimas décadas su incidencia está en aumento, aunque acompañada de un descenso de la mortalidad. Esto se debe a la implementación de los programas de cribado, una mejora en los tratamientos antineoplásicos, el desarrollo de biomarcadores y las terapias dirigidas.

El 80% de los pacientes con cáncer de colon (CC) se diagnostican en estadios localizados o localmente avanzados (estadios I, II y III) donde la cirugía es el tratamiento de elección. La supervivencia a los 5 años tras la cirugía de pacientes con CC estadios II y III se sitúa en torno al 45-83% y la administración de un tratamiento adyuvante tras la cirugía ha demostrado un aumento de la supervivencia de apenas un 8% a los 8 años. Por todo ello, es necesario realizar una selección más adecuada de los pacientes candidatos a un tratamiento adyuvante. Para eso, es preciso identificar marcadores de mal pronóstico más allá de la anatomía patológica y de los factores de riesgo clásicos en los que se apoyan las indicaciones actuales.

En este estudio, además de evaluar los factores clínicos de riesgo clásicos, se ha realizado un análisis de proteómica diferencial, tanto cuantitativa como cualitativa, para evaluar el riesgo de recaída en pacientes con CC localizado. Para ello, se compararon las muestras de tumores de pacientes intervenidos de un CC localizado, libres de enfermedad a los 5 años, frente a las muestras de pacientes que habían presentado recaída durante los 5 primeros años tras la cirugía.