

TRABAJO FIN DE GRADO



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD  
GRADO DE MEDICINA

“Caracterización molecular del cáncer colorrectal  
primario y sus metástasis”

Autor: Mateo Eduardo Belando Pardo

Director: Dr. Pablo Conesa Zamora

Murcia, mayo de 2021







TRABAJO FIN DE GRADO



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD

GRADO DE MEDICINA

“Caracterización molecular del cáncer colorrectal  
primario y sus metástasis”

Autor: Mateo Eduardo Belando Pardo

Director: Dr. Pablo Conesa Zamora

Murcia, mayo de 2021



## TRABAJO FIN DE GRADO



**UCAM**  
UNIVERSIDAD CATÓLICA  
SAN ANTONIO

### DEFENSA TRABAJO FIN DE GRADO

DATOS DEL ALUMNO	
Apellidos: Belando Pardo	Nombre: Mateo Eduardo
DNI: 48694005-S	Grado en Medicina
Facultad de Medicina	
Título del trabajo: Caracterización molecular del cáncer colorrectal primario y sus metástasis.	

El Dr. Pablo Conesa Zamora tutor del trabajo reseñado arriba, acreditó su idoneidad y otorgó el V.º B.º a su contenido para ir a Tribunal de Trabajo fin de Grado.

En Cartagena, 17 mayo de 2021

Fdo.: Pablo Conesa Zamora



## ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	11
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
2.1. Población de estudio.....	19
2.2. Variables de referencia.....	19
2.3. Preservación y selección de tejido.....	19
2.4. Extracción de ADN y análisis mutacional.....	20
2.5. Análisis estadístico.....	20
2.6. Búsqueda de datos.....	20
3. Resultados.....	21
3.1. Características del estado mutacional en relación al sexo.....	21
3.2. Características del estado mutacional en relación a la edad de diagnóstico.....	21
3.3. Características del estado mutacional del tumor primario en relación a su localización.....	22
3.4. Características del estado mutacional en relación a la supervivencia/letalidad.....	23
3.5. Concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a su metástasis.....	23
4. DISCUSIÓN.....	25
5. CONCLUSIONES.....	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29
7. TABLAS.....	32



## **ABREVIATURAS**

**CCR:** cáncer colorrectal.

**CCRM:** cáncer colorrectal metastásico.

**EGFR:** factor de crecimiento epidérmico.

**PCR:** reacción en cadena de la polimerasa.



## RESUMEN

Introducción: el cáncer colorrectal es uno de los más prevalentes en todo el mundo y la determinación del estado mutacional en los oncogenes KRAS/NRAS/BRAF tiene importancia en la respuesta a los tratamientos anti-EGFR. El objetivo es observar las diferencias que existen entre las distintas variantes a nivel molecular que presentan tanto los tumores como sus metástasis y que están implicadas en su manejo terapéutico. Material y métodos: estudio transversal en el que se han analizado un total de 30 pacientes con cáncer colorrectal avanzado y con edad de diagnóstico superior a 40 años. Se utilizaron como test estadísticos Chi<sup>2</sup> y la prueba exacta de Fisher para variables categóricas. Resultados: en relación al sexo no se hallaron diferencias significativas entre las mutaciones de la vía RAS y del oncogen BRAF (p=0'1584), tampoco se encontraron respecto a la edad (p=0'113), la localización del tumor primario (p=0'6876), o la supervivencia/letalidad (p=0'2076). En cuanto a la concordancia del estado mutacional entre el tumor primario frente a su correspondiente metástasis sí se observó un alto grado de concordancia de la mutación KRAS (p=0'003), no siendo así para la mutación del oncogen BRAF(p=0'6545). Discusión: los resultados obtenido coinciden en su mayoría con los de otros trabajos pese a no arrojar diferencias estadísticas significativas, esto puede deberse al tamaño reducido de la muestra trabajada. Conclusiones: Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo, junto con los obtenidos por otros estudios del mismo tipo, sugieren la necesidad de realizar análisis biomoleculares tanto tumores primarios como en sus metástasis, especialmente sobre el estado mutacional de BRAF, debido a posibles discrepancias que pueden afectar al grado de respuesta a tratamientos dirigidos.

**Descriptor/ palabras clave:** cáncer colorrectal, metástasis, KRAS,BRAF,NRAS, oncogen, concordancia, biomarcadores.



## **ABSTRACT**

Introduction: colorectal cancer is one of the most prevalent in the world. The objective is to observe the differences that exist between the different variants at the molecular level that both tumors and their metastases present and that are involved in their therapeutic management. Aim and Methods: a cross-sectional study in which a total of 30 patients with advanced colorectal cancer and with an age of diagnosis over 40 years were analyzed Chi2 statistical tests and Fisher's exact test were used for categorical variables. Results: in relation to sex, no significant differences were found between mutations of the RAS pathway and the BRAF oncogene ( $p = 0.1584$ ), in relation to age, no significant differences were found between the mutations of the RAS pathway and the oncogene BRAF ( $p = 0.1113$ ), In relation to the location of the primary tumor, no significant differences were found between the mutations of the RAS pathway and the BRAF oncogene ( $p = 0.6876$ ), in relation to survival/lethality, no significant differences were found between the mutations of the pathway RAS and BRAF oncogene ( $p = 0.2076$ ) and In relation to the concordance of the mutational state present in the primary tumor against its metastases, a high degree of concordance of the KRAS mutation was observed between the primary tumor and the metastases generated ( $p = 0.003$ ), but not for the mutation of the BRAF oncogene ( $p = 0.6545$ ). Discussion: the results obtained mostly coincide with those of other studies despite not showing significant statistical differences, this may be due to the reduced size of the sample worked. Conclusions: The findings obtained in the present work, together with those obtained by other studies of the same type, suggest the need to perform biomolecular analysis of both primary tumors and their metastases, especially on the mutational status of BRAF, due to possible discrepancies that may affect the degree of response to targeted treatments.

**Descriptors/ Key words:** colorectal cancer, metastasis, KRAS, BRAF, NRAS, oncogene, concordance, biomarkers.



## 1. INTRODUCCIÓN.

El cáncer es una de las primeras causas de muerte a nivel mundial con aproximadamente 8 millones de muertes anuales a nivel mundial<sup>1</sup> siendo, en el año 2018, el cáncer colorrectal (CCR) el tercero en incidencia en ambos sexos después del cáncer de pulmón y mama, sin embargo, el CCR representó el tumor más frecuente diagnosticado en España en el año 2019 en ambos sexos, siendo el segundo en varones después de próstata y el segundo en mujeres después de mama.

El CCR predomina en personas mayores siendo la edad media de presentación entorno a los 70 años, la mayoría de los pacientes tienen más de 50 años en el momento del diagnóstico, pero puede aparecer en personas más jóvenes, afectando a hombres y mujeres casi por igual. En relación a la mortalidad, de acuerdo con la última información proporcionada por el Instituto Nacional de Estadística en diciembre de 2018, correspondiente al año 2017, el CCR fue el segundo tumor responsable de mayor número de muertes en ambos sexos<sup>2,3</sup>.

La mayoría de los CCR se producen esporádicamente y se caracterizan por un proceso de carcinogénesis secuencial que implica la acumulación progresiva de mutaciones en un proceso que dura una media de 10-15 años siendo la supervivencia a 5 años de los pacientes con enfermedad localizada temprana, cuando es posible la resección quirúrgica, de hasta el 90%<sup>4</sup>. Sin embargo, en el momento del diagnóstico entre el 15-25 % de los pacientes con CCR presentan metástasis a distancia y hasta la tercera parte de los que no, la desarrollará entre los 3 y 5 años siguientes al diagnóstico, esto significa que más del 50% desarrollará metástasis durante el transcurso de la enfermedad, lo que supondrá una reducción la tasa de supervivencia a 5 años por debajo del 10%. La aparición de metástasis supone, por tanto, el factor pronóstico desfavorable más determinante de la enfermedad<sup>5-7</sup>, siendo el hígado es el principal lugar donde se producen apareciendo hasta en el 30% de los casos<sup>8</sup>.

En los últimos años, gracias a las pruebas genéticas y el avance en fármacos biológicos como terapias dirigidas, la supervivencia de los pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm) ha mejorado enormemente<sup>9</sup>. Dentro de estos avances, destacan las terapias biológicas dirigidas frente al factor de crecimiento epidérmico (EGFR)<sup>10</sup> ya que la línea de señalización

EGFR tiene un papel clave en la proliferación y supervivencia de las células del CCR<sup>11</sup>. Sin embargo, existen diversas características genéticas que a menudo indican resistencia a los anticuerpos monoclonales anti-EGFR<sup>9</sup>, entre las más estudiadas se encuentran las mutaciones de los biomarcadores, BRAF, KRAS y NRAS<sup>12</sup>. La expresión de estas mutaciones supone un marcador pronóstico negativo que predice la resistencia a la terapia tanto citotóxica como anti-EGFR<sup>8-11</sup>.

Nosotros pretendemos identificar las distintas características que presentan estos tipos principales de marcadores biomoleculares que suponen una resistencia al tratamiento anti-EGFR, presentes tanto en el tumor primario como en las metástasis generadas por éste ya que, como expone Schlicker A. et al. estas mutaciones pueden ser discordantes entre ambos, aunque se suele tomar el análisis del tumor primario para la elección del tratamiento debido a las dificultades existentes en la obtención de las muestras metastásicas en la práctica clínica<sup>13</sup>.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### *2.1. Población de estudio.*

En este estudio transversal se consultó la base de datos del Departamento de Biología Molecular del Hospital Santa Lucia, perteneciente al Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (España). Los pacientes analizados en esta serie fueron un total de 30, integrados por aquellos pacientes con CCR avanzado, con y sin metástasis, de edad al diagnóstico superior a los 40 años e intervenidos quirúrgicamente en el periodo de tiempo comprendido entre 2001 y 2019 a los cuales se les hubiera realizado un análisis biomolecular del tumor primario o cualquiera de sus metástasis en busca de mutaciones de los oncogenes KRAS, NRAS y BRAF.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del propio hospital y se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes previo a la realización de la cirugía para el uso de información médica y muestras de tejido necesarios para la investigación en base a lo establecido en la Ley Orgánica 3/2018 de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales.

Se excluyeron a todas aquellas personas con CCR avanzado menores de 40 años y a aquellas a las que no se les hubiera realizado un análisis biomolecular de ninguna de las muestras obtenidas.

### *2.2. Variables de referencia.*

Las variables recogidas para este estudio fueron: el sexo, la edad de diagnóstico, estado actual del paciente respecto a la supervivencia (vivo/fallecido), localización del tumor primario de aquellos en los que estuviera disponible, estado mutacional del tumor primario para KRAS/NRAS y BRAF y estado mutacional de la metástasis para KRAS/NRAS y BRAF de aquellos pacientes que la tuvieran disponible.

### *2.3. Preservación y selección de tejido.*

Las piezas obtenidas durante el proceso de extirpación quirúrgica o las biopsias realizadas, en ambos casos tanto del tumor primario como de las metástasis, fueron preservadas en formol e incluida en parafina.

El tejido seleccionado para la realización de los análisis moleculares fue aquel que mostró una mayor área de tejido tumoral con el fin de enriquecer el ADN obtenido en aquel proveniente de células tumorales.

#### *2.4. Extracción de ADN y análisis mutacional.*

Para la extracción del ADN de las muestras de tejido y su posterior análisis mutacional se usó la del equipo automatizado Idylla© de Biocartis© con los kits correspondiente para el análisis de mutaciones de los oncogenes KRAS/NRAS y BRAF basada en la extracción de ADN para, posteriormente, realizar una amplificación con sondas fluorescentes y detección cualitativa de dichas mutaciones mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

#### *2.5. Análisis estadístico.*

Las variables cualitativas o categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y relativas, y las comparaciones entre ellas se realizaron mediante la prueba exacta de Fisher o la prueba  $\chi^2$  de Pearson. Los análisis han sido realizados mediante el programa para análisis epidemiológicos para datos tabulados EPIDAT 3.1.

#### *2.6. Búsqueda de datos.*

La búsqueda bibliográfica se realizó mediante las bases de datos Pubmed, Cochrane Library y Scopus.

### 3. RESULTADOS.

Para este estudio han sido analizados un total de 30 pacientes diagnosticados de CCR avanzado, 11 de los cuales presentaban a su vez metástasis, a los cuales se les realizaron pruebas de análisis molecular al tumor primario y/o metástasis.

#### 3.1. *Características del estado mutacional en relación al sexo.*

Las características del estado mutacional en relación al sexo se representan en la tabla 1 y la mutación de KRAS/NRAS frente a BRAF en relación al sexo se representan en la tabla 2.

De los 30 pacientes analizados, el 56'67% fueron hombres y el 43,33% fueron mujeres. De los hombres, el 30% presentaba mutación para KRAS, el 6'67% presentaba mutación para NRAS, el 3'33% presentaba mutación para BRAF y el 16'67% no presentaba estado mutacional para ninguno de los tres biomarcadores. En relación a las mujeres, el 23'33% presentaba mutación para KRAS, el 3'33% presentaba mutación para NRAS, el 13'33% presentaba mutación para BRAF y el 3'33% no presentaba estado mutacional para ninguno de los tres biomarcadores. No se hallaron diferencias significativas para esta asociación ( $p=0'1797$ ).

En cuanto a la relación de las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) frente a BRAF entre el sexo masculino y femenino, el 45'83% de los hombres presentaban mutación para KRAS/NRAS frente al 33'33% de las mujeres mientras que el 4'17% de los hombres presentaba mutación para BRAF frente al 16'67% de las mujeres. Sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticas significativas ( $p=0'1584$ ).

#### 3.2. *Características del estado mutacional en relación a la edad de diagnóstico.*

Las características del estado mutacional en relación a la edad de diagnóstico se representan en la tabla 3 y estado mutacional KRAS/NRAS frente a BRAF en función del pico de edad de diagnóstico se representa en la tabla 4.

De los 30 pacientes analizados, el 20% de los diagnosticados eran menores de 50 años, el 13'33% de los diagnosticados tenían entre 50 y 59 años, el 40% de

los diagnosticados tenían entre 60 y 69 años, el 20% de los diagnosticados tenían entre 70 y 79 años y el 6'67% tenían 80 años o más cuando fueron diagnosticados. No se hallaron diferencias significativas para esta asociación ( $p=0'6733$ ).

En cuanto a la relación del estado mutacional KRAS/NRAS frente a BRAF en función del pico de edad de diagnóstico marcado a los 60 años, el 16% de los menores de 60 años presentaban mutación para KRAS/NRAS frente al 64% de 60 años o más que presentaban dicha mutación. Los menores de 60 años que presentaban mutación para BRAF fueron el 12% frente al 8% de los pacientes de 60 años o más que presentaban dicha mutación. Sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticas significativas ( $p=0'113$ ).

### 3.3. *Características del estado mutacional del tumor primario en relación a su localización.*

Las características del estado mutacional del tumor primario en relación a su localización se representan en la tabla 5.

De los 30 pacientes analizados, el 14'81% presentó el tumor primario localizado en el ciego, un 11,11% correspondiente a mutación KRAS y 3'7% no presentaba ninguna mutación de la vía RAS o BRAF. El 18'52% presentó el tumor primario localizado en el colon ascendente, un 14'81 correspondiente a mutación KRAS y un 3'7% presentaba mutación para BRAF. Solo el 3'7% presentó el tumor primario localizado en colon transverso, identificándose mutación para KRAS. El 14'81% presentó el tumor primario localizado en el colon descendente, un 7'41% correspondiente a mutación KRAS, el 3'7% para NRAS y otro 3'7% para BRAF. Y el 48'15% de los pacientes presentó el tumor primario localizado en colon sigmoide, de los cuales el 18'52% correspondió a mutación KRAS, en el 3'7% se identificó la mutación NRAS, un 7'41% para mutación BRAF y en un 18'52% de los pacientes no se identificó ninguna de las 3 mutaciones. No se hallaron diferencias significativas para esta asociación ( $p=0'6876$ ).

### 3.4. *Características del estado mutacional en relación a la supervivencia/letalidad.*

Las características del estado mutacional en relación a la supervivencia/letalidad se representan en la tabla 6 y las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) frente a BRAF en relación a la supervivencia/letalidad se representan en la tabla 7.

De los 30 pacientes analizados, el 51'72% presentó mutado el oncogen KRAS, de los cuales, el 13'79% sobrevivió frente al 37'93% que falleció. El 10'34% presentó mutado el oncogen NRAS, de los cuales, el 3'45% sobrevivió frente al 6'9% que falleció. El 17'24% presentó mutado el oncogen BRAF, de los cuales, el 10'34% sobrevivió frente al 6'9 que falleció. Y el 20'69% de los pacientes analizados no presentó mutado ninguno de los 3 oncogenes, obteniendo la misma tasa de fallecidos que de supervivientes. No se hallaron diferencias significativas para esta asociación ( $p=0'1808$ )

En cuanto a la relación del estado mutacional de la vía RAS (KRAS/NRAS) frente a BRAF en relación a la supervivencia/letalidad, el 78'26% de los pacientes presentó mutación en la vía RAS, de los cuales, el 21'74% sobrevivieron frente al 56'52% que fallecieron. El 21'74% de los pacientes presentó mutado el oncogen BRAF, de los cuales, el 13'04% sobrevivió frente al 8'7% que fallecieron. Sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticas significativas ( $p=0'2076$ ).

### 3.5. *Concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a su metástasis.*

La concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a sus metástasis se representan en las tablas 8, 9 y 10.

De los pacientes con metástasis que presentaron mutación en la vía RAS en el tumor primario el 63'64% presentó mutación en la vía RAS también en la metástasis. El 27'27% no presentó mutación de dicha vía en el tumor primario que si estaba presente en la metástasis y el 9'09% presentó mutación para KRAS/NRAS en el tumor primario, pero no en las metástasis. Sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticas significativas ( $p=0'7273$ ).

Con respecto a la mutación del oncogen KRAS en los pacientes con metástasis, de aquellos que presentaron mutación del oncogen KRAS en el

tumor primario el 63'64% presentó la mutación del mismo oncogen también en la metástasis. Se observó una concordancia entre la mutación KRAS presente en el tumor primario y la aparición de la misma en las metástasis generadas por el dicho tumor ( $p=0'003$ ). El 36'36% de los pacientes no presentaron alteración de este oncogen ni el tumor principal ni en la metástasis.

Con respecto a la mutación del oncogen BRAF en los pacientes con metástasis, de aquellos que presentaron mutación del oncogen BRAF en el tumor primario el 18'18% no la presentó en la metástasis, otro 18'18% presentó la mutación en la metástasis pero no en el tumor primario y un 63,64% no presentó dicha mutación ni en el tumor primario ni en la metástasis. No se observaron diferencias estadísticas significativas en esta asociación ( $p=0'6545$ ).

#### **4. DISCUSIÓN.**

Las alteraciones de los oncogenes de la vía RAS y BRAF aparecen en un elevado porcentaje de los CCR avanzados, estas mutaciones suponen una resistencia a primeras líneas de tratamiento basadas en terapias anti-EFGR. En las guías actuales sobre el tratamiento del CCR avanzado se recomienda analizar el estado mutacional de la vía RAS y de BRAF, siendo obligatorio el análisis de las mutaciones de la vía RAS debido a su elevada prevalencia y recomendado el análisis de BRAF por su valor pronóstico negativo<sup>14</sup>.

En nuestro trabajo hemos querido explorar diferentes características de estas mutaciones relacionándolas con otros datos que también pueden influir en el manejo terapéutico o la evolución de la enfermedad, como puede ser la edad de diagnóstico, la localización del tumor principal o la supervivencia. Además, hemos pretendido exponer la concordancia presente entre las mutaciones encontradas en los tumores primarios y las encontradas en las metástasis generadas por los mismos.

En nuestra serie de casos, para las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) hubo un ligero predominio del sexo masculino sobre el femenino (11 vs 8, respectivamente), sin embargo, en el caso de las mutaciones del oncogen BRAF destacó un claro predominio sobre el sexo femenino sobre el masculino (4 vs 1, respectivamente), pese a ello, no se pudieron establecer diferencias significativas.

No obstante, los resultados obtenidos coinciden con los de otras series más amplias como las de Wang L. et al.<sup>15</sup> o el de Myte R. et al.<sup>16</sup> donde se pueden observar un predominio de la mutación del oncogen BRAF en el sexo femenino sobre el masculino.

Es probable que la imposibilidad de establecer diferencias significativas en este aspecto por parte de nuestro trabajo se deba al reducido tamaño muestral trabajado.

En cuanto a la edad, en nuestro trabajo decidimos establecer los 60 años como punto de corte a la hora de realizar las comparaciones entre los distintos grupos mutacionales ya que representa la media de edad de los pacientes integrantes del estudio.

Las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) se presentaron predominantemente en aquellos pacientes mayores de 60 años con respecto a

los menores de dicha edad (16 vs 4, respectivamente), pese a ello no se consiguieron encontrar diferencias significativas. Sin embargo, para las mutaciones del oncogen BRAF apenas existió diferencia alguna entre ambas franjas de edad (3 pacientes menores de 60 años vs 2 pacientes de 60 años o más).

Aunque no se objetivaron diferencias, los resultados coinciden con lo expuesto por Guo T-An. et al.<sup>17</sup> respecto al aumento de la presencia de las mutaciones de la vía RAS conforme aumenta la edad de diagnóstico. Mientras que las mutaciones del oncogen BRAF no parecen presentar asociación con respecto a la edad.

Probablemente, el no poder establecer diferencias significativas en este aspecto por parte de nuestro trabajo se deba al reducido tamaño muestral trabajado.

En relación a la localización del tumor primario y la mutación desarrollada, las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) en nuestro estudio parecen presentarse por igual tanto en el colon proximal, integrado por ciego, colon ascendente y colon transverso, como en el colon distal, integrado por colon descendente y colon sigmoide (8 vs 7, respectivamente). Mientras que la mutación del oncogen BRAF aparenta tener un ligero predominio en el lado distal.

Estos resultados contrastan significativamente con los de otros estudios como los de Loree JM. et al.<sup>18</sup> en lo que se describe que la prevalencia de las mutaciones en la vía RAS parece estar más presente en colon distal mientras que las mutaciones del oncogen BRAF parecen estar más ligadas al colon proximal.

El reducido tamaño muestral de nuestro trabajo podría ser la causa tanto de la imposibilidad de establecer diferencias en este apartado como las diferencias encontradas con otros proyectos con una muestra de mayor tamaño.

Con respecto al estado mutacional en relación a la supervivencia, las mutaciones de la vía RAS parecen tener una mayor tasa de mortalidad (5 supervivientes vs 13 fallecidos) con respecto a las mutaciones en el oncogen BRAF (3 supervivientes vs 2 fallecidos), sin embargo, no pudimos establecer diferencias significativas entre ellas.

Trabajos como el de Alwers E. et al.<sup>19</sup> concluyen que la mayoría de subtipos moleculares, incluidos las mutaciones de la vía RAS y el oncogen BRAF no se asocian a diferencias en la supervivencia. Nuestros resultados pueden deberse al reducido tamaño muestral trabajado.

En lo referente a la concordancia de las mutaciones presentes en los tumores primarios con respecto a las que desarrollaron en las metástasis producidas por estos, las mutaciones KRAS en el tumor primario mostraron un alto grado de concordancia sobre las metástasis generadas por los mismos donde el 63'64% pacientes presentaron la misma mutación en ambas ( $p=0'003$ ). Mientras que la mutación BRAF presentó una concordancia menor entre el tumor primario y las metástasis generadas por estos, aunque no se pudo establecer diferencias significativas para este hecho. Sin embargo, ambos resultados coinciden con otros trabajos de mayor tamaño muestral como el de Bhullar DS. et al.<sup>10</sup> en el que se concluye que la mutación de KRAS suele presentar una gran estabilidad entre el tumor primario y la metástasis mientras que la mutación BRAF, pese a tener cierta estabilidad, es susceptiblemente menor.

## **5. CONCLUSIONES.**

La mayoría de resultados obtenidos en nuestro estudio no han podido alcanzar diferencias significativas, sin embargo, se han asemejado a los resultados obtenidos por otros trabajos donde sí se han conseguido y el problema puede estar en el pequeño tamaño muestral.

Las mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) predominan en el sexo masculino, aumentan su aparición en edades más avanzadas (>60 años), no parecen desarrollarse en ninguna localización concreta del colon y las mutaciones de KRAS presentan un alto grado de concordancia entre el tumor primario y las metástasis con respecto al estado mutacional.

Por otra parte, las mutaciones del oncogen BRAF predominan en el sexo femenino, no parecen presentar diferencias de aparición en relación a la edad, existe una mayor asociación de la mutación de este oncogen en lado derecho o proximal del colon y parecen presentar un grado de concordancia menor del estado mutacional entre el tumor primario y las metástasis respecto a las mutaciones de la vía RAS.

En función de estos datos, podría plantearse la necesidad de realizar análisis biomoleculares dirigidos en base a las características de cada paciente dada la importancia que implica para el tratamiento la determinación de las distintas mutaciones. Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo, junto con los obtenidos por otros estudios del mismo tipo, sugieren la necesidad de realizar análisis biomoleculares no solo a los tumores primarios sino también a las metástasis ya que las posibles discrepancias entre estos tipos de tejidos pueden afectar a la respuesta a tratamientos dirigidos como los anti-EGFR.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Cáncer. OMS: Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2021. [Actualizado Febrero 2021; consultado 3 Febrero 2021] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Cáncer de colon y recto. SEOM: Sociedad española de oncología médica [Internet]. Barcelona. 2020. [Actualizado Enero 2021; consultado 3 Febrero 2021] Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/colon-recto?showall=1>
3. Incidencia y mortalidad del cáncer colorrectal en España en la población entre 50 y 69 años. AECC: Asociación Española Contra el Cáncer [Internet]. 2018. [Actualizado Marzo 2018; consultado 3 Febrero 2021] Disponible en: <https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Informe-incidencia-colon.pdf>
4. Alves Martins BA, de Bulhões GF, Cavalcanti IN, Martins MM, de Oliveira PG, Martins AMA. Biomarkers in colorectal cancer: The role of translational proteomics research. *Front Oncol.* 2019;9:1284.
5. Kow AWC. Hepatic metastasis from colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol.* 2019;10(6):1274-98.
6. Dávila D, Palacios Ó, Naranjo C. Metástasis hepáticas en el cáncer colorrectal: estrategias terapéuticas y recomendaciones actuales. *Rev Colomb Cir.* 2017;32(4):304-18.
7. Ruzzenente A, Bagante F, Ratti F, Beal EW, Alexandrescu S, Merath K, et al. Response to preoperative chemotherapy: impact of change in total burden score and mutational tumor status on prognosis of patients undergoing resection for colorectal liver metastases. *HPB (Oxford).* 2019;21(9):1230-9.

8. Yamashita S, Chun YS, Kopetz SE, Vauthey J-N. Biomarkers in colorectal liver metastases. *Br J Surg.* 2018;105(6):618-27.
9. Jiang HQ, Wang BL, Guo W. Analysis of influencing factors of KRAS/NRAS/BRAF/PIK3CA gene mutation consistency in patients with advanced colorectal cancer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2021;101(6):400-4.
10. Bhullar DS, Barriuso J, Mullamitha S, Saunders MP, O'Dwyer ST, Aziz O. Biomarker concordance between primary colorectal cancer and its metastases. *EBioMedicine.* 2019;40:363-74.
11. Nakayama I, Shinozaki E, Matsushima T, Wakatsuki T, Ogura M, Ichimura T, et al. Retrospective study of RAS/PIK3CA/BRAF tumor mutations as predictors of response to first-line chemotherapy with bevacizumab in metastatic colorectal cancer patients. *BMC Cancer.* 2017;17(1):38.
12. Datta J, Smith JJ, Chatila WK, McAuliffe JC, Kandoth C, Vakiani E, et al. Coaltered Ras/B-raf and TP53 is associated with extremes of survivorship and distinct patterns of metastasis in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(5):1077-85.
13. Schlicker A, Ellappalayam A, Beumer IJ, Snel MHJ, Mittempergher L, Diosdado B, et al. Investigating the concordance in molecular subtypes of primary colorectal tumors and their matched synchronous liver metastasis. *Int J Cancer.* 2020;147(8):2303-15.
14. García-Alfonso P, García-Carbonero R, García-Foncillas J, Pérez-Segura P, Salazar R, Vera R, et al. Update of the recommendations for the determination of biomarkers in colorectal carcinoma: National Consensus of the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clin Transl Oncol.* 2020;22(11):1976-91.

15. Wang L, He X, Ugai T, Haruki K, Lo C-H, Hang D, et al. Risk factors and incidence of colorectal cancer according to major molecular subtypes. *JNCI Cancer Spectr.* 2021;5(1).
16. Myte R, Gylling B, Häggström J, Häggström C, Zingmark C, Löfgren Burström A, et al. Metabolic factors and the risk of colorectal cancer by KRAS and BRAF mutation status: Metabolic factors and colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2019;145(2):327–37.
17. Guo T-An, Wu Y-C, Tan C, Jin Y-T, Sheng W-Q, Cai S-J, et al. Clinicopathologic features and prognostic value of KRAS, NRAS and BRAF mutations and DNA mismatch repair status: A single-center retrospective study of 1,834 Chinese patients with Stage I-IV colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2019;145(6):1625–34.
18. Loree JM, Pereira AAL, Lam M, Willauer AN, Raghav K, Dasari A, et al. Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and consensus molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2018;24(5):1062–72.
19. Alwers E, Jia M, Kloor M, Bläker H, Brenner H, Hoffmeister M. Associations between molecular classifications of colorectal cancer and patient survival: A systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(3):402-410.

## 7. TABLAS.

**Tabla 1.** Características del estado mutacional en relación al sexo.

	<b>Sexo Masculino</b>	<b>Sexo Femenino</b>	<b>Total</b>
<b>KRAS mutado</b>	9 (30%)	7 (23'33%)	16 (53'33%)
<b>NRAS mutado</b>	2 (6'67%)	1 (3'33%)	3 (10%)
<b>BRAF mutado</b>	1 (3'33%)	4 (13'33%)	5 (16'67%)
<b>Triple nativo</b>	5 (16'67%)	1 (3'33%)	6 (20%)
<b>Total</b>	17 (56'67%)	13 (43'33%)	30 (100%)

Prueba  $\chi^2$  de Pearson  $p=0'1797$

**Tabla 2.** Mutación de KRAS/NRAS frente a BRAF en relación al sexo.

	<b>Sexo Masculino</b>	<b>Sexo Femenino</b>
<b>KRAS/NRAS mutado</b>	11 (45'83%)	8 (33'33%)
<b>BRAF mutado</b>	1 (4'17%)	4 (16'67%)

Prueba exacta de Fisher  $p=0'1584$

**Tabla 3.** Características del estado mutacional en relación a la edad de diagnóstico.

	<b>&lt;50 años</b>	<b>50-59 años</b>	<b>60-69 años</b>	<b>70-79 años</b>	<b>≥80 años</b>
<b>KRAS mutado</b>	1 (3'33%)	2 (6'67%)	9 (30%)	2 (6'67%)	2 (6'67%)
<b>NRAS mutado</b>	1 (3'33%)	0 (0%)	1 (3'33%)	1 (3'33%)	0 (0%)
<b>BRAF mutado</b>	2 (6'67%)	1 (3'33%)	1 (3'33%)	1 (3'33%)	0 (0%)
<b>Triple nativo</b>	2 (6'67%)	1 (3'33%)	1 (3'33%)	2 (6'67%)	0 (0%)
<b>Total</b>	6 (20%)	4 (13'33%)	12 (40%)	6 (20%)	2 (6'67%)

Prueba  $\chi^2$  de Pearson  $p=0'6733$

**Tabla 4.** Estado mutacional KRAS/NRAS frente a BRAF en función del pico de edad de diagnóstico.

	<b>&lt;60 años</b>	<b>≥60 años</b>
<b>KRAS/NRAS mutado</b>	4 (16%)	16 (64%)
<b>BRAF mutado</b>	3 (12%)	2 (8%)

Prueba exacta de Fisher p=0'113

**Tabla 5.** Características del estado mutacional del tumor primario en relación a su localización.

	<b>Ciego</b>	<b>Colon ascendente</b>	<b>Colon Transverso</b>	<b>Colon descendente</b>	<b>Colon sigmoide</b>
<b>KRAS mutado</b>	3 (11'11%)	4 (14'81%)	1 (3'7%)	2 (7'41%)	5 (18'52%)
<b>NRAS mutado</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3'7%)	1 (3'7%)
<b>BRAF mutado</b>	0 (0%)	1 (3'7%)	0 (0%)	1(3'7%)	2 (7'41%)
<b>Triple nativo</b>	1 (3'7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (18'52%)
<b>Total</b>	4 (14'81%)	5 (18'52%)	1 (3'7%)	4 (14'81%)	13 (48'15%)

Prueba Chi<sup>2</sup> de Pearson p=0'6876

**Tabla 6.** Características del estado mutacional en relación a la supervivencia/letalidad.

	<b>Supervivientes</b>	<b>Fallecidos</b>
<b>KRAS mutado</b>	4 ( 13'79%)	11 (37'93%)
<b>NRAS mutado</b>	1 (3'45%)	2 (6'9%)
<b>BRAF mutado</b>	3 (10'34%)	2 (6'9%)
<b>Triple nativo</b>	3 (10'34%)	3 (10'34%)
<b>Total</b>	11 ( 37'93%)	19 (62'07%)

Prueba Chi<sup>2</sup> de Pearson p= 0'1808

**Tabla 7.** Mutaciones de la vía RAS (KRAS/NRAS) frente a BRAF en relación a la supervivencia/letalidad.

	<b>Supervivientes</b>	<b>Fallecidos</b>
<b>KRAS/NRAS mutado</b>	5 (21'74%)	13 (56'52%)
<b>BRAF mutado</b>	3 (13'04%)	2 (8'7%)

Prueba exacta de Fisher p=0'2076

**Tabla 8.** Concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a sus metástasis: vía RAS (KRAS/NRAS) mutada.

	<b>KRAS/NRAS mutado en metástasis</b>	<b>KRAS/NRAS nativo en metástasis</b>
<b>KRAS/NRAS mutado en tumor primario</b>	7 (63'64%)	1 (9'09%)
<b>KRAS/NRAS nativo en tumor primario</b>	3 (27'27%)	0 (0%)

Prueba exacta de Fisher p=0'7273

**Tabla 9.** Concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a sus metástasis: KRAS mutado.

	<b>KRAS mutado en metástasis</b>	<b>KRAS nativo en metástasis</b>
<b>KRAS mutado en tumor primario</b>	7 (63'64%)	0 (0%)
<b>KRAS nativo en tumor primario</b>	0 (0%)	4 (36'36%)

Prueba exacta de Fisher p=0'003

**Tabla 10.** Concordancia del estado mutacional presente en el tumor primario frente a sus metástasis: BRAF mutado.

	<b>BRAF mutado en metástasis</b>	<b>BRAF nativo en metástasis</b>
<b>BRAF mutado en tumor primario</b>	0 (0%)	2 (18'18%)
<b>BRAF nativo en tumor primario</b>	2 (18'18%)	7 (63'64%)

Prueba exacta de Fisher p=0'6545