

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE GRANADA

*PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA Y SALUD
PÚBLICA*

*ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS
IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE LA VITAMINA D Y LA
SUPERVIVENCIA DE CÁNCER COLORECTAL*

M^a del Carmen Pérez Durán

Directores de tesis

Dra. Cristina Pérez Ramírez

Dr. Jesús María Villar del Moral

octubre de 2024

**ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS
IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE LA VITAMINA D Y LA
SUPERVIVENCIA DE CÁNCER COLORECTAL**

Programa de Medicina Clínica y Salud Pública

Autora:

Carmen Pérez Durán

Dirección de Tesis:

Dra. Cristina Pérez Ramírez

Dr. Jesús María Villar del Moral

Granada 2024

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Carmen Pérez Durán
ISBN: 978-84-1195-680-2
URI: <https://hdl.handle.net/10481/102196>

Agradecimientos

Desde que empecé a estudiar en la Facultad de Medicina de Granada, mi mayor ilusión siempre fue obtener el título de Doctor, al igual que lo hizo mi padre. Hoy, 20 años después, estoy a punto de conseguirlo y quiero agradecer sincera y cariñosamente a todas las personas que lo han hecho posible. Si me dejo alguna, espero que me perdone y comprenda los nervios y la emoción del momento de escribir estas líneas.

A mis padres: sin su ejemplo y ayuda constante nada de esto habría sido posible. Gracias por hacerme la persona que soy.

A Carlos: mi marido y compañero de vida, mi “ayuda adecuada”, me has dado apoyo y consuelo en los momentos difíciles. Gracias a ti he roto muchas barreras mentales que me lastraban. Sin tu ayuda, hoy no estaría aquí.

A mis hijos Carmen y Carlos, sois la alegría de mi vida y el motor que me impulsa a ser mejor persona, perdón por todos los momentos que os he robado para dedicarlos al trabajo pero todo lo hago por vosotros.

A mis hermanas María y María José, a mi tía Alicia, María Encarna y Laura, a mis tíos, primos y demás familia que ha estado siempre a mi lado.

A Mónica Maldonado por cuidar de mis hijos como si fueran suyos.

A mi directora y co-director de Tesis: Cristina Ramírez y Jesús Villar y a mi tutora María José Faus, por su respaldo en todo momento y por estar siempre dispuestos a asesorarme en las decisiones importantes.

A Kike, Alberto, M^a del Mar y a Chema Gálvez por su ayuda en los inicios de la tesis.

A mi “Cohorte” Manuel Luis y Alejandro, por los buenos momentos que hemos pasado en el Hospital y la sabiduría compartida en el despacho. A mis compañeras de guardia: Mireia, Andrea y Ana por hacer amenas las largas noches de trabajo. A mis compañeros de la Unidad de Coloproctología: Tomás, Paco, Inma, Raquel, José Luis y Alberto por ser los mejores compañeros que se puede tener y hacer que vaya contenta a trabajar cada mañana y al resto de mis

compañeros de Cirugía General del Hospital Virgen de las Nieves, nunca me he arrepentido de elegir nuestro Hospital y ha sido por vosotros.

Al Illmo. Decano de la Facultad de Farmacia de Granada, Manuel Sánchez Polo, a Dori, a Ana Moreno y Fernando Martínez.

A Noelia Márquez, Yasmín Cura, Susana Rojo, Laura Pineda y María del Carmen Ramírez por vuestra ayuda y contribución en la publicación del artículo.

A todo el equipo de médicos y farmacéuticos que colaboraron en el trabajo que ha hecho posible esta tesis. Al laboratorio de Farmacogenética del Virgen de las Nieves y al Biobanco de nuestro Sistema Público Andaluz de Salud.

A mis amigas del colegio, mis amigos de la Facultad y amigos de la SAFA.

A Juani Reche por ser una persona inspiradora y estar siempre dispuesta a ayudar.

Muchas gracias a todos.

Seguro que habrá alguna persona que cuando lea estos agradecimientos, se sienta que no está representada o que no he pensado en ella. Sin embargo, en mi defensa diré que en un folio no caben los sentimientos que tengo ahora mismo y que a todo el mundo que quiero, lo llevo en el corazón.

[ABREVIATURAS]

ABREVIATURA	DESCRIPCIÓN
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
ARNm	ARN mensajero
BAG1	<i>BCL2 Associated Athanogene 1</i>
BAK1	<i>BCL2 Antagonist/Killer 1</i>
BAX2	<i>BCL2-Associated X Protein</i>
BCL2	<i>B-Cell Lymphoma</i>
BIRC5	<i>Baculoviral IAP Repeat Containing 5</i>
CCR	Cáncer colorrectal
CDH	Cadherina
CDK	Quinasas dependientes de ciclinas (Cyclin-Dependent Kinases)
CDKN1A	Inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A (<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A</i>)
CDKN1B	Inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1B (<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1B</i>)
CIMP	Fenotipo metilador de islas CpG (<i>CpG island methylator phenotype</i>)
CIN	Inestabilidad cromosómica (<i>Chromosomal INstability</i>)
COX-2	Ciclooxigenasa 2
DCC	<i>Deleted Colorectal Cancer</i>
EGF	Factor de crecimiento epidérmico (<i>Epidermal Growth Factor</i>)
EII	<i>Enfermedad inflamatoria intestinal</i>
GADD45a	Gen 45a de <i>detención del crecimiento</i> e inducible por <i>daño</i> del ADN
GLUT-1	Transportador de glucosa 1
HIF-1a	Factor inducible por hipoxia (<i>Hypoxia Inducible Factor 1</i>)
IGF-2	Factor de crecimiento similar a la insulina 2 (<i>Insulin-like Growth Factor 2</i>)
MRD-1	Proteína de resistencia a múltiples fármacos
MMR	Sistema de reparación <i>Mismatch Repair</i>
MSI	Inestabilidad por microsatélites (<i>Microsatellite INstability</i>)
NF-κB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras κ de las células B activadas
PAF	Poliposis adenomatosa familiar
RXR	Receptor asociado a retinoide X (<i>Retinoid X Receptor</i>)
SNP	Polimorfismo de nucleótido único (<i>Single-Nucleotide Polymorphism</i>)
nsSNP	Polimorfismos de nucleótido único no sinónimos
sSNP	Polimorfismos de nucleótido único sinónimos
STRP	Polimorfismo de repetición en tándem (<i>Short Tandem-Repetition Polymorphism</i>)
TGF-β ₁	Factor de crecimiento transformante β ₁
TSP-1	Trombospondina 1
UICC	<i>Union for International Cancer Control</i>
VDBP	Proteína de union a vitamina D (<i>Vitamin D-Binding Protein</i>)
VDR	Receptor de vitamina D

VDRE	Elementos de respuesta a la vitamina D
-------------	--

Capítulo 1: Resumen

Capítulo 2: Antecedentes

Capítulo 3: Justificación e Hipótesis

Capítulo 4: Objetivos

Capítulo 5: Metodología

Capítulo 6: Resultados

Capítulo 7: Discusión

Capítulo 8: Conclusiones

Capítulo 9: Referencias Bibliográficas

Capítulo 10: Figuras y tablas

Capítulo 11: Producción científica

Capítulo 1: Resumen

Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es un tumor maligno que se origina en el colon o en el recto. En la práctica clínica, el cáncer de ambas localizaciones se engloba en el término CCR.

En España, el CCR es el cáncer más frecuentemente diagnosticado (14% del total-37.172 casos detectados en el 2018), seguido del cáncer de mama (12%), próstata (12%) y pulmón (10%). Con respecto a mortalidad, el primero en ambos sexos es el cáncer de pulmón, con 22.481 defunciones al año (20% de las defunciones por cáncer), el segundo es el CCR con 15.656 defunciones al año (14% de las defunciones por cáncer). El principal factor de riesgo para el CCR es la edad, ya que el 90% de los casos diagnosticados lo son en personas mayores de 50 años. Otros factores de riesgo modificables, y sobre los que se debe trabajar con la población, son el sobrepeso y obesidad, el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol, la inactividad física y ciertos tipos de alimentos como la carne procesada. Múltiples trabajos de investigación, muchos de ellos recientes, han demostrado una fuerte asociación entre los niveles sanguíneos de vitamina D y el riesgo de desarrollar CCR. Por tanto queda saber si estos polimorfismos afectan también a la supervivencia.

El receptor de la Vitamina D (VDR) regula la mayoría de las acciones biológicas del metabolito activo de la vitamina D, el $1\alpha, 25$ -dihidroxitamina D $3 (1,25 (OH) 2 D 3)$. El VDR está altamente expresado en el intestino delgado y colon, y tiene acciones reguladores en la proliferación y diferenciación celular.

La vitamina D producida a partir de 7-dehidrocolesterol tras la exposición solar o por ingesta directa a través de la dieta. Posteriormente, se activa por 25-hidroxilazas (CYP2R1 y CYP27A1), convirtiéndola en $25(OH)D$, principal forma circulante; a continuación, 1α -hidroxilasa (CYP27B1) la convierte en $1,25$ -dihidroxitamina D [$1,25(OH)2D3$] ya sea en el riñón (donde se libera en la circulación) o en órganos diana específicos⁶. La $1,25(OH)2D3$ circulante es degradada por CYP24A1 a ácido calcitroico y otros productos hidrosolubles que son inactivos y se excretan en la bilis u orina. Los dos metabolitos de la vitamina D se unen a la proteína de unión a la vitamina D, también conocida como

componente específico de grupo (GC), lo cual facilita su transporte⁶. En los tejidos diana, la 1,25 (OH)₂D₃ *interactúa con VDR y se une al receptor retinoide X (RXR), formando un complejo heterodímero que es translocado al núcleo uniéndose a los elementos de respuesta VDR*, en múltiples loci genómicos, algunos de los cuales se sabe que poseen propiedades anticancerígenas.

La vitamina D ha demostrado tener un efecto inhibitor sobre la angiogénesis, provoca la detención del ciclo celular G₀/G₁, induce la apoptosis, aumenta la diferenciación celular e inhibe varias vías de señalización en la célula tumoral. Se estima que la vitamina D contribuye a la expresión del 3-5% de los genes, incluidos muchos relacionados con el cáncer⁸. La deficiencia de vitamina D puede afectar el desarrollo de enfermedades como diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares, enfermedades autoinmunes y neoplasias. *Estas características indican que la vitamina D puede usarse como un posible agente quimiopreventivo para tratar trastornos hiperproliferativos y prevenir el desarrollo de cáncer y aumentar la supervivencia.*

En cuanto a los factores genéticos, se han descrito polimorfismos de nucleótido único (del inglés Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) en genes implicados en el metabolismo de la vitamina D que pueden afectar sustancialmente los niveles séricos de vitamina D o modificar su funcionalidad. Siendo las más estudiadas SNPs ubicados en las regiones codificadoras y promotoras de proteínas⁹, rs10741657 ubicado en la región promotora del gen CYP2R1; CYP27B1 rs10877012 promotor, C> A; CYP24A1 rs6068816 y rs4809957, GC/VDBP rs70419 y en el gen VDR FokI rs10735810, ubicado en la región codificante, que da como resultado una forma de proteína polimórfica más corta por los tres primeros aminoácidos; VDR Cdx2 rs11568820, exón 1, +1270 G> A) está localizado en la región promotora y altera significativamente su actividad transcripcional; VDR BsmI rs1544410, VDR ApaI rs7975232 y VDR TaqI rs731236, estos SNP se encuentran en la región 3' sin traducir y son responsables de la estabilidad del ARNm, lo que puede influir en la expresión o actividad de VDR.

HIPOTESIS

Varios estudios han sugerido que los polimorfismos de nucleótido único (SNP) relacionados con el metabolismo de la vitamina D pueden afectar la carcinogénesis y la supervivencia del CCR.

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de 13 SNPs implicados en la vía metabólica de la vitamina D en la supervivencia del CCR. Se realizó un estudio observacional retrospectivo de cohortes, que incluyó a 127 pacientes caucásicos con CCR del sur de España. Los SNP en los genes *VDR*, *CYP27B1*, *CYP2R1*, *CYP24A1* y *GC* se analizaron mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Se evaluaron la supervivencia libre de progresión (SLP) y la supervivencia global (SG).

Objetivo general

Identificar la influencia de los polimorfismos genéticos en la ruta metabólica de la vitamina D y posterior afectación en la supervivencia de CCR.

Objetivos específicos

- *Determinar los polimorfismos rs10877012 (CYP27B1), rs6068816 y rs4809957 (CYP24A1), rs10741657 (CYP2R1) y rs7041 (GC) en casos y controles.*
- *Determinar los polimorfismos en los genes del receptor VDR (BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232), FokI (rs2228570) y Cdx2 (rs11568820)) en casos y controles.*
- *Analizar la asociación entre las variables genéticas de la ruta metabólica de la vitamina D y el desarrollo de CCR.*
- *Analizar la asociación entre las variables genéticas de la ruta metabólica de la vitamina D y la supervivencia de CCR.*

MATERIAL Y MÉTODOS

El análisis de regresión de Cox ajustado por metástasis, edad de diagnóstico, estadio (IIIB, IV o IVB), puntuación ECOG (2-4), compromiso de los ganglios linfáticos, quimioterapia adyuvante y sin antecedentes familiares de CCR mostró que el *VDR* ApaI ($p = 0,036$), *CYP24A1* rs6068816 ($p < 0,001$) y *GC* rs7041 ($p =$

0,006) se asociaron con SG en pacientes diagnosticados con CCR, y *CYP24A1* rs6068816 ($p < 0,001$) se asoció con SLP ajustada por metástasis, edad del diagnóstico, estadio (IIIB, IV o IVB), puntuación ECOG (2–4), compromiso de los ganglios linfáticos, quimioterapia adyuvante y ninguna resección tumoral primaria. El resto de los SNP no mostraron asociación con la supervivencia del CCR.

RESULTADOS

La mediana de la OS fue mayor en pacientes con antecedentes familiares de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.020$, 134.5 vs. 62.1 meses), con menor edad de diagnóstico del CCR ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$) y score ECOG de 0-1 ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 114.9 vs. 36.3 meses), sin metástasis ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$, 134.5 vs. 56.2 meses), con estadio I, II, IIIA ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$, 134.5 vs. 52.1 meses), menor número de ganglios afectados ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 108.5 meses para 1-3 vs. 30.6 meses para >4) y con quimioterapia adyuvante de fluoropirimidinas y oxaliplatino ($P_{\log\text{-rank}} = 0.002$, 134.5 vs. 52.1 meses para fluoropirimidinas + biológico, 41.9 meses para fluoropirimidinas y 30.2 meses sin quimioterapia adyuvante).

Se encontró mayor valor de PFS en pacientes con menor edad de diagnóstico de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$), score ECOG 0-1 ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 105.8 vs. 18.6 meses; Tabla S2), sin afectación ganglionar ($P_{\log\text{-rank}} = 0.020$, NR vs. 41 meses), con ausencia de metástasis ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 125.9 vs. 19.8 meses;), en estadios I, II, IIIA ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 125 vs. 35 meses), menor número de ganglios afectados ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 63.3 meses para 1-3 vs. 18.6 meses para >4), con tumor primario resecado mediante cirugía ($P_{\log\text{-rank}} = 0.008$, 105.2 vs. 14.1 meses) y con quimioterapia adyuvante de fluoropirimidinas y oxaliplatino ($P_{\log\text{-rank}} = < 0.001$, 35.36 vs. 7.53 meses para fluoropirimidinas, 5.62 meses para fluoropirimidinas + biológico y 0.49 meses sin quimioterapia adyuvante). Además, se encontró una tendencia a la asociación entre una mayor mediana de PFS y tener antecedentes de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.080$, 125.9 vs. 55.1 meses para los sujetos sin antecedentes de CCR), así como, con un menor valor de grado histológico ($P_{\log\text{-rank}} = 0.060$).

CONCLUSIONES

Los polimorfismos *VDR* rs731236 (TaqI), *VDR* rs7975232 (ApaI), así como, *GC* rs7041 y *CYP24A1* rs6068816 podrían ser un factor de riesgo atribuible a una menor OS y PFS en pacientes caucásicos diagnosticados de CCR. Además, los pacientes portadores del SNP *VDR* rs2228570 (FokI) podrían presentar una menor PFS. No encontramos relación entre los SNPs *CYP2R1* rs10741657, *CYP27B1* rs10877012, *CYP27B1* rs4646536, *CYP27B1* rs3782130, *CYP27B1* rs703842, *CYP24A1* rs4809957, *VDR* rs1544410 (BsmI) y *VDR* rs11568820 (Cdx2)

Capítulo 2: Antecedentes

1. Cáncer colorrectal

1.1. Epidemiología

El cáncer colorrectal (CCR) supone un **importante problema de salud pública** dada su incidencia y mortalidad. Constituye uno de los cánceres **más frecuentes en todo el mundo**, con **aproximadamente 1,9 millones de nuevos casos diagnosticados en 2020**, lo que convierte al CCR en el **tercer cáncer más frecuente** y en la **segunda causa de muerte relacionada con el cáncer**, con más de 935.000 muertes al año (1,2).

La epidemiología del CCR **varía significativamente entre las diferentes regiones** del mundo, así como entre **diferentes grupos de edad, género y raza**. Son múltiples los factores que están involucrados en esta variación, incluida la **exposición a factores de riesgo** y las **variaciones demográficas**, además de la susceptibilidad genética al CCR y su efecto sobre el pronóstico y la respuesta al tratamiento (3).

En **Europa**, el CCR es el **segundo tumor con más incidencia** después del de mama **en mujeres** y el **tercero** después del de próstata y pulmón en **hombres**. Así, es el **tercero en mortalidad en el caso de las mujeres**, por detrás de los cánceres de mama y pulmón, y el **segundo en el caso de los hombres**, superado únicamente por el cáncer de pulmón (4).

En **España**, el último documento oficial “Las cifras del cáncer en España”, recoge un estimado de **43.370 nuevos casos diagnosticados de CCR para 2022**, de los cuales, aproximadamente, 26.862 ocurrirán en hombres y 16.508 en mujeres, y con una tasa de supervivencia a los 5 años superior al 50% para ambos sexos.

En cuanto a la mortalidad, el CCR **es uno de los que causó un mayor número de fallecimientos** en 2022, junto a los cánceres del árbol respiratorio (tráquea, bronquios y pulmón), páncreas, mama (en mujeres) y próstata (en hombres) (1).

1.2. Fisiopatología, clasificación y etiología

El CCR consiste en el **crecimiento descontrolado de células malignas en el colon y el recto**, con capacidad para invadir otros tejidos y crear metástasis (5). A estos cánceres también se les suele llamar cáncer de colon o cáncer de recto, dependiendo del lugar donde se originan; sin embargo, y dado que presentan muchas características comunes, a menudo se agrupan bajo el concepto de CCR.

Anatómicamente, se pueden **identificar varias partes en el colon**: colon derecho o ascendente, colon transverso, colon izquierdo o descendente y colon sigmoide. El recto, a su vez, se subdivide en los tercios superior, medio e inferior (6). Desde hace más de tres décadas, se categoriza al CCR **según la localización del tumor**: proximal o distal al ángulo esplénico del colon (7). Más recientemente, se ha asumido que el concepto de CCR abarca tres segmentos claramente definidos, incluyendo a los cánceres de **colon proximal** y **colon distal** y al **cáncer de recto**, cada uno con unas características definidas y predominio diferente en cuanto a la vía molecular involucrada (8) (Figura 1).

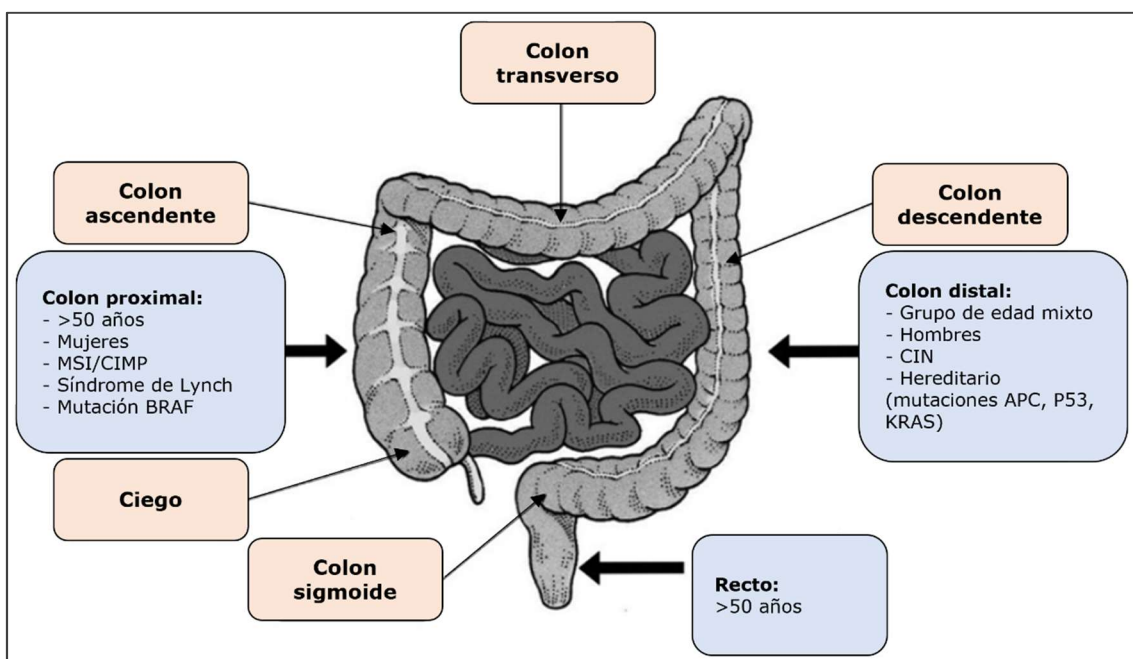
Los tumores malignos colorrectales pueden originarse en **cada una de las tres capas** que conforman el intestino grueso: mucosa, muscular y serosa (6). El adenocarcinoma, procedente del tejido glandular, es el **tipo histológico más frecuente** (90-95%), seguido del adenocarcinoma coloide o mucinoso (5-10%).

Otros tipos, como el carcinoma epidermioide, los tumores carcinoides, los sarcomas, los melanomas o los linfomas son menos frecuentes (6).

Las **mutaciones en genes específicos** pueden conducir a la aparición de CCR, como sucede con otros tipos de cáncer. Tales mutaciones pueden aparecer en **oncogenes, genes supresores de tumores y genes relacionados con los mecanismos de reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN)** (9). El origen de estas mutaciones permite clasificar el CCR entre *hereditario, adquirido o esporádico, o debido a antecedentes familiares* (9):

- ✓ El **CCR hereditario** representa en torno al 5% de todos los casos de CCR, existiendo una **correlación directa con una serie de alteraciones genéticas hereditarias concretas**, que se agrupan en diferentes síndromes de CCR hereditario, entre los que se incluyen el **síndrome de Lynch** y la **poliposis adenomatosa familiar (PAF)**.

Figura 1. Subtipos anatómicos de CCR y su asociación con las características moleculares del tumor y otros factores



Abreviaturas: CCR: cáncer colorrectal; CIMP: Fenotipo metilador de islas CpG (*CpG island methylator phenotype*); CIN: inestabilidad cromosómica (*Chromosomal INstability*); MSI: Inestabilidad por microsatélites (*MicroSatellite INstability*). **Fuente:** Ahmad et al. (2021).

- ✓ En el **CCR familiar**, que supone **en torno al 25% de los casos** de CCR, el componente hereditario no está tan claro, aunque probablemente exista una predisposición genética en combinación con interacciones con el entorno.
- ✓ **El CCR adquirido o esporádico** constituye la mayoría de los casos de CRR, aproximadamente el **70% de ellos**, y es atribuido a mutaciones puntuales que aparecen durante la vida, no estando asociadas con síndromes hereditarios.

Como se puede ver, la gran mayoría corresponde al tipo esporádico, lo que implica la **interacción de múltiples factores ambientales** (dieta, actividad física, entre otros) **y genéticos**, debido a la ganancia de mutaciones somáticas y polimorfismos en genes de baja penetrancia. En cualquiera de los casos, la progresión de la enfermedad mediante diferentes vías de carcinogénesis colorrectal se acompaña de **alteraciones en genes importantes** en el control del ciclo celular y en **otras vías de señalización** (9).

1.2.1. Vías moleculares que conducen a la carcinogénesis colorrectal

Secuencia adenoma-carcinoma

El CCR resulta de **la acumulación progresiva de alteraciones genéticas y epigenéticas** que llevan a la **transformación del epitelio colónico normal a adenocarcinoma**. En la mayoría de los casos, esta transformación se produce lentamente a lo largo de los años y de forma escalonada en lo que se conoce

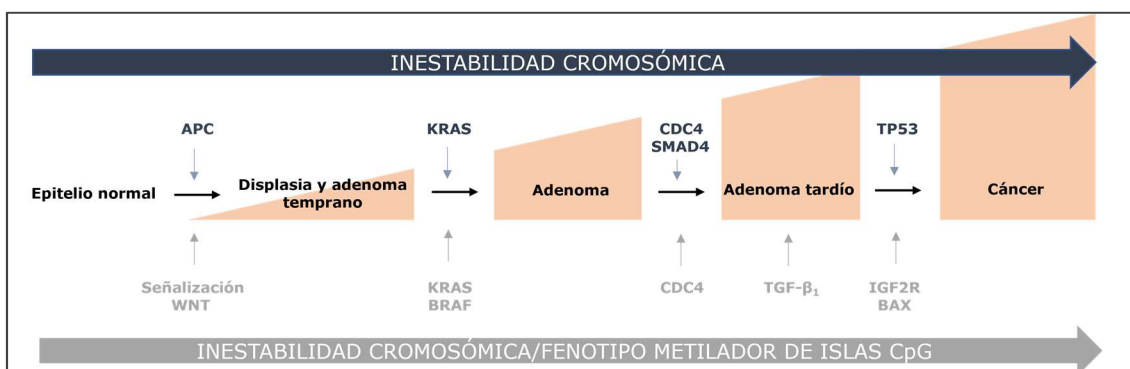
como secuencia *adenoma-carcinoma*, propuesta por Volgenstein *et al.* en 1988 (10).

La mayor parte de los casos de CCR se desarrollan **a partir de pólipos precancerosos**, denominados adenomas tubulares tradicionales o pólipos serrados, cada uno de los cuales está asociado con diferentes riesgos (11), y que evolucionan a cáncer cuando se alteran los mecanismos normales que regulan la reparación del ADN y la proliferación celular (12). A medida que estas **células precancerosas avanzan hacia la luz del colon**, el proceso de apoptosis se interrumpe y se forman adenomas discretos. Con el tiempo, los pólipos adenomatosos **aumentan de tamaño, desarrollan características cada vez más displásicas** y, eventualmente, **pueden adquirir potencial invasivo** (12).

Hay dos vías genéticas principales que conducen al desarrollo de CCR, la **vía supresora o de inestabilidad cromosómica** (CIN, del inglés *Chromosomal INstability*) y la vía de **inestabilidad de microsatélites** (MSI, del inglés *MicroSatellite INstability*) (11–13). No obstante, también se ha descrito una tercera, conocida como vía serrada, y que involucra al **fenotipo metilador de islas CpG** (CIMP, del inglés *CpG island methylator phenotype*) en un subconjunto de pacientes con CCR (11–13) (

Figura 2).

Figura 2. Secuencia adenoma-carcinoma y vías moleculares involucradas en el CCR



Abreviaturas: APC: gen APC (Adenomatous polyposis coli); BAX: proteína BAX (*BCL2-Associated X Protein*); CCR: cáncer colorrectal; CpG: dinucleótido de citosina/guanina unido por enlaces fosfodiéster; DCC: *Deleted in Colorectal Cancer*; IGF-2R: receptor del factor de crecimiento similar a la insulina de tipo 2; KRAS: gen KRAS (*Kirsten rat sarcoma viral*); p53: gen supresor de tumores p53; TGF- β 2R: receptor del factor de crecimiento transformante β 2 SMAD: proteínas SMAD; WNT: vía de señalización WNT/ β -catenina.

Fuente: Adaptado de Ahmad et al. (2021)

Carcinogénesis supresora o asociada a inestabilidad cromosómica

Esta primera vía de carcinogénesis es la más común, observándose entre el 65-85% de las neoplasias colorrectales (12–14). La CIN contribuye a la tumorigénesis del CCR a través de la acumulación de mutaciones con pérdida de función en oncogenes específicos, incluidos los **oncogenes supresores de tumores como APC** (Adenomatous Polyposis Coli) **y en otras proteínas reguladoras como KRAS** (12–14). Además, la gran mayoría de tumores colorrectales poseen mutaciones en alguno de los componentes de la ruta de señalización del **factor de crecimiento transformante β 1** (TGF- β 1) y del **factor de crecimiento similar a la insulina de tipo 2** (IGF-2, del inglés *Insulin-like Growth Factor 2*) (12,14).

En la neoplasia colorrectal existe, además, una **gran frecuencia de pérdidas alélicas** (LOS, *Loss Of Heterozygosity*) que normalmente contienen genes supresores tumorales. La pérdida de una gran porción del **cromosoma 17p**, que contiene el **gen supresor tumoral p53** (también llamado, *guardián del genoma*) se ha descrito en el 75% de los carcinomas colorrectales. Otra pérdida alélica muy común es la del **cromosoma 18q**, que ocurre en un 70% de los CCR, y en la que se han mapeado genes supresores como **DCC**, **SMAD2** y **SMAD4** (12,15).

Carcinogénesis a través de la inestabilidad de microsatélites

A diferencia de la vía CIN, caracterizada por una **alta frecuencia de alteraciones del número de copias genómicas**, los tumores colorrectales

también pueden desarrollarse a través de **vías hipermutables**, caracterizadas por mutaciones frecuentes de pares de bases de ADN somático. Aproximadamente un **15% de los casos de CCR esporádico y casi todos los tumores colorrectales** que se desarrollan en pacientes con síndrome de Lynch se caracterizan por la desactivación de alguno de los genes involucrados en el **sistema de reparación Mismatch Repair** (MMR) del ADN (MSH2, MLH1, MSH6 o PMS2), lo que da lugar a una inestabilidad de microsatélites, que favorece la progresión del cáncer (16).

Carcinogénesis a través del fenotipo metilador de islas CpG

Las islas CpG constituyen **grupos de dinucleótidos de citosina y guanina unidos por un enlace fosfodiéster** que están particularmente enriquecidos en las regiones promotoras de los genes. La hipermetilación de éstas **anula su transcripción**, provocando el **silenciamiento génico y la posterior formación de tumores** (12).

El CIMP contribuye aproximadamente al **30-35% de los casos de adenomas colorrectales**, ocurriendo en una etapa temprana y como precursor de la vía serrada, lo que, seguido de otras mutaciones adicionales en BAX e IGF-2, entre otros, contribuye al **desarrollo de la displasia y a la transformación celular** (15).

Los estudios sugieren que la vía serrada es responsable del **rápido desarrollo del CCR** (15) y puede utilizarse para **predecir la supervivencia en los pacientes** afectados (17).

1.3. Pronóstico y factores de riesgo

Actualmente, el CCR está **considerado como uno de los cánceres con peor pronóstico** (6), ocupando un segundo lugar en términos de mortalidad por cáncer, y siendo el responsable del **9,4% del total de fallecimientos por cáncer en 2020 en el mundo** (2).

El sistema de clasificación TNM, diseñado por el Union for International Cancer Control (UICC) (18), se considera el parámetro pronóstico más sólido para estratificar a los pacientes con CCR (19). El sistema TNM describe la profundidad de la invasión tumoral a lo largo de la pared del colon (T), el número de ganglios linfáticos afectados (N) y la presencia de metástasis (M) (18) (Tabla 1).

Aunque cualquier persona puede desarrollar CCR, son varios los factores que se han asociado con un mayor riesgo de contraer la enfermedad (Tabla 2).

Algunos factores son **modificables**, como la **dieta**, el **sobrepeso**, la **obesidad**, el **sedentarismo**, el **consumo de tabaco** y el **consumo de alcohol de moderado a intenso**. Además, una **mayor ingesta de fibra dietética y verduras, cereales, pescado y productos frescos** protege frente al desarrollo de CCR, mientras que el consumo de carnes rojas y procesados se ha asociado con un incremento del riesgo de desarrollar la enfermedad (20–22).

Otros factores de riesgo **no son modificables**, como los **antecedentes personales o familiares de pólipos colorectales o CCR**, condiciones hereditarias como el **síndrome de Lynch** y la **PAF**, **antecedentes personales de enfermedad inflamatoria intestinal (EII)**, **antecedentes raciales étnicos** y la presencia de **diabetes mellitus de tipo 2**. La probabilidad de desarrollar CCR aumenta notablemente después de los 50 años, con el 90 % de los casos nuevos y el 94 % de las muertes asociadas con el CCR que ocurren en personas ≥ 50 años. También es mayor en el sexo masculino (11,20–22).

Tabla 1. Diferentes grupos pronósticos en la estadificación del CCR basados en el sistema de clasificación TNM

Estadio	Definición
0	Tumor no invasivo (células anormales localizadas) que se encuentra solo en el epitelio o la lámina propia, que son las capas superiores que recubren el revestimiento interno del colon o recto (<i>in situ</i>) (TisN0M0)
I	Invasión de las capas mucosa (T1) o muscular (T2)
IIA	Invasión a través de la capa muscular (T3)
IIB	Invasión del peritoneo visceral (T4a)
IIC	Invasión de otros órganos o estructuras (T4b)
IIIA	- Tumor T1 o T2 con presencia de metástasis en 1-3 ganglios linfáticos regionales (N1) - Tumor T1 con presencia de metástasis en 4-6 ganglios linfáticos regionales (N2a)
IIIB	- Tumor T1 o T2 con presencia de metástasis en 7 o más ganglios linfáticos regionales (N2b) - Tumor T2 o T3 con presencia de metástasis N2a - Tumor T3 o T4 con presencia de metástasis N1
IIIC	- Tumor T3 o T4a con presencia de metástasis N2b - Tumor T4a con presencia de metástasis N2a - Tumor T4b con presencia de metástasis N1 o N2
IVA	Presencia de metástasis en un órgano sin metástasis peritoneal
IVB	Presencia de metástasis en más de un órgano
IVC	Presencia de metástasis en el peritoneo con o sin otros órganos afectados

Abreviaturas: CCR: cáncer colorrectal. **Fuente:** Union for International Cancer Control (UICC) (18).

Tabla 2. Resumen de los factores de riesgo en el CCR

Factores		Riesgo
Modificables	Hábitos de vida:	
	Sobrepeso u obesidad	↑
	Actividad física	↓
	Tabaquismo	↑
	Consumo excesivo de alcohol	↑
	Hábitos alimenticios:	
	Alto consumo de carnes rojas y procesados	↑
	Frutas y vegetales	(↓)
	Cereales y fibra	(↓)
	Pescado	(↓)
	Productos frescos	(↓)
No modificables	Edad	↑↑↑
	Sexo masculino	↑↑
	Historia familiar	↑↑
	Enfermedad inflamatoria intestinal	↑↑
	Diabetes mellitus	↑
No bien definidos	Turno de trabajo nocturno	ND
	Tratamiento previo de ciertos cánceres	ND

Nota: ↑↑↑: aumento muy fuerte del riesgo; ↑↑: aumento fuerte del riesgo; ↑: aumento moderado del riesgo; ↓: reducción moderada del riesgo. **Abreviaturas:** ND: no definido. **Fuente:** American Cancer Society (2020); Brenner et al. (2014); Sninsky et al. (2022) (20–22)

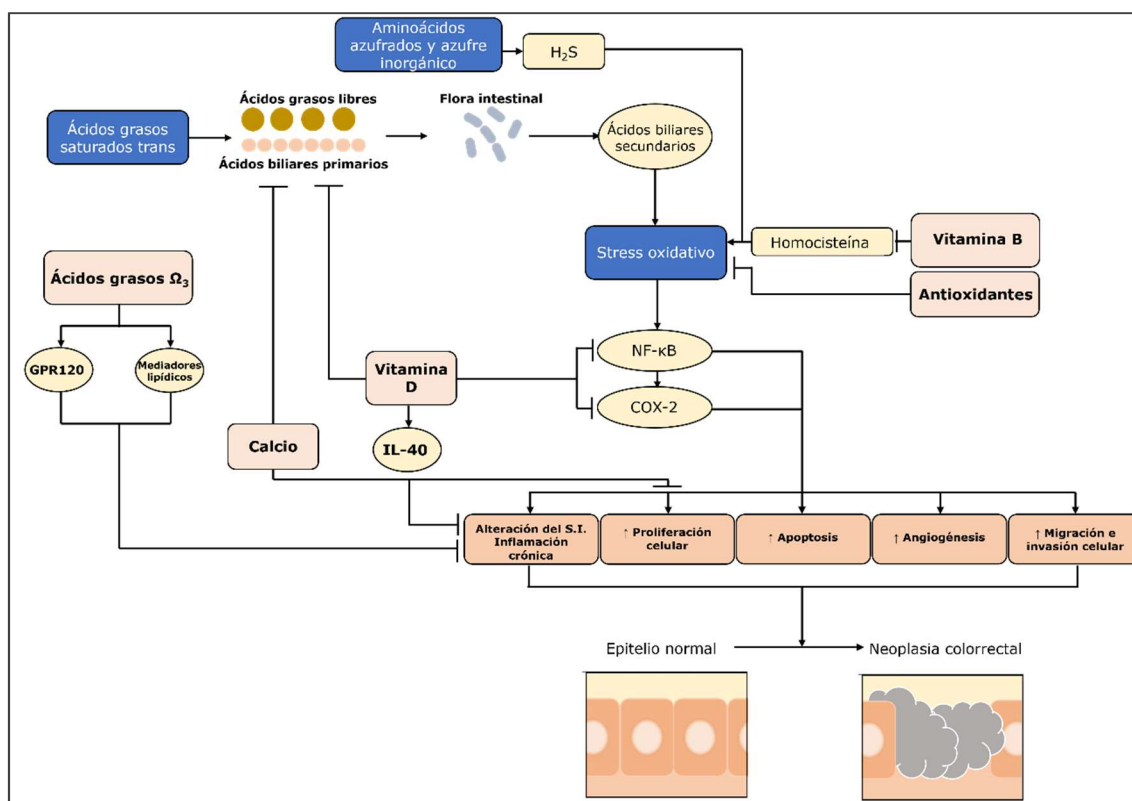
1.3.1. Papel de la dieta y la vitamina D

La dieta tiene un **papel importante en el desarrollo del CCR** (23) (Figura 3). Por un lado, el **consumo de grasas saturadas *trans*** aumenta los niveles de ácidos grasos libres y de ácidos biliares primarios, que son metabolizados por la flora intestinal produciendo ácidos biliares secundarios; éstos, a su vez, pueden **promover la carcinogénesis colorrectal a través del incremento de los efectores proinflamatorios y del estrés oxidativo mediado por la participación de las vías del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras κ de las células B activadas (NF- κ B) y la ciclooxigenasa 2 (COX-2)**. Por otro, los **aminoácidos azufrados y el azufre inorgánico** también son metabolizados por la flora intestinal, produciendo sulfuro de hidrógeno (S_2H), que puede ser tóxico para la mucosa colorrectal e **inducir estrés oxidativo** (23).

Uno de los mecanismos de defensa subyacentes a este tipo de cáncer podría involucrar a la vitamina D y sus metabolitos, pues el CCR es la **neoplasia más estrechamente relacionada con esta vitamina** (24). Actualmente, se asume que niveles plasmáticos más altos de vitamina D **están asociados con un menor riesgo de cáncer de colon y recto** (23,25). Sin embargo, y a pesar de que son numerosos los estudios que respaldan los posibles efectos quimiopreventivos de la vitamina D frente al desarrollo del CCR, la evidencia de los ensayos clínicos aleatorizados no es concluyente (26,27).

La señalización de la vitamina D a través del receptor de vitamina D (VDR) y el receptor de retinoide X (RXR, del inglés *Retinoid X Receptor*) **regula la transcripción de numerosos genes implicados en la carcinogénesis colorrectal** a través de efectos sobre la inflamación, la proliferación celular, la diferenciación epitelial, la apoptosis y la angiogénesis (23,25). También hay evidencia de **asociaciones diferenciales basadas en los polimorfismos** de la vitamina D y su implicación en el CCR (23,25).

Figura 3. Mecanismos de carcinogénesis colorrectal asociados a la dieta



Abreviaturas: Ω₃: omega-3; COX-2: ciclooxigenasa de tipo 2; GPR120: receptor 120 acoplado a proteínas G; H₂S: sulfuro de hidrógeno; IL-40: interleucina 40; NF-κB: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras κ de las células B activadas; S.I: sistema inmune. **Fuente:** Song *et al.* (2015) (23).

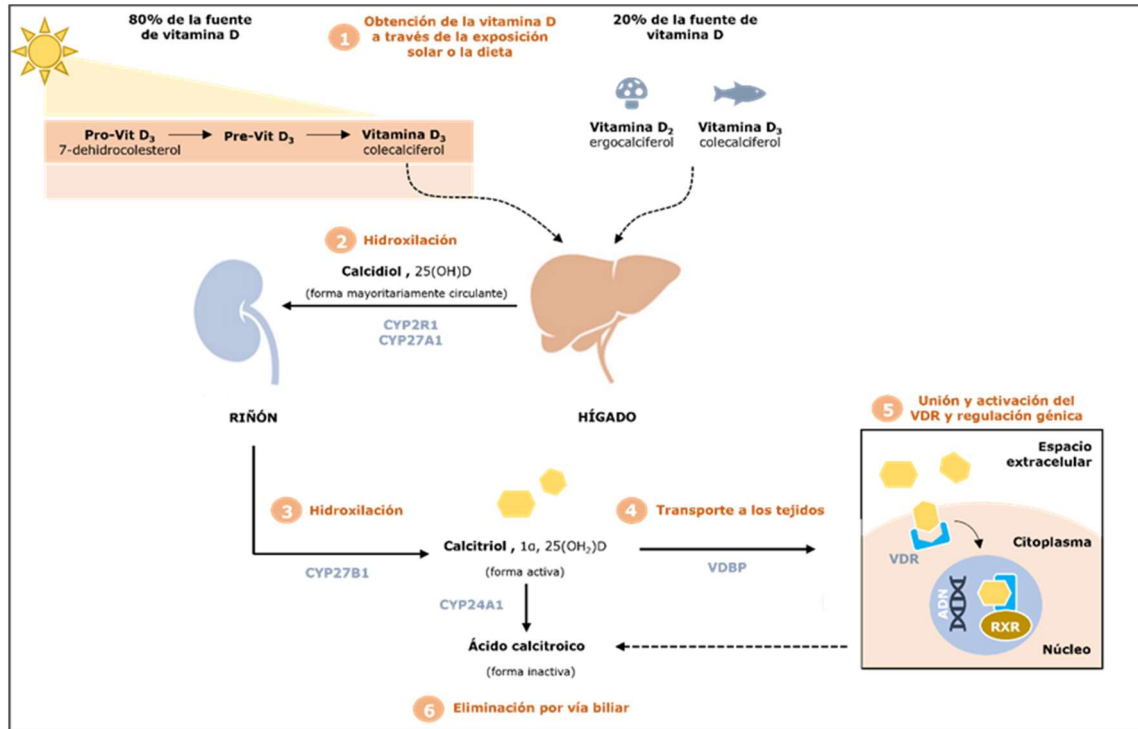
2. Vitamina D y cáncer colorrectal: evidencia molecular

2.1. Obtención y metabolismo de la vitamina D

La vitamina D pertenece a un grupo de esteroides conocidos como **secoesteroides**. En humanos, las formas más comunes de vitamina D son la **vitamina D₃ (colecalfiferol)** y la **vitamina D₂ (ergocalciferol)**, que pueden ingerirse a través de la dieta o en forma de suplementos dietéticos. Sin embargo, la vitamina D₃ también **puede ser sintetizada en cantidades adecuadas en la piel**, bajo exposición a la luz solar (Figura 4). Por lo tanto, estrictamente hablando, no se trata de una vitamina *per se*, sino que es el precursor de una **hormona esteroide que recibe el nombre de calcitriol**, también conocida

como 1,25 dihidroxivitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) (28,29), que ejerce innumerables funciones en el organismo.

Figura 4. Obtención y metabolismo de la vitamina D



Abreviaturas: 1 α , 25(OH)₂D: calcitriol; 25(OH)D: calcidiol; CYP: citocromo; VDR: receptor de vitamina D; VDBP: proteína de unión a vitamina D. **Fuente:** Adaptado de Sang-Min et al. (2018) (28).

La vitamina D obtenida de la dieta y/o sintetizada a través de la piel se activa a calcitriol mediante **dos pasos de hidroxilación mediados por el citocromo P-450** (CYP-450). El primer paso tiene lugar en el hígado, donde la vitamina D es **hidroxilada en C25 por enzimas 25-hidroxilasas** (mediadas por CYP2R1 y CYP27A1). Esta reacción metabólica produce 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) o **calcidiol**, la **forma circulante** con una vida media de aproximadamente 2 semanas, que se usa para determinar el **estado de vitamina D en el individuo**. En el segundo paso, la enzima 1 α hidroxilasa (CYP27B1) metaboliza el calcidiol en los riñones para producir la forma activa **calcitriol**, que será transportada, al igual que el resto de metabolitos de la vitamina D, por la **proteína de unión a la vitamina D** (VDBP, del inglés *Vitamin D-Binding Protein*) (28,29).

El calcitriol **ejerce sus funciones biológicas uniéndose y activando el receptor nuclear de vitamina D** (VDR, del inglés *Vitamin D Receptor*) y regulando la expresión génica. La unión de calcitriol induce un **cambio conformacional** en el VDR que permite que el receptor se dimerice con el receptor retinoide X (RXR) y que se acopla específicamente a los elementos de respuesta a la vitamina D (VDRE) en las regiones promotoras de los genes diana. El cambio conformacional de VDR también recluta coactivadores y separa correpresores para acetilar las histonas del nucleosoma y desenrollar el ADN, **permitiendo la transcripción** (28,29).

Finalmente, el calcitriol **inhibe la actividad del CYP27B1 e induce la expresión de la enzima 24-hidroxilasa** (CYP24A1), que cataboliza el calcidiol y el calcitriol en **formas biológicamente inactivas** (principalmente, ácido calcitroico), que se eliminan preferentemente por vía biliar (28,29) (Figura 4).

2.2. Metabolismo de la vitamina D en el cáncer colorrectal

La respuesta de las células cancerosas al calcitriol **no sólo depende de la expresión de VDR**, sino también de las **concentraciones intracelulares de calcitriol**, determinadas por las concentraciones circulantes de calcidiol y por la **actividad de los citocromos** que intervienen en el metabolismo de la vitamina D.

CYP2R1 & CYP27A1

Las variaciones en CYP2R1 y CYP27A1, implicados en la conversión de colecalciferol en calcidiol, se asocian con **una actividad alterada de las 25-hidroxilasas, afectando al metabolismo de la vitamina D** (30,31). Actualmente, se ha revelado la **asociación de los niveles séricos de 25(OH)D con la susceptibilidad al CCR** (32), por lo que las alteraciones genéticas que involucran a estos genes han despertado un gran interés. Por otra parte, un estudio publicado recientemente ha demostrado que **los genes CYP2R1 se**

sobreexpresan en muestras de tejido con CCR, en comparación con los tejidos sanos (33).

CYP27B1

Dada su actividad sintetizadora de calcitriol, CYP27B1 **se expresa pobremente en el colon y el recto en condiciones normales** (34). Sin embargo, su expresión es **elevada en muestras de tejido con CCR bien y moderadamente diferenciado**, mientras que en las muestras de CCR **poco diferenciado la expresión está reprimida**. Esto sugiere un posible beneficio del tratamiento con vitamina D, especialmente en tumores bien y moderadamente diferenciados, mientras que la expresión relativamente baja de CYP27B1 en CCR poco diferenciado indica un **mecanismo de resistencia de las células cancerosas a las acciones del calcitriol** (29).

Además, se ha comprobado que **la expresión del ARN mensajero (ARNm) del CYP27B1 es similar en las muestras de CCR y en las de colon sano**, pero está **disminuida en la mucosa de colon normal adyacente**, a 10 cm del borde del tumor; este hallazgo sugiere que la expresión del CYP27B1 en las células de colon adyacentes está regulada por el tumor, o que la baja expresión del CYP27B1 en el colon es un riesgo de carcinogénesis (29).

Por otra parte, se ha demostrado que las **líneas celulares de CCR de división lenta y altamente diferenciadas responden de forma dosis-dependiente** tanto al factor de crecimiento epidérmico (EGF) como al calcitriol, regulando al alza las expresiones de VDR y CYP27B1; mientras que las **líneas celulares altamente proliferativas y menos diferenciadas muestran una regulación a la baja de VDR y CYP27B1** tras el efecto del EGF o el calcitriol. Aunque faltan pruebas definitivas in vivo, la producción local de calcitriol en el colon ha sido sugerida indirectamente por estudios en humanos (29).

CYP24A1

Como principal enzima que determina la vida media biológica del calcitriol, **el CYP24A1 se encuentra en niveles bajos en la mucosa del colon humano normal**, pero en niveles elevados en la mayoría de los adenocarcinomas (35). Sun et al. descubrieron que los niveles elevados de CYP24A1 inducen una invasión tumoral más profunda, metástasis en los ganglios linfáticos y permeación venosa (36), por lo que podría considerarse como una proteína prooncogénica **estrechamente relacionada con la progresión del CCR** y como un nuevo biomarcador pronóstico para este tipo de cáncer (36,37). La inhibición de la expresión de CYP24A1 **potencia el efecto antitumoral del calcitriol** en células cultivadas con CCR (38).

VDR

Como principal receptor que media los efectos biológicos del calcitriol, el VDR está presente **en la mayoría de las células del organismo y es especialmente abundante en las células epiteliales intestinales** (39). La expresión de VDR aumenta en adenoma y en **tejidos con CCR bien o moderadamente diferenciados**, aunque disminuye en **tumores poco diferenciados** y es insignificante en ganglios linfáticos metastásicos (29). Otros estudios correlacionan la expresión de VDR con la **profundidad de la invasión y el mal pronóstico del CCR** (40).

Actualmente, se sabe que la familia SNAIL, un **grupo de represores de la transcripción** con dedos de cinc desempeña un papel importante en la transición epitelial-mesenquimatosa al inhibir el mismo componente de unión celular que la E-cadherina. Shioiri et al. sugirieron que **la expresión de SNAI2 era un factor pronóstico independiente del cáncer de colon** (41). SNAI1, con mayor afinidad por la E-cadherina y otros genes diana, está significativamente **asociada con la invasividad y la metástasis del cáncer de colon** (42). Además, la sobreexpresión de SNAI1 se asocia con **una peor supervivencia general** en pacientes con CCR y se correlaciona con la **expresión de TGF- β ₁ y el fenotipo de células cancerosas** (43).

Las expresiones de ARN de SNAI1 y SNAI2 están **reguladas al alza en los CCR humanos**, y están inversamente correlacionadas con la expresión de ARNm de VDR (29). Estos hallazgos sugieren que los altos niveles de SNAI1 y SNAI2 son una **causa probable de la desregulación del VDR** y de la falta de respuesta a la vitamina D en el CCR avanzado, y que la terapia con vitamina D puede no ser una buena opción de tratamiento para los pacientes que sobreexpresan SNAI1 y SNAI2 (29).

2.3. Acciones antitumorales de la vitamina D en el cáncer colorrectal

Numerosos estudios han demostrado que la **acción antitumoral del calcitriol** en el CCR se fundamenta en **varios mecanismos a nivel celular**, como la **inhibición de la proliferación celular**, la **sensibilización a la apoptosis**, la **inducción de la diferenciación epitelial y de los mecanismos de detoxificación celular** y la **inhibición de la angiogénesis** (29) (Figura 5).

2.3.1. Inhibición de la proliferación celular

El **efecto antiproliferativo** de la vitamina D en el CCR involucra múltiples vías. A **nivel del ciclo celular**, el calcitriol induce la **expresión de los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas** (CDK) CDKN1A (inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A [p21, Cip1]) y CDKN1B (inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1B [p27, Kip1]), que inhiben la CDK2 y la CDK6, conduciendo así a la **detención de la fase G1** (24,28,29,44). Además, promueve la **expresión del gen 45a de detención del crecimiento e inducible por daño del ADN** (GADD45a), implicado en el mantenimiento de la estabilidad genómica (24,44,28).

En cuanto a los **factores de crecimiento**, el calcitriol provoca la **activación del TGF- β ₁**, sensibilizando a las células colorrectales a los efectos inhibitorios de éste. Por otro lado, disminuye la proliferación de las células cancerosas mediante la **inhibición de la secreción del IGF-2**, cuyos niveles séricos elevados se han asociado a un mayor riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer, entre ellos el CCR (45). El calcitriol también **contrarresta el crecimiento celular estimulado por el EGF** (28,29,44).

Asimismo, el calcitriol media en la **supresión de ciertos oncogenes**. Uno de ellos es el oncogén *MYC*, sobreexpresado en la mayoría de los cánceres, y relacionado con **otras vías de señalización** como WNT- β -catenina, cuya activación, tal y como se ha mencionado anteriormente, es el acontecimiento inicial y uno de los principales contribuyentes a la progresión del CCR (24,29,44).

Por otra parte, el calcitriol **parece reducir la expresión del transportador de glucosa 1 (GLUT-1)** y **otras enzimas de la ruta de la glucosa**, inhibiendo la **glucólisis y el crecimiento celular** en las células colorrectales tumorales humanas, lo que sugiere un papel inhibitorio de la forma biológicamente activa de la vitamina D en la progresión del CCR (46).

2.3.2. Sensibilización a la apoptosis

El calcitriol induce la apoptosis en el CCR mediante la **regulación al alza de las proteínas proapoptóticas** BAK1 (*BCL2 Antagonist/Killer 1*) y BAX2 (*BCL2-Associated X Protein*) y la **regulación a la baja de las expresiones de las proteínas antiapoptóticas** BAG1 (*BCL2 Associated Athanogene 1*), BIRC5 (*Baculoviral IAP Repeat Containing 5*) y BCL2 (*B-Cell Lymphoma*) (28,29). El resultado de estas acciones es la muerte celular programada, impidiendo así el crecimiento tumoral.

2.3.3. Inducción de la diferenciación celular

El calcitriol **aumenta la expresión y/o la actividad funcional de varias enzimas** como la **fosfatasa alcalina** (que se encuentra a lo largo del borde en cepillo de la mucosa del colon, pero que se expresa escasamente en las células CCR cancerosas en proliferación) y la **maltasa**, y potencia la **formación de microvellosidades** (24,44).

Además, induce la **expresión de cadherina E** (CDH, *cadherin 1*) y **otras proteínas de adhesión**, que son esenciales para el mantenimiento del fenotipo epitelial; y de las **proteínas asociadas al citoesqueleto de actina y a los filamentos intermedios**, como la queratina 13, la vinculina y la filamina A (44).

Por otra parte, el calcitriol y sus análogos **inhiben la vía WNT/ β -catenina y la activación de sus genes diana** en las células del CCR; esto contribuye, a su vez, a la inhibición de la proliferación celular y al mantenimiento del fenotipo diferenciado (44).

2.3.4. Inhibición de la angiogénesis

La capacidad angiogénica de las células del CCR puede verse afectada por el calcitriol, ya que **reprime la expresión y la actividad transcripcional del factor inducible por hipoxia 1a** (HIF-1^a, del inglés *Hypoxia Inducible Factor 1a*), un factor de transcripción clave implicado en la angiogénesis inducida por hipoxia (44).

El calcitriol regula la **expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de la trombospondina-1 (TSP-1)**, dos importantes factores opuestos que controlan la angiogénesis tumoral, conduciendo a un **cambio equilibrado en el potencial angiogénico** de las células de CCR humano cultivadas SW480-

ADH (24,28,29,44). Además, reprime fuertemente a la proteína DICKKOPF-4 (DKK4), antagonista débil de la vía de señalización WNT que promueve la invasión y la angiogénesis en células cultivadas de CCR y que está regulada al alza en los tumores de colon humanos (24,28,29,44).

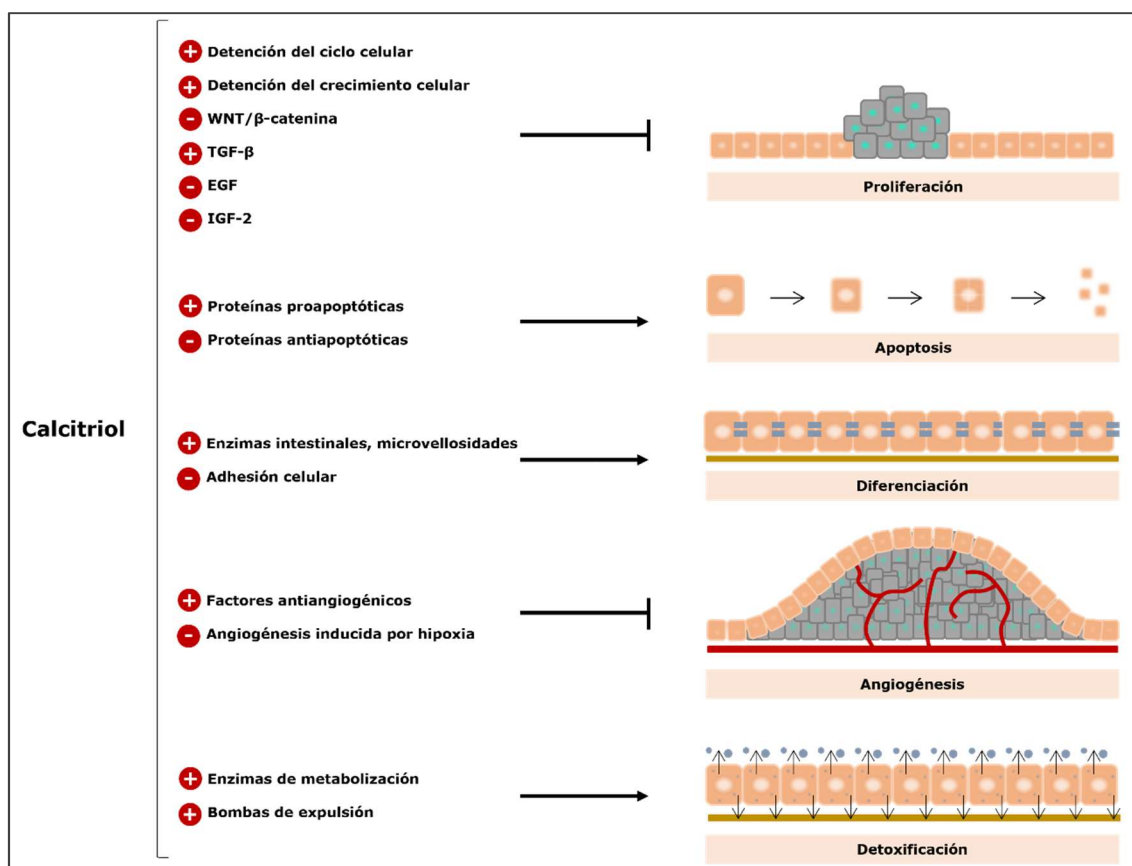
2.3.5. Inducción de los mecanismos de detoxificación celular

Las células epiteliales intestinales **expresan una serie de enzimas que participan en la desintoxicación y el metabolismo de xenobióticos** procedentes de la dieta y de compuestos endobióticos nocivos que pueden contribuir al desarrollo del CCR.

Las enzimas de fase I, la mayoría de las cuales pertenecen a la superfamilia del citocromo P450 (CYP), inician la **desintoxicación enzimática** de estos compuestos mediante reacciones de oxidación, hidrólisis o reducción. En el CCR, **el calcitriol induce la expresión del CYP3A4**, el más ampliamente expresado a nivel intestinal. Además, varios miembros de la familia del CYP2C, el segundo más ampliamente expresado en el intestino, **contienen VDR en sus promotores**, lo que podría ser determinante en relación con el CCR (44).

Las enzimas de fase II actúan conjugando diferentes grupos cargados a los compuestos previamente modificados por las enzimas de fase I, lo que aumenta su solubilidad en agua y facilita su excreción. En las células colorrectales, el calcitriol **activa la transcripción de la SULTA2A1**, una sulfotransferasa de fase II que actúa preferentemente sobre los hidroxiesteroides y los ácidos biliares esterólicos derivados del colesterol, pero que también puede modificar varios fármacos y otros xenobióticos. Además, **regula la expresión de varios transportadores responsables del flujo de conjugados** de fase II al medio extracelular como la proteína de resistencia a múltiples fármacos (MDR-1), que se localiza en la membrana apical de los enterocitos (44).

Figura 5. Acciones antitumorales de la vitamina D en el CCR



Abreviaturas: EGF: factor de crecimiento epidérmico; IGF-2: factor de crecimiento similar a la insulina 2; TGF- β : factor de crecimiento transformante β . WNT: gen WNT. **Fuente:** Elaboración propia a partir de Pereira et al. 2012 (47).

2.1. Concentración plasmática de vitamina D y riesgo y supervivencia del cáncer colorrectal

Los datos epidemiológicos y clínicos recientes sugieren una fuerte **correlación entre los niveles séricos deficientes o bajos de vitamina D** y el aumento del **riesgo de desarrollar múltiples cánceres** (48). Sin embargo, en el caso del CCR, los resultados de los diferentes estudios son contradictorios o muy poco concluyentes.

Hasta el momento, los resultados provenientes de diferentes metaanálisis de estudios epidemiológicos han arrojado **relaciones inversas significativas o no**

significativas en poblaciones de todo el mundo (49,50). A este respecto, Hernández-Alonso *et al.* (51) publicaron recientemente la primera gran revisión sistemática y metaanálisis de estudios de casos y controles y prospectivos que analiza **la posible asociación entre el CCR y los niveles circulantes de vitamina D**, teniendo en cuenta el **sexo**, el **lugar específico donde se produce el cáncer** (esto, en el recto o en el colon) y los **diferentes metabolitos de la vitamina D**. Así, observaron que, concentraciones más altas de calcifediol, se asocian con un menor riesgo de CCR, especialmente en las mujeres. Además, los resultados respaldan la hipótesis de que mantener los niveles circulantes de vitamina D podría tener un gran impacto beneficioso para la prevención del CCR.

Sin embargo, esto no ha podido ser demostrado en el contexto más actual de los ensayos clínicos. De hecho, dos grandes estudios de aleatorización mendeliana que evaluaron la **asociación entre los niveles de vitamina D y el riesgo de CCR** (uno de ellos, bidireccional), han concluido que ésta se debe muy probablemente **a factores de confusión desconocidos**, descartando la idea de que pueda existir una posible relación de causalidad inversa (26,27).

Estos resultados, en combinación con la literatura previa, brindan **evidencia de que la detección de deficiencia de vitamina D** en toda la población y la posterior administración generalizada de suplementos de vitamina D **no deben recomendarse actualmente como una estrategia para la prevención primaria** del cáncer (26,27), contrariamente a lo arrojado en el metaanálisis de Hernández-Alonso *et al.*

Por otra parte, en pacientes con CCR en estadios tempranos (I-III), la vitamina D plasmática postoperatoria **se ha asociado con diferencias clínicamente importantes en el resultado de supervivencia** del CCR, y los **niveles más altos de esta vitamina se han relacionado con un mejor pronóstico** (52,53), especialmente en pacientes con CCR del lado izquierdo (54). Esto se ve influenciado, además, por la presencia de ciertos polimorfismos como CDX2

(rs11568820) (53), aunque, por el momento, no se ha conseguido determinar claramente si estas variaciones genéticas influyen en el pronóstico del CCR.

3. Polimorfismos genéticos en el metabolismo de la vitamina D

3.1. Concepto de polimorfismo

Según el *National Human Genome Research Institute*, se denomina *polimorfismo* a la **presencia de dos o más formas variantes de una secuencia específica del ADN** que puede producirse entre diferentes personas o poblaciones (55).

Los polimorfismos se **distribuyen de manera heterogénea por todo el genoma**, y se encuentran tanto en **regiones codificantes** (exones) como **no codificantes** (intrones y región promotora) de los genes, influyendo o no en la expresión génica ARNm y, consecuentemente, en su actividad funcional (56). En cuanto a su frecuencia, **los polimorfismos se presentan en más del 1% de la población**, a diferencia de las **mutaciones espontáneas** (55,56), que se dan en una frecuencia mucho menor.

Las formas más frecuentes de polimorfismo son los SNP (del inglés *Single-Nucleotide Polymorphism*), que implican el **cambio de un único nucleótido** en el contexto de una secuencia genética; no obstante, también existen otros polimorfismos que pueden ser mucho más grandes y abarcar segmentos más largos del ADN, como los polimorfismos de repetición en tándem (STRP, del inglés *Short Tandem-Repeat Polymorphism*) (Figura 5) (55). Se han descrito **varios millones de SNP distribuidos por todos los cromosomas humanos**, que ocurren, de media, una vez cada 1.000 pares de bases (pb) en el genoma (aunque con importantes variaciones según el cromosoma y las regiones dentro de ellos). Estos SNP están catalogados y son accesibles públicamente en varias

bases de datos, siendo una de ellas la dbSNP del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (57). En dicha base de datos se muestra el número de SNP alojados en el genoma humano, así como su ubicación dentro y fuera de los genes, el cambio de alelo de cada polimorfismo y su distribución alélica y genotípica en las diferentes poblaciones.

Figura 6. Ejemplos de polimorfismos



Fuente: *National Human Genome Research Institute* (55).

Las **consecuencias funcionales** de estos SNP **van a depender de la localización de las variaciones en la secuencia de ADN**. Para el conjunto de genes codificantes de proteínas, se han documentado **más de 100.000 SNP localizados en exones**. Alrededor de la mitad de ellos no modifican la secuencia de aminoácidos prevista de la proteína codificada, por lo que se denominan **sinónimos** (sSNP), mientras que la otra mitad sí altera la secuencia de aminoácidos y se denominan **no sinónimos** (nsSNP). Otros SNP pueden introducir o cambiar un codón de terminación, o modificar sitios de corte y empalme (*splicing*) conocidos (58).

Un nivel adicional de variabilidad genética lo constituyen los **haplotipos**, compuestos por un conjunto de SNP a lo largo de un mismo cromosoma que son heredados como una unidad (55). Tanto los SNP como los haplotipos tienen **gran importancia biológica**, ya que determinan la **mayor parte de la variabilidad genética de los individuos**, causando diferencias genotípicas que acarrearán una **mayor susceptibilidad a padecer diversas enfermedades** (59).

Dada su alta frecuencia, muchas enfermedades genéticas están **causadas por un SNP o se relacionan con la identificación de SNP específicos**, entre ellas, el cáncer.

3.2. Polimorfismos de nucleótido único en la vitamina D y su implicación en el cáncer colorrectal

En los últimos años, se ha planteado la hipótesis de que la **naturaleza hereditaria del CCR** podría estar relacionada con la **herencia conjunta de múltiples variantes de bajo riesgo** (60), que pueden interactuar con factores ambientales. Esta hipótesis fue respaldada por la **identificación de SNP que se localizan en diferentes regiones genómicas y que influyen en la susceptibilidad al CCR** (61,62). Además, la presencia de estos SNP podría modificar el riesgo de CCR en familias con mutaciones en **genes predisponentes conocidos**, como los asociados con el síndrome de Lynch.

Como se puede ver en la Tabla 3, son numerosos los SNP del metabolismo de la vitamina D que se han relacionado con el CCR; sin embargo, únicamente nos centraremos en la evidencia disponible de algunos de ellos.

Tabla 3. SNP más frecuentemente asociados al metabolismo de la vitamina D y con implicación en el CCR

Gen	Ubicación	Función	SNP más frecuentes	Referencias
CYP2R1	11q15.2	Síntesis de calcidiol	• <u>rs10741657</u> • <u>rs12794714</u> • <u>rs2060793</u> • <u>rs10766196</u>	(33,63)
CYP27B1	12q14.1	Transformación de calcifediol a calcitriol	• <u>rs10877012</u> • <u>rs13377933</u> • <u>rs2229103</u> • <u>rs28934604</u> • <u>rs8176344</u> • <u>rs4646536</u> • <u>rs58915677</u>	(33,64,65)

			• <i>rs3782130</i>	
CYP24A1	20q13.2	Transformación del calcitriol a formas inactivas	• <i>rs2296241</i> • <i>rs2585428</i> • <i>rs2762939</i> • <i>rs2762942</i> • <i>rs35051736</i> • <u><i>rs4809957</i></u> • <i>rs4809958</i> • <i>rs4809960</i> • <i>rs6013897</i> • <i>rs6013905</i> • <i>rs6022999</i> • <u><i>rs6068816</i></u> • <i>rs927650</i>	(66–70)
VDBP	4q13.3	Unión y transporte de metabolitos de vitamina D	• <i>rs4588</i> • <u><i>rs7041</i></u>	(71,72)
VDR	12q13.11	Interacción celular y regulación génica	• <u><i>rs1544410</i></u> (Bsm I) • <u><i>rs7975232</i></u> (Apa I) • <i>rs757343</i> (Tru 91) • <u><i>rs731236</i></u> (Taq I) • <u><i>rs10735810</i></u> (Fok I) • <u><i>rs11568820</i></u> (CDX2) • PoliA en extremo 3´	(73)

Nota: El documento se centrará, principalmente, en aquellos SNP que se muestran señalados. **Abreviaturas:** CCR: cáncer colorrectal; CYP: familia del CYP-P450; PoliA: secuencia de poli-adeninas; SNP: polimorfismo de nucleótido único (*Single-Nucleotide Polymorphism*); VDBP: *Vitamin D-binding protein* (proteína transportadora de vitamina D); VDR: *Vitamin D Receptor* (receptor de vitamina D). **Fuente:** Elaboración propia.

3.2.1. SNP que afectan a la familia de genes implicados en el metabolismo de la vitamina D (citocromos)

3.2.1.1. CYP2R1

Situado en el **brazo corto del cromosoma 11** (11p15.2), el gen CYP2R1 posee **cinco exones**, a diferencia de la mayoría de las otras isoformas de CYP, que contienen nueve exones. La estructura cristalina de CYP2R1 muestra un patrón

de plegado típico de una proteína CYP, con **12 hélices α como núcleo estructural y láminas β dispuestas**, en su mayoría, en un lado, con el **grupo hemo** situado en la parte interior de la proteína. En el hígado, CYP2R1 hidroxilasa la vitamina D en la posición 25 y sirve como un determinante importante del nivel de calcidiol en el tejido y en la circulación (74).

Se han informado SNP **tanto exónicos como no exónicos** en CYP2R1, incluido el CYP2R1*2, que conlleva el intercambio del aminoácido leucina (Leu) por el de prolina (Pro) en la posición 99 (Leu99Pro), y una **serie de SNP no exónicos** con consecuencias funcionales variables en la regulación génica. El SNP *rs10741647*, situado en la región no codificante 5'-UTR, tiene establecida su relación causal con enfermedades como el raquitismo, el cáncer de ovario y la esclerosis múltiple (74); sin embargo, los datos acerca del **papel de dicho SNP en el desarrollo del CCR** son limitados, aunque, en base a la escasa evidencia publicada, no parece existir asociación entre ellos (63).

Recientemente, un estudio de casos y controles en el que se analizó a 920 pacientes con CCR y 1.743 participantes seleccionados al azar en Dinamarca, **no encontró asociación entre rs10741657 y el CCR**. Sin embargo, los resultados sugieren que la variación genética en los genes CYP2R1 **puede influir en la relación entre la ingesta de vitamina D** (a través de alimentos y suplementos) **y el riesgo de CCR**, encontrando que la portación heterocigota de rs10741657 se asoció débilmente con una **disminución del 9-12% del riesgo de CCR** por cada 3 μ g de vitamina D ingerido al día (75).

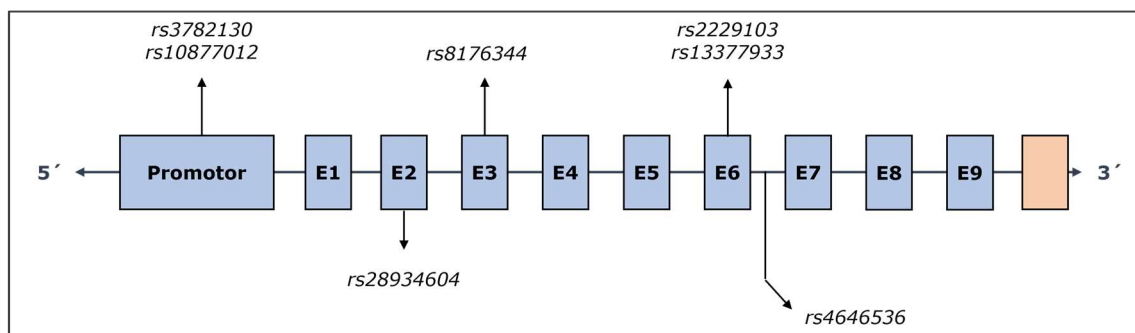
3.2.1.2. CYP27B1

El gen CYP27B1 se encuentra situado en el **brazo largo del cromosoma 12** (12q14.1) (76). Varios estudios han confirmado que el gen **contiene 9 exones**, pero la suma obtenida de las longitudes de los exones varía entre ellos (77).

Codifica para la **enzima 1- α hidroxilasa**, encargada de catalizar la **hidroxilación del calcidiol a calcitriol**, que contiene aproximadamente 508 aminoácidos, con una secuencia señal mitocondrial N-terminal y un sitio de unión al grupo hemo (77).

Actualmente, el gen CYP27B1 se **correlaciona con múltiples enfermedades**, en su mayoría **procesos oncológicos**, como el CCR, de próstata, de mama, de pulmón y de páncreas y otras de origen autoinmune como la esclerosis múltiple (77). La expresión de CYP27B1 y la **actividad de la enzima en las células cancerosas** varía según el estudio, y ésta **puede aumentar, disminuir o permanecer** en el mismo nivel (78). Asimismo, se han identificado varios SNP en el gen *CYP27B1*, con diferentes efectos en los cambios de secuencia de aminoácidos y relación con el CCR (Figura 7).

Figura 7. Estructura del gen CYP27B1 y SNP más frecuentemente asociados al CCR



Abreviaturas: E: exón. Fuente: Elaboración propia a partir de Latacz et al. 2020 (77).

El SNP *rs10877012* se ubica en la **región promotora del gen CYP27B1** y se ha **relacionado directamente con la aparición de CCR** (77) y también indirectamente debido a su influencia en los niveles de calcidiol circulantes en sangre (79).

Los resultados presentados por Latacz et al., basados en un estudio de tipo caso-control compuesto por 106 pacientes diagnosticados con CCR y 219 personas sin cáncer de raza caucásica, arrojan un **efecto significativo de rs10877012 en la aparición del CCR** (64). Además, sugieren un **papel protector del alelo T y del genotipo TT** (64). Contrariamente a los hallazgos de éstos, Vidigal et al. (en un estudio llevado a cabo en Brasil) indican que, en la población masculina, la

presencia del alelo T aumenta el riesgo del CCR en 1,60 veces ($p=0,037$), mientras que **la presencia del genotipo GT aumenta el riesgo** en 2,04 veces ($p=0,014$) (80). Por otro lado, en una población del noroeste de China, otro estudio ha demostrado que **el genotipo GG disminuye el riesgo de CCR**, en comparación con el genotipo TT, aunque resultó ser sólo estadísticamente significativo en personas mayores (67).

Por el momento, estos estudios parecen ser las únicas referencias que asocian directamente el SNP rs10877012 con el desarrollo del CCR.

3.2.1.3. CYP24A1

El gen CYP24A1, situado en el **brazo largo del cromosoma 20** (20q13.2) (57), codifica la enzima 24-hidroxilasa, encargada de catabolizar el calcitriol a formas inactivas.

En la actualidad, existen **estudios limitados que examinan la relación entre los SNP rs6068816 y rs4809957 y el CCR**. Además, éstos han sido llevados a cabo, en su gran mayoría, en población asiática y arrojan resultados contradictorios (Tabla 4).

Así, mientras que Chen et al. (69) encontraron que **rs6068816 es un fuerte factor de riesgo para el cáncer de colon** en la población china, Yi et al. (68) concluyeron que rs6068816 **puede no estar asociado con el riesgo de cáncer**, al realizar el genotipo a un total de 797 pacientes con CCR en China. Por otra parte, Chai et al. (66) demostraron que la frecuencia del genotipo rs6068816 GG en mujeres se asoció con un **riesgo significativamente mayor de CCR** en la población Jiamusi y que, además, la presencia de dicho polimorfismo puede estar relacionada con el tipo de CCR que presentan los pacientes.

En cuanto al pronóstico, un estudio de casos y controles (528 pacientes con CCR y 605 pacientes sin cáncer) llevado a cabo en China por Gong et al. (67) arrojó que **rs4809957 AA puede conducir a un peor pronóstico del CCR.**

Tabla 4. Estudios que relacionan a los SNP rs6068816 y rs4809957 y el CCR

Autor (año)	Tipo de estudio, población	Método	Resultados	Conclusión
Gong et al. (2017)	Pacientes con CCR (n=528) y sin cáncer (n=605) en población china.	Genotipo de varios SNP y su asociación con el riesgo y pronóstico de CCR.	El HR de los pacientes con <i>rs4809957</i> AA fue de 2,38 en comparación con el genotipo GG.	El polimorfismo <i>rs4809957</i> AA puede conducir a un peor pronóstico del CCR.
Chen et al. (2017)	Pacientes con pólipos colónicos (n=144), cáncer de colon (n=96) y CU (n=44) en población asiática.	Genotipo de 4 SNP (<i>rs4809957</i> , <i>rs6068816</i> , <i>rs6091822</i> y <i>rs8124792</i>) y su asociación con los pólipos colónicos, el cáncer de colon y la CU.	<i>rs4809957</i> A/G y <i>rs6068816</i> C/T se asocian con los pólipos colónicos, el cáncer de colon y la CU.	Los polimorfismos de CYP24A1 <i>rs4809957</i> , <i>rs6068816</i> , <i>rs6091822</i> y <i>rs8124792</i> están relacionados con el riesgo de pólipos colónicos y cáncer de colon.
Yi et al. (2020)	Pacientes con CCR (colon [n=426] y recto [361]) y sin cáncer (n=800) en población china.	Genotipo de 4 SNP (<i>rs2585428</i> , <i>rs4809960</i> , <i>rs6022999</i> y <i>rs6068816</i>) y su asociación con el CCR.	<i>rs4809960</i> y <i>rs6022999</i> se asocian fuertemente con el riesgo de CCR. El análisis de los haplotipos que consisten en <i>rs2585428</i> (G > A), <i>rs4809960</i> (T > C), <i>rs6022999</i> (A > G) y <i>rs6068816</i> (C > T) indica que el haplotipo ATGC reduce significativamente el riesgo de CCR, especialmente el riesgo de cáncer de colon. El haplotipo GCAT aumenta significativamente el riesgo de CCR, especialmente el <u>cáncer de recto</u> .	Los polimorfismos <i>rs4809960</i> y <i>rs6022999</i> se asocian fuertemente con el riesgo de cáncer de colon. El metaanálisis actualizado muestra que <i>rs2585428</i> y <i>rs6022999</i> pueden estar relacionados con la susceptibilidad al cáncer en la población caucásica y en la población asiática, respectivamente, y que <i>rs6068816</i> puede no estar asociado con el riesgo de cáncer.
Chai et al. (2021)	Pacientes con CCR (n=168) y sin cáncer (n=710) en población Jiamusi (China).	Genotipo de 3 SNP (<i>rs6013905</i> , <i>rs2762939</i> y <i>rs6068816</i>) y su asociación con el CCR.	En el grupo de mujeres, los 3 SNP se asocian significativamente con el CCR. En el análisis fenotípico-genotípico, los portadores de <i>rs6013905</i> GG y <i>rs2762939</i> GX se asocian significativamente con CCR poco diferenciado, mientras que CYP24A1 <i>rs6068816</i> AX se asocia significativamente con el tipo de tumor.	El polimorfismo del gen CYP24A1 puede ser un factor de riesgo genético atribuible a la prevalencia más alta de CCR en población Jiamusi.

Abreviaturas: A: adenina; C: citosina; CCR: cáncer colorrectal; CU: colitis ulcerosa; G: guanina; SNP: *Single Nucleotide Polymorphism* (polimorfismo de nucleótido único); T: timina. **Fuente:** Chai et al (2021); Chen et al (2017); Gong et al (2017) y Yi et al (2020) (66–69).

3.2.2. SNP que afectan a la familia de genes implicados en el transporte de la vitamina D (VDBP)

En humanos, la VDBP es una **α_2 -globulina sérica** con un peso molecular de entre 52 y 59 KDa, originalmente conocida como **componente específico del grupo** (GC-globulina). El gen GC que la codifica se encuentra ubicado en el **brazo largo del cromosoma 4** (4q13.3) y contiene 15 exones (72).

VDBP es **miembro de una superfamilia de proteínas transportadoras**, junto a la albúmina, la α -fetoproteína y la α -albúmina/afamina. La mayor parte de la vitamina D circulante en plasma se une a la VDBP, que **transporta los metabolitos de ésta desde la piel, el hígado y los riñones a varios tejidos** diana. Actualmente, también se sabe que VDBP media **otras funciones biológicas en humanos**, incluida la **modulación del sistema inmune**, la **activación de osteoclastos**, la **activación de la quimiotaxis** y el **transporte de ácidos grasos** (72).

La secuencia peptídica de VDBP consta de **458 aminoácidos dispuestos en tres dominios** (I, II y III) y puede glicosilarse en un grado variable dependiendo del genotipo. Los dos SNP más frecuentes, rs7041 y rs4588, localizados ambos en el exón 11 (en el dominio III), corresponden a los tres tipos principales de VDBP (GCF, GCS y GC2). CGF y CGS difieren únicamente en la posición 416, donde el ácido aspártico se sustituye por ácido glutámico; mientras que la diferencia entre GCF y GC2 es la sustitución de treonina a lisina (Tabla 5). Además, se sabe que GC1 y GC2 están marcados por una O-glicosilación, en tanto que GC1F y GC1S están modificados con un núcleo de N-acetil-D-glucosamina (72).

Tabla 5. SNP de GC más frecuentemente asociados con el CCR

SNP	Isoforma	Codón (variación)	Variación de aminoácidos
rs7041	GC1F	GAT (Asp→Glu)	Asp-432 (416/VDBP madura)
	GC1S	GAG (Asp→Glu)	Glu-432 (420/VDBP madura)
rs4588	GC1	ACG (Thr→Lys)	Thr-436
	GC2	AAG (Thr→Lys)	Lys-436

Abreviaturas: Asp: aspartato; GC: gen GC; Glu: ácido glutámico; Lys: lisina; SNP: *Single Nucleotide Polymorphism* (polimorfismo de nucleótido único) Thr: treonina; VDBP: *Vitamin D-Binding Protein* (proteína de unión a vitamina D). Fuente: Rozmus et al (2020) (72).

Hoy día, se asume que los polimorfismos en el gen GC pueden constituir un factor de **riesgo significativo para muchas enfermedades**, incluido el **cáncer** (72). En relación con el CCR, son numerosos los artículos que relacionan a rs7041 y rs4588 con la disminución de los niveles circulantes de metabolitos de la vitamina D y ésta, a su vez, con una mayor susceptibilidad a desarrollar CCR (81,82); sin embargo, la evidencia de la que se dispone es, más bien, limitada.

Zhou et al. analizaron la asociación entre rs7041 y rs4588 y el riesgo de desarrollar cánceres gastrointestinales en una cohorte de casos y controles que incluía 964 pacientes con alguno de estos cánceres (246 de ellos con CCR) y 1187 controles sanos. Encontraron que **rs4588 tiene un impacto significativo en el riesgo de desarrollar cánceres gastrointestinales, especialmente, CCR**; sin embargo, **no hubo asociación entre rs7041 y el CCR** (71).

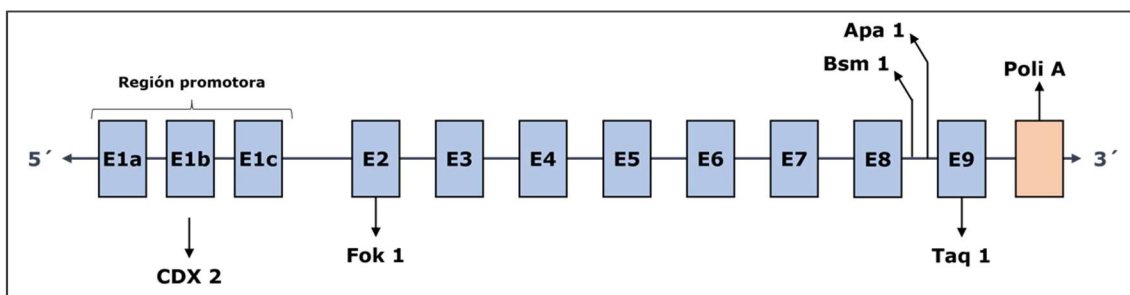
3.2.3. SNP que afectan a la familia de genes asociados al receptor de la vitamina D (VDR)

El VRD, ubicado en el **brazo largo del cromosoma 12** (12q13.11), consta de una **región promotora 5'** no codificante, el **extremo 5'** del gen que aloja los **exones 1a, 1b y 1c**, los **exones 2 y 3** que codifican el dominio de unión al ADN y los **exones 4 y 5** que codifican la región de unión al ligando (83).

Hasta el momento, se han identificado varios polimorfismos de VRD que guardan relación con el CCR (83) (Figura 8):

- **5 de ellos en la región polimórfica 3'**: rs1544410 (Bsm I), rs7975232 (Apa I) y rs757343 (Tru 91) en el **intrón 8**; rs731236 (Taq I) en el **exón 9**; y un **polimorfismo de repetición de mononucleótidos que varía en longitud de 13 a 24 adenosinas** (Poli A);
- rs10735810 (Fok I) en el **exón 2**, ubicado cerca de la región 5' no traducida del gen, dentro del dominio de unión al ADN; y
- rs11568820 (CDX2) en la **región promotora del gen**, en el exón 1.

Figura 8. Estructura del gen VDR y polimorfismos más frecuentemente asociados al CCR



Abreviaturas: E: exón. Fuente: Adaptado de Zmuda et al (2000) (83).

En las últimas décadas, han sido varios los estudios que informan acerca de las **asociaciones entre los polimorfismos del VRD y el CCR**, aunque los resultados no siempre han sido consistentes. Algunos arrojan resultados contradictorios entre variantes genéticas (84,85) o, incluso, ninguna asociación (86), probablemente debido a las **limitaciones que presentan** (diferentes características basales de los pacientes [sobre todo, en relación con la etnia] y pequeño tamaño de la muestra). De hecho, en un metaanálisis publicado por Serrano et al., los autores concluyeron que existe **un aumento significativo del riesgo de CCR en presencia de los genotipos tt y aa para Taq I y Apa I**, respectivamente, con **importantes variaciones de frecuencia entre los diferentes grupos étnicos** (87). Esto fue corroborado unos años más tarde por Gnagnarella et al. (88), que analizaron la relevancia de los polimorfismo de VDR para diferentes neoplasias malignas considerando el origen étnico como un

factor clave para la heterogeneidad, y encontrando asociaciones significativas de estos polimorfismos con el CCR (88).

Un metaanálisis recientemente publicado por Pan et al. (89) evaluó si los polimorfismos de VDR están asociados con la susceptibilidad al CCR. De entre los anteriormente citados, los autores **sugieren que BsmI podría estar asociado con el riesgo de CCR y que FokI podría ser un factor de riesgo de la enfermedad**. Sin embargo, no se ha podido demostrar una asociación clara entre los polimorfismos en VDR y el riesgo de CCR, concluyendo que son necesarios más estudios para confirmar estos hallazgos.

Uno de los más recientes, publicado por Latacz et al. (73) sobre la base de un estudio de tipo caso control realizado en Polonia que involucró a 103 pacientes con CCR y 109 participantes sin cáncer, **mostró una posible asociación de Fok I, BsmI, Apal y TaqI con la susceptibilidad al CCR**; sin embargo, ninguno de estos SNP aumentó o disminuyó individualmente el riesgo de CCR. En el caso del polimorfismo BsmI, el alelo b parecía conferir protección frente al CCR, aunque la regresión logística no confirmó esos resultados. Además, se identificaron dos haplotipos que aumentan significativamente el riesgo de CCR: para tAb se observó un aumento del riesgo de casi cuatro veces, mientras que para taB se observó que la probabilidad de malignidad en colon o recto era treinta veces mayor.

4. Impacto de los polimorfismos genéticos en el metabolismo de la vitamina D y la supervivencia del cáncer colorrectal

Actualmente, se han descrito **varios SNP que confieren una mayor susceptibilidad al CCR** y que podrían estar relacionados con la supervivencia al influir en la progresión de la enfermedad (90,91). Sin embargo, la **evidencia científica** de la que se dispone en relación con los SNP que afectan al

metabolismo de la vitamina D y su papel en la supervivencia del CCR es, más bien, **limitada**.

Ya Gong et al. (67) demostraron que **ciertas variaciones alélicas de rs4809957** en CYP24A1 conferían un **peor pronóstico** al CCR en la población asiática.

Por otra parte, un estudio llevado a cabo en población internacional sugiere que **la relación entre los niveles circulantes de vitamina D antes de confirmarse el diagnóstico de CCR y la mortalidad** entre los pacientes puede diferir según las diferentes isoformas de VDBP (92). A raíz los hallazgos, los pacientes con el SNP rs4588 en la isoforma GC2 de VDBP pueden beneficiarse de un nivel suficiente de vitamina D que, indirectamente, se asocia con **un mejor pronóstico del CCR** (92), de manera similar a como se ha observado con otros cánceres (93). Además, ciertos SNP en VDBP pueden **predecir la respuesta al tratamiento** en pacientes con CCR tratados con bevacizumab o cetuximab (94).

Asimismo, Vaughan-Shaw et al. (53) sugieren que un nivel plasmático bajo de vitamina D es un biomarcador pronóstico que se asocia a una **peor supervivencia del CCR**, particularmente en **aquellos con genotipo rs11568820 GG**.

Hasta donde sabemos, este es el **primer gran estudio que analiza específicamente la influencia de los polimorfismos genéticos más frecuentes en la ruta metabólica de la vitamina D sobre la supervivencia de CCR**, y teniendo en cuenta una serie de **variables demográficas, histopatológicas y genéticas**, abordando así las limitaciones de estudios anteriores.

Capítulo 3: Justificación e Hipótesis

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las principales causas de mortalidad por cáncer a nivel mundial (13,1%) (1). Presenta una prevalencia del 11,9% y una incidencia entorno al 8%, siendo el más común tras el cáncer de pulmón, mama y próstata (1,2). Según las últimas estadísticas de cáncer, se espera que ocurran más de 153.020 nuevos casos y 52.550 muertes por CCR en los Estados Unidos en 2023 (2).

El CCR consiste en el crecimiento descontrolado de células malignas en el colon y el recto, con capacidad para invadir otros tejidos y crear metástasis (95). El principal factor de riesgo para el CCR es la edad, siendo el 90% de los casos diagnosticados en personas mayores de 50 años. Del mismo modo, el sobrepeso y la obesidad, el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol, la inactividad física, así como, el consumo de algunos alimentos, como la carne procesada, podrían influir en el desarrollo de CCR (96). Los avances científicos se están dirigiendo hacia la búsqueda de nuevos biomarcadores predictores relacionados con el riesgo y la supervivencia de CCR (97,98). Con respecto a ello, recientes estudios han demostrado una fuerte asociación entre los niveles sanguíneos de vitamina D y el riesgo de desarrollar CCR (99,100).

La vitamina D se sintetiza por vía endógena a partir de 7-dehidrocolesterol tras la exposición solar o por ingesta directa a través de la dieta (101). Posteriormente, se hidroxila en posición 25 por acción de la enzima hepática 25-hidroxilasa (CYP2R1), convirtiéndola en calcidiol (25(OH)D), principal forma circulante en sangre. A continuación, la enzima 1- α -hidroxilasa (CYP27B1) realiza una segunda hidroxilación (en posición 1) y convierte al 25(OH)D en 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)₂D], ya sea en el riñón, donde se libera en la circulación, o en órganos diana específicos (101). La 1,25(OH)₂D circulante es degradada por CYP24A1 a ácido calcitroico y otros productos hidrosolubles que son inactivos y se excretan en la bilis u orina⁹. Los dos metabolitos activos de la

vitamina D se unen a la proteína de unión a la vitamina D (VDBP o DBP), anteriormente conocida como componente de grupo específico (GC), lo cual facilita su transporte (102). En los tejidos diana, la 1,25 (OH)₂D interactúa con el receptor de la vitamina D (VDR), el cual se une al receptor retinoide X (RXR), formando un complejo heterodímero que es translocado al núcleo, donde interacciona con los elementos de respuesta al VDR (VDRE), en múltiples loci genómicos (101). Por todo ello, el VDR es clave en el desempeño de las acciones biológicas de la 1,25 (OH)₂D. Asimismo, la vitamina D ha demostrado tener un efecto inhibitor sobre la angiogénesis, provocar la detención del ciclo celular G₀/G₁, inducir la apoptosis, aumentar la diferenciación celular e inhibir varias vías de señalización en la célula tumoral (103). Se estima que la vitamina D contribuye a la expresión del 3-5% de los genes, entre los que destacan aquellos relacionados con el cáncer (por ejemplo, c-MYC, BAK, BAX, ciclina D, EFG) (98, 103)

La implicación de esta biomolécula en la expresión de genes tumorales podría ir ligada a la acción del VDR, ya que se ha visto una alta expresión del gen *VDR* en intestino delgado y colon (99). De esta forma, la vitamina D estaría involucrada en el inicio y desarrollo de la carcinogénesis en ambos órganos (97,98, 101). Tanto es así, que se han descrito polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en genes implicados en el metabolismo de la vitamina D (*VDR*, *CYP2R1*, *CYP27B1*, *CYP24A1* y *GC*) que podrían afectar sustancialmente a los niveles séricos de vitamina D o modificar su funcionalidad (104, 105). Además, hay evidencia científica que relaciona, la presencia de SNPs en los genes que participan en el metabolismo de la vitamina D, con la supervivencia en CCR (106, 107,108).

Capítulo 4: Objetivos

Objetivo principal: Evaluar las variantes de tipo SNPs, en los genes implicados en la ruta metabólica de la vitamina D, con una frecuencia alélica superior al 1%: GC rs7041 (A>C), CYP2R1 rs10741657 (A>G), CYP27B1 (rs10877012 (G>T), rs4646536 (A>G), rs3782130 (G>C) y rs703842 (A>G)), VDR (BsmI rs1544410 (C>T), TaqI rs731236 (A>G), ApaI rs7975232 (C>A), FokI rs2228570 (A>G), y Cdx2 rs11568820 (C>T)) y CYP24A1 (rs6068816 (C>T) y rs4809957 (A>G)).

Objetivos secundarios

- Conocer el impacto de dichos SNPs en la supervivencia de pacientes caucásicos del sur de España diagnosticados de CCR .
- Determinar los polimorfismos rs10877012 (CYP27B1), rs6068816 y rs4809957 (CYP24A1), rs10741657 (CYP2R1) y rs7041 (GC) en casos y controles.
- Determinar los polimorfismos en los genes del receptor VDR (BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232), FokI (rs2228570) y Cdx2 (rs11568820)) en casos y controles.
- Analizar la asociación entre las variables genéticas de la ruta metabólica de la vitamina D y el desarrollo de CCR.
- Analizar la asociación entre las variables genéticas de la ruta metabólica de la vitamina D y la supervivencia de CCR.

Capítulo 5: Metodología

5.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional de cohortes retrospectivo.

5.2 Declaración ética

El estudio se llevó a cabo bajo la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Sistema Andaluz de Salud (SAS) de acuerdo con la Declaración de Helsinki (código: 1322-N-20) (anexo 1). Los sujetos participantes en el estudio firmaron un Consentimiento Informado para la recogida y análisis genético de las muestras de saliva, y su donación al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía (anexo 2). La identificación de las muestras se realizó con una codificación alfanumérica.

5.3 Población de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) de Granada, España. Se reclutaron 127 pacientes caucásicos, originarios del sur de España, diagnosticados de cáncer de colon en el Servicio de Oncología del HUVN entre 2009 y 2022 y en seguimiento hasta febrero de 2022. Los criterios de inclusión de los sujetos del estudio fueron ser mayor de 18 años, diagnosticados de cáncer colorrectal (estadios I-IV), con adecuada función orgánica, con enfermedad valorable mediante tomografía computerizada, sin tratamiento previo y con datos clínicos disponibles. Los pacientes fueron tratados de acuerdo con la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines (118).

5.4 Variables clínicas y sociodemográficas

Los datos sociodemográficos y clínicos fueron recogidos mediante la revisión de historias clínicas. Las variables sociodemográficas recogidas fueron: sexo, antecedentes familiares de cáncer y CCR, hábito tabáquico, hábito enólico, índice de masa corporal (IMC), tipo de CCR, edad de diagnóstico de cáncer, score ECOG, tamaño tumoral, histopatología, afectación ganglionar, grado histológico, metástasis, estadio, estadio TNM, tumor primario resecado y quimioterapia adyuvante. Los pacientes se clasificaron como fumadores si habían fumado o fumaban 100 o más cigarrillos a lo largo de su vida, ex fumadores si habían fumado 100 o más cigarrillos en su vida, pero no fumaban en la actualidad; y, no fumadores si nunca habían fumado o habían fumado menos de 100 cigarrillos en su vida. Los individuos se clasificaron por unidades de bebida estándar (UBE) como no bebedores si eran abstemios o no consumían alcohol de forma regular; como bebedores, si el consumo de alcohol fue mayor de 4 UBE por día en hombres, y mayor de 2.5 UBE por día en mujeres, y, como ex bebedores, si actualmente no bebían alcohol, pero el consumo de alcohol fue mayor a 4 UBE por día en hombres y más de 2.5 UBE por día en mujeres (119). La información acerca de la histología y el estadio del tumor (tamaño tumoral, afectación ganglionar, metástasis), si ha habido resección del tumor primario y el tratamiento quimioterápico adyuvante, también fueron recogidos. La guía sobre los Criterios del sistema de estadificación AJCC se utilizó para la clasificación tumoral (120).

5.5 Variables Genéticas

5.5.1 Aislamiento ADN

Tras la inclusión y la firma del consentimiento informado por parte del paciente, se recogieron muestras de saliva en hisopos bucales (Kit OCR-100). El ADN fue extraído usando el kit de extracción QIAamp DNA Mini (Qiagen GmbH, Hilden,

Alemania), siguiendo las especificaciones proporcionadas por el fabricante para la purificación de ADN a partir de saliva, y almacenado a -40°C. La concentración y la pureza del ADN se midieron con el espectrofotómetro de UV NanoDrop 2000 mediante la relación de absorbancia a 280/260 y 280/230.

5.5.2 Detección de los polimorfismos genéticos

Los polimorfismos fueron analizados mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Real-time PCR) usando sondas TaqMan® (ABI Applied Biosystems, 7300 Real-Time PCR System). Los polimorfismos analizados y sus assay ID utilizados se muestran en la Tabla 6. Las variables genéticas se determinaron a través del software QuantStudio 12 K Flex (96 pocillos) en la Unidad de Farmacogenética del HUVN. Los criterios para el control de calidad del genotipado fueron: error rate < 0,05; la frecuencia del alelo menor < 0,01; el *p*-valor en el equilibrio de Hardy-Weinberg > 0,05; error rate entre los casos y los controles < 0,05.

Tabla 6. Polimorfismos analizados y TaqMan ID utilizados.

Gene	Ubicación	Alelos	dbSNP ID	Assay ID
VDR (12q13.11)	Intron 8	G > A	rs1544410 (BsmI)	C__8716062_20
	Intron 1	G > A	rs11568820 (Cdx2)	C__2880808_10
	Exon 2	C > T	rs2228570 (FokI)	C__12060045_20
	Intron 8	C > A	rs7975232 (ApaI)	C__28977635_10
	Exon 9	T > C	rs731236 (TaqI)	C__2404008_10
CYP27B1 (12q14.1)	Intron 6	T > C	rs4646536	C__25623453_10
	Promotor 5'	G > C	rs3782130	ANGZRHH *
	5' UTR	A > G	rs10877012	C__26237740_10
	3' UTR	A > G	rs703842	AN9HX2K*
CYP24A1 (20q13.2)	Exon 6	G > A	rs6068816	C__25620091_20
	3' UTR	G > C	rs4809957	C__3120981_20
CYP2R1 (11p15.2)	5' UTR	A > G	rs10741657	C__2958430_10
GC (4q13.3)	Exon 11	T > G	rs7041	C__3133594_30

* Los polimorfismos fueron analizados utilizando assays customizadas por ThermoFisher Scientific (Waltham, MA, USA).

5.6 Variables de supervivencia

Supervivencia Libre de Progresión (SLP) y Supervivencia Global (SG) fueron las variables utilizadas para el análisis de la supervivencia de los pacientes.

La SG fue definida como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico del cáncer hasta el éxito o el tiempo final de seguimiento. La SLP se calculó como el tiempo desde el inicio de la terapia hasta el tiempo final de seguimiento, el éxito o la progresión. Los datos sobre mortalidad fueron recogidos a partir de las historias clínicas.

5.7 Análisis Estadístico

El análisis descriptivo se realizó con el software *R* 4.2.2 (121). Las variables cuantitativas se expresaron como la media ($\pm$ desviación estándar) para aquellas que cumplieran la normalidad, y como la mediana y los percentiles (25 y 75) para las variables que no seguían una distribución normal. La normalidad se comprobó a través del Test de Shapiro-Wilks.

Para el análisis de asociación entre la supervivencia y las variables sociodemográficas, clínicas y genéticas se utilizó el método de Kaplan-Meier y el test log-rank. El modelo de regresión de Cox se utilizó para la realización del análisis multivariante (método de eliminación hacia atrás) y la obtención del hazard ratio ajustado (HR) y el intervalo de confianza al 95% (IC_{95%}) para los posibles factores pronóstico de supervivencia. Todas las pruebas fueron de dos colas, siendo la probabilidad de 0.05 o menor considerada como estadísticamente significativa.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg y las frecuencias de alelo menor (MAF), y se calculó Lewontin's D prime (D') y el coeficiente de disequilibrio de ligamiento (R^2). El disequilibrio de ligamiento (LD) para cada polimorfismo se calculó a través del programa de análisis de asociación del genoma *PLINK* y Haploview 4.2 (122, 123).

Capítulo 6: Resultados

6.1 Características de los pacientes

En el estudio se incluyeron 127 pacientes del sur de España diagnosticados de cáncer colorrectal. Las características sociodemográficas, clínicas y fisiopatológicas de los pacientes se muestran en la Tabla 7. Del total de pacientes, el 66.93% fueron hombres (85/127); la media de edad de diagnóstico de CCR fue de 62.52 ± 10.55 años, siendo el 44.09% no fumadores (56/127) y presentando un IMC superior a 24 el 78.74% de ellos (100/127). El 70.08% de los pacientes, fueron diagnosticados de cáncer de colon (89/127), mostrando un estadio I, II, IIIA el 55.91% de ellos (71/127) y presentando cirugía como primera línea de tratamiento en el 93.70% de los casos (119/127). Durante el seguimiento, se registraron 46 fallecimientos. Para el total de los pacientes, la mediana de la OS y de la SLP fueron de 34.97 (16.73 - 94.45) y 23.70 (12.83 - 89.57) meses, respectivamente.

Tabla 7. Características clínico-patológicas y demográficas de 127 pacientes con CCR.

VARIABLES	N	%	Mean +/- sd
Sexo			
Mujer	42	33.07	-
Hombre	85	66.93	-
Antecedentes de cáncer			
Sí	64	50.39	-
No	63	49.61	-
Antecedentes de CCR			
Sí	27	21.26	-
No	100	78.74	-
Hábito tabáquico			
Fumador	27	21.26	-
Ex fumador	44	34.65	-
No fumador	56	44.09	-
Hábito enólico			
Bebedor	24	18.90	-
Ex bebedor	7	5.51	-
No bebedor	96	75.59	-
IMC			
<24	27	21.26	-
>24	100	78.74	-
Tipo CCR			
Colon	89	70.08	-
Recto	38	29.92	-
Edad DX CCR	127		62.52±10.55
Score ECOG			
0-1	116	91.34	-
2-4	11	8.66	-
Histopatología			
ADC	107	84.25	-
ADC mucoso	20	15.75	-
Tamaño tumoral	127		4.40 (3.00-5.50)
Afectación ganglionar			
Sí	92	72.44	-
No	35	27.56	-
Número ganglios afectados			
Ninguno	35	27.56	-
1-3	61	48.03	-
>4	31	24.41	-
Grado histológico	127	-	2 (2-2)
Metástasis			
Sí	36	28.35	-
No	91	71.65	-
Estadio			
I, II, IIIA	71	55.91	-
IIIB, IV, IVB	56	44.09	-

Estadio TNM			
I/II	11	8.66	-
III/IV	116	91.34	-
Tumor primario resecado			
Sí	119	93.7	-
No	8	6.3	-
Quimioterapia adyuvante			
Fluoropirimidinas	34	28.57	-
Fluoropirimidinas + Oxaliplatino	69	57.98	-
Fluoropirimidinas + biológico	13	10.92	-
Ninguna	3	2.52	-
Supervivencia			
SLP	127	-	23.70 (12.83-89.57)
SG	127	-	34.97 (16.73-94.45)
Qualitative variables are shown as number (percentage, %). Quantitative variables with a normal distribution are shown as mean $\pm$ standard deviation. Quantitative variables with a non-normal distribution are shown as p ₅₀ (p ₂₅ - p ₇₅).			

6.2 Influencia de las características clínico-patológicas en la supervivencia

6.2.1 Supervivencia Global

La mediana de la SG fue mayor en pacientes con antecedentes familiares de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.020$, 134.5 vs. 62.1 meses; *Tabla 6; Figura 10*), con menor edad de diagnóstico del CCR ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$) y score ECOG de 0-1 ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 114.9 vs. 36.3 meses; *Tabla 6; Figura 10*), sin metástasis ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$, 134.5 vs. 56.2 meses; *Tabla 6; Figura 13*), con estadio I, II, IIIA ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$, 134.5 vs. 52.1 meses; *Tabla 6; Figura 14*), menor número de ganglios afectados ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 108.5 meses para 1-3 vs. 30.6 meses para >4 ; *Tabla S1; Figura S5*) y con quimioterapia adyuvante de fluoropirimidinas y oxaliplatino ($P_{\log\text{-rank}} = 0.002$, 134.5 vs. 52.1 meses para fluoropirimidinas + biológico, 41.9 meses para fluoropirimidinas y 30.2 meses sin quimioterapia adyuvante; *Tabla S1; Figura 16*).

6.2.2 Supervivencia libre de progresión

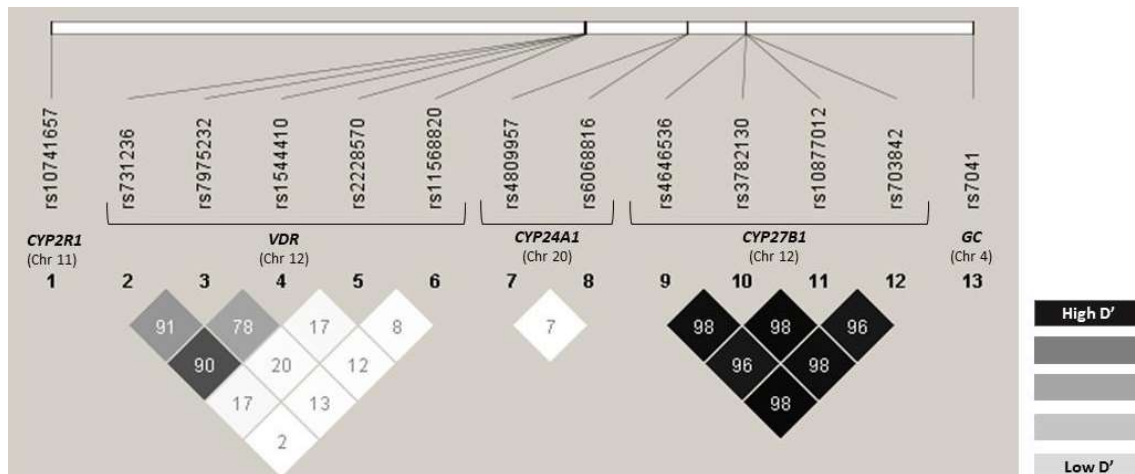
Se encontró mayor valor de SLP en pacientes con menor edad de diagnóstico de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.001$; *Tabla S2*), score ECOG 0-1 ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 105.8 vs. 18.6 meses; *Tabla S2; Figura 17*), sin afectación ganglionar ($P_{\log\text{-rank}} = 0.020$, NR vs. 41 meses; *Tabla S2; Figura 18*), con ausencia de metástasis ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 125.9 vs. 19.8 meses; *Tabla S2; Figura 19*), en estadios I, II, IIIA ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 125 vs. 35 meses; *Tabla 8; Figura 20*), menor número de ganglios afectados ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 63.3 meses para 1-3 vs. 18.6 meses para >4 ; *Tabla S2; Figura 21*), con tumor primario resecado mediante cirugía ($P_{\log\text{-rank}} = 0.008$, 105.2 vs. 14.1 meses; *Tabla 7; Figura 22*) y con quimioterapia adyuvante de fluoropirimidinas y oxaliplatino ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$, 35.36 vs. 7.53 meses para fluoropirimidinas, 5.62 meses para fluoropirimidinas + biológico y 0.49 meses sin quimioterapia adyuvante; *Tabla 9; Figura 23*). Además, se encontró una tendencia a la asociación entre una mayor mediana de SLP y tener antecedentes de CCR ($P_{\log\text{-rank}} = 0.080$, 125.9 vs. 55.1 meses para los sujetos sin antecedentes de CCR; *Tabla S2; Figura S14*), así como, con un menor valor de grado histológico ($P_{\log\text{-rank}} = 0.060$; *Tabla S2*).

6.3 Distribución del Genotipo

Todos los polimorfismos presentan frecuencias de alelo menor superiores al 1% y ninguno de ellos se ha excluido del análisis *Tabla S3*. Los valores de las frecuencias esperadas de los genotipos, así como, los valores del modelo de equilibrio de Hardy Weinberg para la SG y la SLP, se muestran en las *Tabla S4* y *Tabla S5*, respectivamente. Los SNPs que no cumplieron el equilibrio de Hardy Weinberg para la SG y SLP fueron GC rs7041 (SG: $p = 0.039$; SLP: $p = 0.007$), VDR rs1544410 (SG: $p = 0.006$; SLP: $p = 0.007$), VDR rs2228570 (SLP: $p = 0.034$), VDR rs7975232 (SG: $p = 0.047$; SLP: $p = 0.047$), VDR rs731236 (SG: $p = 0.016$; SLP: $p = 0.017$) y CYP24A1 rs6068816 ($p = 0.003$; SLP: $p = 0.003$). No se encontraron diferencias significativas entre las MAF descritas para la población ibérica y las frecuencias obtenidas en nuestra población de los SNPs estudiados (GC rs7041-A: 0.492 vs. 0.435 ($p = 0.965$), VDR rs1544410-T: 0.445 vs. 0.439 ($p = 0.993$), VDR rs2228570-A: 0.343 vs. 0.327 ($p = 0.981$), VDR

rs7975232-C: 0.421 vs. 0.430 ($p = 0.989$), *VDR* rs731236-G: 0.402 vs. 0.430 ($p = 0.968$), *CYP24A1* rs6068816-T: 0.189 vs. 0.107 ($p = 0.870$)). Los valores de desequilibrio de ligamiento (D') y R^2 se muestran en la *Tabla 9*. En concreto, los SNPs *VDR* rs1544410/rs7975232, *VDR* rs1544410/rs731236, *VDR* rs7975232/rs731236, *CYP27B1* rs3782130/rs4646536, *CYP27B1* rs3782130/rs703842, *CYP27B1* rs3782130/rs10877012, *CYP27B1* rs4646536/rs703842, *CYP27B1* rs4646536/rs10877012, *CYP27B1* rs703842/rs10877012 se encuentran en fuerte desequilibrio de ligamiento (*Figura 9*).

Figura 9. Desequilibrio de ligamiento.



6.4 Influencia de los polimorfismos genéticos en la supervivencia

6.4.1 Supervivencia Global

El análisis bivalente mostró asociación entre la SG y el polimorfismo *VDR* rs7975232 (ApaI). En concreto, los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA presentaron una menor supervivencia cuando se compararon con los portadores del alelo *VDR* rs7975232 (ApaI)-C ($p = 0.037$; HR = 1.187; IC_{95%} = 1.039-3.377; *Tabla S7*). Las curvas de Kaplan Meier para SG del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA vs. C se muestran en la *Figura 10* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.030$). La mediana de la SG fue de 134.5 meses (IC_{95%} = 69.3-NR) para el alelo *VDR* rs7975232 (ApaI)-C frente a los 48.9 meses (IC_{95%} = 39.6-NR) de los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-C. Del mismo modo, se encontró una tendencia a la asociación entre la SG y los genotipos *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA vs. CC/AC ($p = 0.062$; HR = 2.181; IC_{95%} = 0.962-4.944; *Tabla 8*). El gráfico de Kaplan Meier con las curvas de SG de los genotipos *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA vs. CC/AC se muestran en la *Figura 11* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.090$). La mediana de la SG fue de 114.9 meses (IC_{95%} = 61.3-NR) para el genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AC frente a los 48.9 meses (IC_{95%} = 39.6-NR) de los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA. En esta misma línea, se encontró tendencia a la asociación entre el SNP *VDR* rs731236 (TaqI) y la SG. Los pacientes con genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG presentaron menor supervivencia frente a los portadores del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-AG ($p = 0.034$; HR = 2.409; IC_{95%} = 0.818 - 3.271; *Tabla 8*). El gráfico de Kaplan Meier de las curvas de SG del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG vs. AG/AA se muestran en la *Figura 12* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.090$). La mediana de la SG fue de 134.5 meses (IC_{95%} = 62.3 - NR) para el genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-AG frente a los 41.9 meses (IC_{95%} = 36.3 - NR) y los 75.9 meses (IC_{95%} = 58.5 - NR) para los pacientes portadores de *VDR* rs731236 (TaqI)-GG y AA, respectivamente. Asimismo, esta misma tendencia a la asociación se encontró cuando se comparó el alelo *VDR* rs731236 (TaqI)-A frente al genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG (GG vs. A: $p = 0.087$; HR = 1.825; IC_{95%} = 0.915 – 3.637; *Tabla 8*). El gráfico de Kaplan Meier de las curvas de SG del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG vs. A se muestran en la *Figura 13* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.080$). La mediana de la OS fue de 134.5 meses (IC_{95%} = 62.3 - NR) para el alelo *VDR* rs731236 (TaqI)-A frente a los 41.9 meses (IC_{95%} = 36.3 - NR) para los pacientes portadores de *VDR* rs731236 (TaqI)-GG. Por otro lado, se encontró tendencia a la asociación entre el SNP *CYP24A1* rs6068816 y el riesgo de menor

SG. En concreto, los pacientes con genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT mostraron menor supervivencia frente a los portadores del alelo *CYP24A1* rs6068816-C ($p = 0.067$; HR = 2.244; IC_{95%} = 0.946-5.327; Tabla 8). En la *Figura 14* se muestran las curvas de Kaplan Meier para SG de esta tendencia a la asociación ($P_{\log\text{-rank}} = 0.060$). La mediana de SG fue de 108.5 meses (IC_{95%} = 62.3 - NR) para el alelo *CYP24A1* rs6068816-C frente a los 61.3 meses (IC_{95%} = 23.7 - NR) del genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT. Por último, el SNP GC rs7041 presentó un impacto en la SG en nuestros pacientes. Así, los individuos que presentaron el alelo GC rs7041-C mostraron menor SG, que los portadores del genotipo GC rs7041-AA ($p = 0.020$; HR = 2.914; IC_{95%} = 1.149 - 7.393; Tabla 8). Las curvas de Kaplan Meier para SG se muestran en la *Figura 15* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.020$). La mediana de la SG fue de 65.5 meses (IC_{95%} = 53.5 - NR) para los sujetos con alelo GC rs7041-C, frente a los 69.3 meses (IC_{95%} = 56.2 - NR) de aquellos portadores del alelo GC rs7041-A. Asimismo, cuando se estudió la asociación entre la SG y los genotipos GC rs7041-AC vs. AA/CC, se encontró que los individuos portadores del genotipo GC rs7041-AC presentaban menor supervivencia ($p = 0.009$; HR = 3.514; IC_{95%} = 1.359 – 9.088; Tabla 8) frente a los portadores de los genotipos GC rs7041-CC y AA. Las curvas de Kaplan Meier para SG se muestran en la *Figura 16* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.010$). La mediana de la OS fue de 61.3 meses (IC_{95%} = 41.9 - NR) para los sujetos con genotipo GC rs7041-AC, frente a los 114.5 meses (IC_{95%} = 65.0 - NR) de aquellos portadores del genotipo GC rs7041-CC. El análisis de regresión de Cox ajustado por metástasis y edad de diagnóstico mostró que los SNPs *VDR* rs7975232 (ApaI) ($p = 0.028$; HR = 1.968; IC_{95%} = 1.076 - 3.596), *CYP24A1* rs6068816 ($p = 0.001$; HR = 4.511; IC_{95%} = 1.782 - 11.421) y GC rs7041 ($p = 0.031$; HR = 2.831; IC_{95%} = 1.097 - 7.306) fueron las variables independientes asociadas con la OS en pacientes diagnosticados de CCR ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$) (Tabla 8).

Tabla 8. Influencia de los polimorfismos y las características clínicas en la supervivencia global de 127 pacientes con CCR.

Variables independientes	Supervivencia global	
	HR (CI _{95%})	p-valor
Metástasis (si)	2.791 (1.522-5.117)	0.001
Edad DX CCR	1.075 (1.040-1.112)	<0.001
<i>CYP24A1</i> rs6068816 (TT vs. C)	4.511 (1.782-11.421)	0.001
GC rs7041 (C vs. AA)	2.831 (1.097-7.306)	0.031

VDR rs7975232 (Apal) (AA vs. C)	1.968 (1.076-3.596)	0.028
p-valor (logrank) = <0.001		

Figura 10. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo VDR rs7975232 (Apal)-C en 127 pacientes CCR.

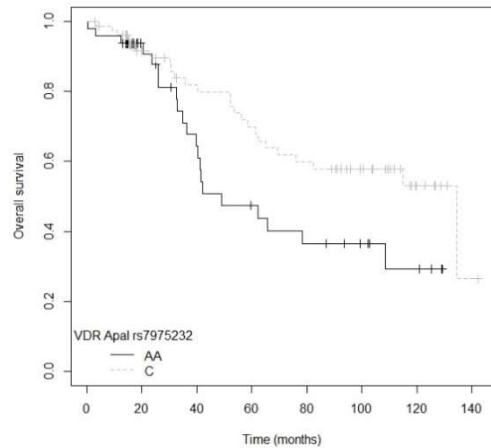


Figura 12. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo VDR rs731236 (Taql)-GG en 127 pacientes CCR.

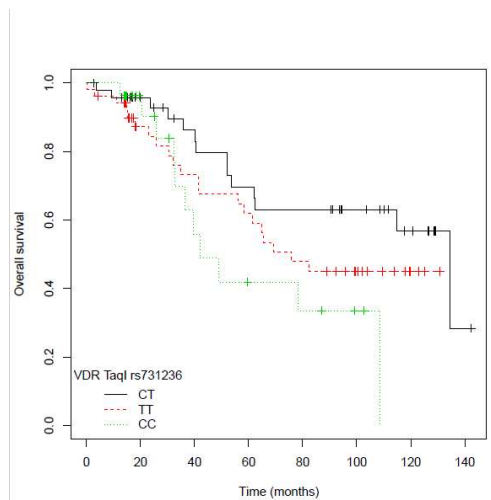


Figura 14. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo

Figura 11. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo VDR rs7975232 (Apal)-AA en 127 pacientes CCR.

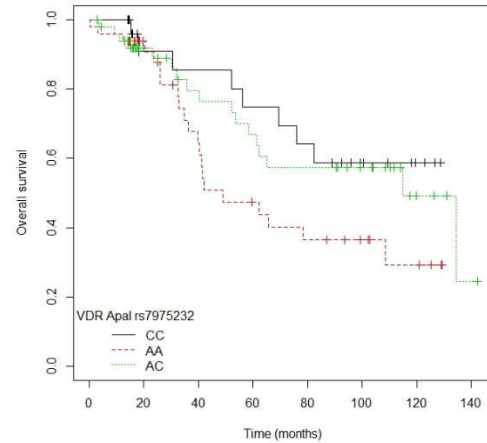


Figura 13. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo VDR rs731236 (Taql)-A en 127 pacientes CCR.

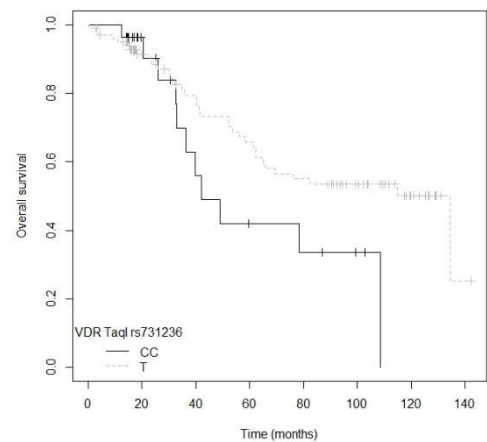


Figura 15. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo GC rs7041-C en

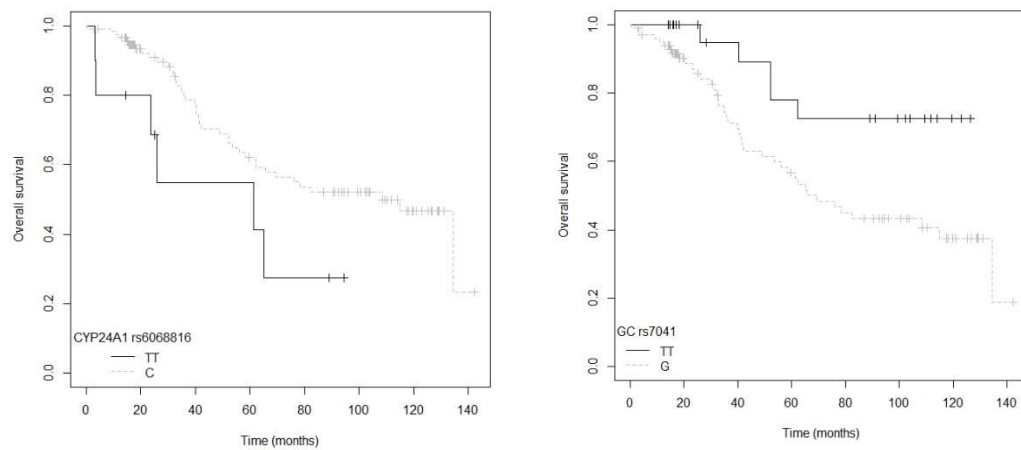
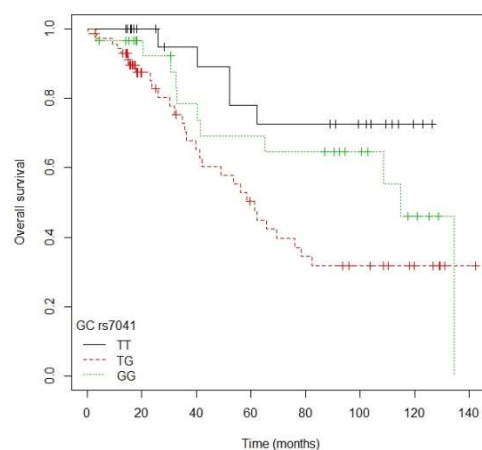


Figura 16. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo GC rs7041-



AC en 127 pacientes CCR.

6.4.2 Supervivencia libre de progresión

Tres de los cinco SNP analizados del gen VDR mostraron asociación con la SLP después de la realización del análisis bivalente. En primer lugar, los pacientes portadores de los genotipos *VDR* rs2228570 (FokI)-GG y AA mostraron mayor riesgo de progresión frente a los portadores del genotipo *VDR* rs2228570 (FokI)-AG (GG: $p = 0.085$, HR = 1.650, IC_{95%} = 0.934 - 2.916; AA: $p = 0.025$, HR = 2.542; IC_{95%} = 1.126 - 5.742; *Tabla 9*). En la *Figura 17* se muestra el gráfico de Kaplan Meier con las curvas de SLP ($P_{\log\text{-rank}} = 0.050$). La mediana de la supervivencia fue de 125.4 meses (IC_{95%} = 47.4 - NR) para los pacientes portadores del

genotipo *VDR* rs2228570 (FokI)-AG, frente a los 55.1 meses (IC_{95%} = 23.7 - NR) y 19.8 meses (IC_{95%} = 6.23 - NR) de los pacientes portadores de los genotipos *VDR* rs2228570 (FokI)-GG y AA, respectivamente. Del mismo modo, se encontró tendencia a la asociación entre el genotipo *VDR* rs2228570 (FokI)-AA y mayor riesgo de progresión, cuando se comparó con el alelo *VDR* rs2228570 (FokI)-G ($p = 0.072$; HR = 1.994; IC_{95%} = 0.939 - 4.232; *Tabla 9*). Las curvas de Kaplan Meier para la SLP del alelo *VDR* rs2228570 (FokI)-AA vs. G se muestran en la *Figura 18* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.070$). La mediana de SLP para los pacientes portadores del alelo *VDR* rs2228570 (FokI)-G fue de 75.0 meses (IC_{95%} = 43.8 - NR), frente a los 19.8 meses (IC_{95%} = 6.23 - NR) de los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs2228570 (FokI)-AA. En segundo lugar, el polimorfismo *VDR* rs7975232 (ApaI) también se encontró asociado con la SLP. El genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA presentó mayor riesgo de progresión, frente al alelo *VDR* rs7975232 (ApaI)-C ($p = 0.042$; HR = 1.172; IC_{95%} = 1.019 - 2.945; *Tabla S8*). La *Figura 19* muestra las curvas de Kaplan Meier para la SLP de esta asociación ($P_{\log\text{-rank}} = 0.040$). Los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA presentaron una mediana de SLP de 43.8 meses (IC_{95%} = 34.5 - NR), frente a los 125.9 meses (IC_{95%} = 55.1 - NR) de los sujetos portadores del alelo *VDR* rs7975232 (ApaI)-C. Por último, se encontró tendencia a la asociación entre el genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG y mayor riesgo de progresión en nuestros pacientes, frente al alelo *VDR* rs731236 (TaqI)-A ($p = 0.094$; HR = 1.670; IC_{95%} = 0.916 - 3.046; *Tabla S8*). Las curvas de Kaplan Meier para la SLP de este SNP se muestran en la *Figura 20* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.090$). La mediana de la SLP para los sujetos portadores del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG fue de 41.0 meses (IC_{95%} = 18.6 - NR), frente a los 105.0 meses (IC_{95%} = 51.1 - NR) de los potadores del alelo *VDR* rs731236 (TaqI)-A. Además, el genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT presentó mayor riesgo de progresión cuando se comparó con el alelo *CYP24A1* rs6068816-C ($p = 0.006$; HR = 3.030; IC_{95%} = 1.361 - 6.743; *Tabla S8*). Las curvas de Kaplan Meier para la SLP de esta asociación se muestran en la *Figura 21* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.004$). La mediana de la SLP para los sujetos con el alelo *CYP24A1* rs6068816-C fue de 75 meses (IC_{95%} = 47.4 - NR), frente a los 14.2 meses (IC_{95%} = 3.1 - NR) de los pacientes portadores del genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT. Asimismo, cuando se compararon los genotipos *CYP24A1* rs6068816-TT vs. CC/CT se encontró que los pacientes portadores del genotipo *CYP24A1*

rs6068816-TT presentaban mayor riesgo de progresión ($p = 0.010$; HR = 3.585; IC_{95%} = 1.355 – 6.743; *Tabla S8*) que los portadores de los genotipos *CYP24A1* rs6068816-CC y CT. Las curvas de Kaplan Meier para la SLP de esta asociación se muestran en la *Figura 22* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.010$). La mediana de la SLP para los sujetos con el genotipo *CYP24A1* rs6068816-CC fue de 63.3 meses (IC_{95%} = 43.8 - NR), frente a los 14.2 meses (IC_{95%} = 3.1 - NR) de los pacientes portadores del genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT. Del mismo modo, los individuos portadores de los genotipos GC rs7041-AC y AA presentaron mayor riesgo de progresión cuando se compararon con los portadores del genotipo GC rs7041-CC (AA: $p = 0.777$, HR = 1.149, IC_{95%} = 0.440 - 2.997; AC: $p = 0.007$, HR = 2.742; IC_{95%} = 1.321 - 5.691; *Tabla S8*). Las curvas de Kaplan Meier para la SLP de este SNP se muestran en la *Figura 23* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.004$). La mediana de SLP para los pacientes con el genotipo GC rs7041-CC fue de 125.9 meses (IC_{95%} = 105.8 - NR) frente a los 55.1 meses (IC_{95%} = 37.0 - NR) y 38.1 meses (IC_{95%} = 18.5 - 73.3) de los portadores de los genotipos GC rs7041-AA y AC, respectivamente. Asimismo, cuando se analizó el alelo GC rs7041-A frente al genotipo GC rs7041-CC, se encontró mayor riesgo de progresión en los sujetos portadores del alelo GC rs7041-A ($p = 0.029$; HR = 2.226; IC_{95%} = 1.083 - 4.574; *Tabla S8*). Las curvas de Kaplan Meier para la SLP de esta asociación se muestran en la *Figura 24* ($P_{\log\text{-rank}} = 0.030$). La mediana de la SLP para los pacientes portadores del genotipo GC rs7041-CC fue de 125.9 meses (IC_{95%} = 105.8 - NR) frente a los 55.1 meses (IC_{95%} = 37.0 - NR) de los portadores del alelo GC rs7041-A. El análisis de regresión de Cox de la SLP ajustado por metástasis, edad de diagnóstico y grado mostró que los SNP *VDR* rs7975232 (Apal) ($p = 0.019$; HR = 1.960; IC_{95%} = 1.113 - 3.369), *CYP24A1* rs6068816 ($p = 0.003$; HR = 3.627; IC_{95%} = 1.537 - 8.557) y GC rs7041 ($p = 0.048$; HR = 2.128; IC_{95%} = 1.004 - 4.509) se encontraban asociados con la SLP en nuestros pacientes ($P_{\log\text{-rank}} < 0.001$) (*Tabla 9*).

Tabla 9. Influencia de los polimorfismos y las características clínicas en la supervivencia libre de progresión de 127 pacientes con CCR.

Variables independientes	Supervivencia libre de progresión	
	HR (CI _{95%})	p-valor

Metástasis (sí)	3.910 (2.264- 6.753)	<0.001
Edad DX CCR	1.066 (1.035- 1.099)	<0.001
Grado histológico	1.960 (1.011- 3.800)	0.046
CYP24A1 rs6068816 (TT vs. C)	3.627 (1.537-8.557)	0.003
GC rs7041 (AC vs. AA/CC)	2.128 (1.004- 4.509)	0.048
VDR rs7975232 (Apal) (AA vs. C)	1.960 (1.113-3.369)	0.019
p-valor (logrank) = <0.001		

Figura 17. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo *VDR* rs2228570 (FokI)-AG en 127 pacientes CCR.

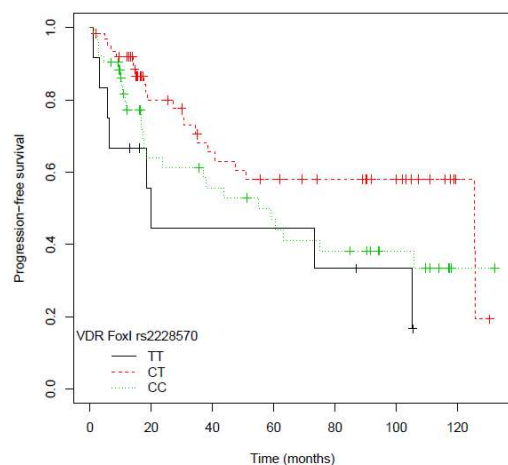


Figura 19. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo *VDR* rs7975232 (Apal)-AA en 127

Figura 18. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el alelo *VDR* rs2228570 (FokI)-G en 127 pacientes CCR.

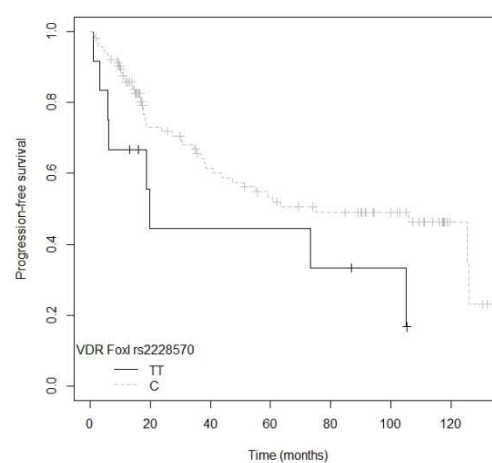


Figura 20. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG en 127 pacientes CCR.

pacientes

CCR.

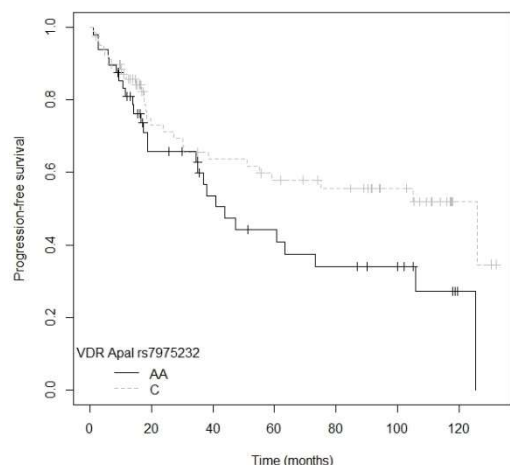


Figura 21. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT en 127 pacientes CCR.

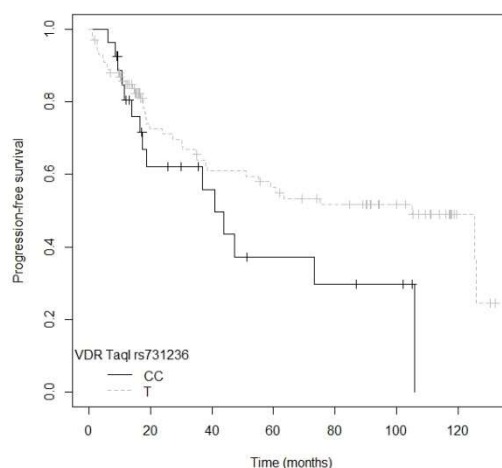


Figura 22. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo *CYP24A1* rs6068816-TT en 127 pacientes CCR.

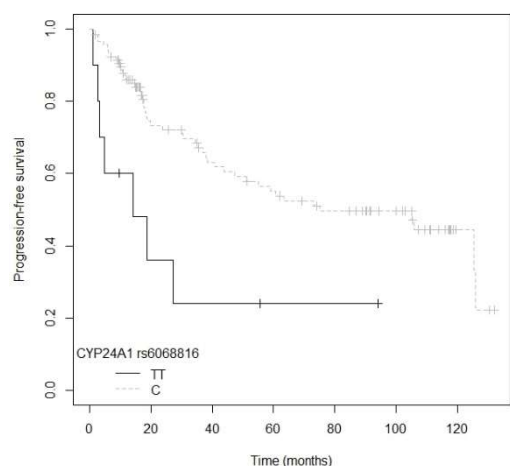


Figura 23. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo GC rs7041-CC en 127 pacientes CCR.

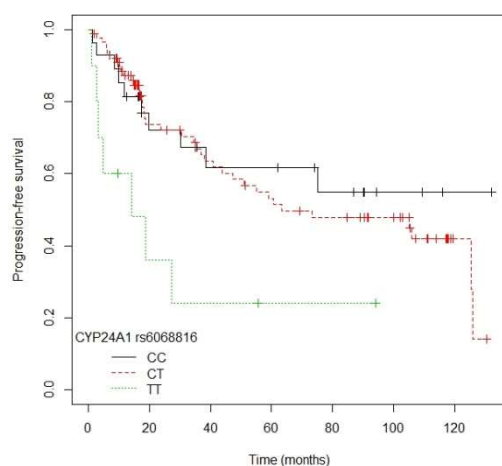
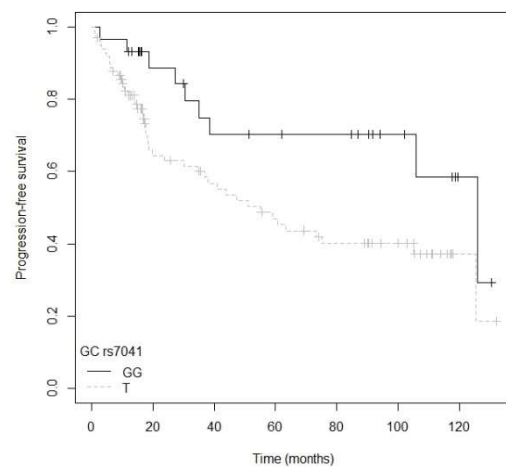
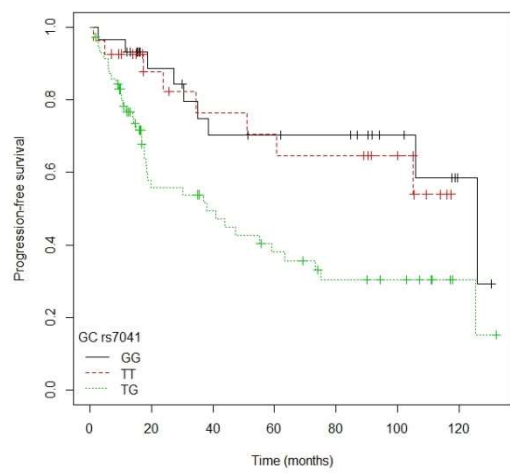


Figura 24. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el alelo GC rs7041-A en 127 pacientes CCR.



Capítulo 7: Discusión

Diferentes estudios han puesto de relevancia la posible asociación de los polimorfismos implicados en la ruta metabólica de la vitamina D y la supervivencia de los procesos oncológicos de múltiples orígenes(24, 124-26). Del mismo modo, estos SNPs podrían estar relacionados con la supervivencia en CCR, al influir en el mecanismo de progresión de la enfermedad (125, 126). Sin embargo, la evidencia científica actual sobre la relación entre los SNPs implicados en el metabolismo de la vitamina D y su papel en la supervivencia del CCR es limitada. Una de las moléculas implicadas es el VDR, que participa en procesos de interacción celular y regulación génica (127). Además, se encarga del reclutamiento de co-activadores y regulación negativa de co-represores para favorecer la acetilación de las histonas del nucleosoma y desenrollar el ADN, para dar lugar al proceso de transcripción (127-9). En la actualidad, se han identificado varios SNPs en el gen *VDR* que podrían estar relacionados con el CCR (83). De estos, tres de ellos se localizan en la región polimórfica 3', rs1544410 (BsmI) (C>T) y rs7975232 (ApaI) (C>A), en el intrón 8; y, rs731236 (TaqI) (A>G) en el exón 9 (83). Otro de los SNPs es el *VDR* rs2228570 (FokI) (A>G), ubicado en el exón 2, da lugar a una repetición de mononucleótidos que varía en longitud de 13 a 24 adenosinas (Poly A) (83). Asimismo, el SNP *VDR* rs11568820 (Cdx2) (C>T) está ubicado en la región promotora del gen, y podría influir en el factor de transcripción CDX (83). Nuestro estudio incluyó 123 pacientes caucásicos (España) diagnosticados de CCR, en los que se encontró una asociación significativa entre la SG y la SLP y el SNP ***VDR* rs7975232 (ApaI)** tras el análisis multivariante. Concretamente, los pacientes portadores del genotipo alterado *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA presentaron una menor OS y SLP cuando se compararon con los portadores del alelo rs7975232 (ApaI)-C. En concordancia con nuestros resultados, encontramos un meta-análisis realizado en 1588 pacientes de diferentes etnias (USA, Taiwan y China) diagnosticados de cáncer, en el que se asoció a los pacientes portadores del genotipo *VDR* rs7975232 (ApaI)-AA con una menor supervivencia global ($p = 0.0001$, HR = 1.77, IC95% = 0.79 – 2.75; $I^2 = 0.95$; AA vs. CC), así como, con un aumento del riesgo de progresión de la enfermedad ($p < 0.05$; HR = 1.29, IC95% = 1.02-1.56;

$I^2 = 0$; AA vs. CC) (116). Para el **SNP VDR rs731236 (TaqI) (A>G)**, nuestros resultados arrojaron una tendencia a la asociación con la OS y la SLP, de manera que, aquellos portadores del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG presentaron menor OS y SLP frente a los portadores del alelo wild type *VDR* rs731236 (TaqI)-A. Otro estudio realizado en 1759 pacientes caucásicas (Alemania) diagnosticadas de cáncer de mama, mostró que el genotipo homocigoto alterado *VDR* rs731236 (TaqI)-GG presentaba tres veces más riesgo de muerte por la patología que las portadoras del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-AA en la cohorte estudiada ($p_{\text{trend}} = 0.0228$; HR = 2.8; IC95% = 1.1-7.2; GG vs. AA) (130). En contraposición con nuestros resultados, una investigación realizada en 893 pacientes caucásicos (Italia) diagnosticados de CCR metastásico en tratamiento con distintos esquemas de quimioterapia (FOLFIRI + Cetuximab (n = 278)/ bevacizumab (n = 522) / Irinotecan ± cetuximab (n = 93)) mostró que, para el brazo de FOLFIRI + Bevacizumab, la OS fue menor en los pacientes portadores de los genotipos *VDR* rs731236 (TaqI)-AA/AG frente a los portadores del genotipo *VDR* rs731236 (TaqI)-GG (23.7 vs. 28.8 meses. p-valor = 0.046; HR = 0.62; 95%CI = 0.39 - 0.99; GG vs. AA/AG) (94). Sin embargo, no se encontró asociación entre este SNP y la supervivencia global en los esquemas quimioterápicos estudiados (94). Otro de los SNP en *VDR* investigados en nuestro estudio ha sido el **VDR rs2228570 (FokI)**. En concreto, el genotipo wild type *VDR* rs2228570 (FokI)-AA se encontró asociado a una menor SLP cuando se comparó con los genotipos *VDR* rs2228570 (FokI)-GG y AG. Un estudio realizado por Fedirko V et al. en 1095 pacientes caucásicos (Europa) diagnosticados de CCR no encontró asociación significativa entre este polimorfismo y la supervivencia de cáncer en los pacientes analizados (p-valor = 0.27; HR = 0.81; IC95% = 0.60-1.10) (131). Otra investigación realizada en pacientes caucásicos (294 casos) (USA) diagnosticados de NSCLC (cáncer de pulmón no microcítico por sus siglas en inglés) avanzado mostró que aquellos portadores de los genotipos *VDR* rs2228570 (FokI)-AA y AG presentaron mayor riesgo de muerte (p = 0.04; HR = 1.32; 95% CI = 0.98–1.77; AG vs. GG, and p = 0.04; HR = 1.41; 95% CI = 0.96–2.07; AA vs. GG) (132). En cuanto al SNP *VDR* rs11568820 (Cdx2) se han encontrado resultados contradictorios. Un ensayo clínico realizado en 155 pacientes asiáticos (Japón) diagnosticados de NSCLC encontró asociación entre este polimorfismo y la supervivencia de los pacientes

incluidos en el estudio (133). En concreto, los individuos portadores de los genotipos *VDR* rs11568820 (Cdx2)-TT/CT presentaron una mayor SG a los 5 años cuando se compararon con los portadores del genotipo *VDR* rs11568820 (Cdx2)-CC ($p = 0,04$; HR = 0,41; IC 95 % = 0,18–0,97; TT/CT vs. CC) (132). En contraposición con estos resultados, otra investigación realizada en 194 pacientes caucásicos (España) diagnosticados de NSCLC asoció el genotipo *VDR* rs11568820 (Cdx2)-TT con una menor supervivencia global cuando se comparó con el genotipo *VDR* rs11568820 (Cdx2)-CC ($p = 0.0129$; HR = 7.43; CI95% =1.53–36.15; TT vs. CC/CT) (124). Sin embargo, en nuestro estudio no encontramos asociación entre este polimorfismo y la supervivencia de los pacientes incluidos en la cohorte. El último SNP incluido en este estudio del gen *VDR* es el *VDR* rs1544410 (BsmI). Un meta-análisis en el que se incluyeron 44165 pacientes caucásicos (Reino Unido), provenientes de 64 estudios, diagnosticados de cáncer, asoció los genotipos alterados *VDR* rs1544410 (BsmI)-TT y CT con una menor supervivencia de los pacientes cuando se compararon con el genotipo wild type *VDR* rs1544410 (BsmI)-CC ($p < 0.05$; HR=1.40, 95% CI=1.05–1.75; $I^2=0.85$; TT/CT vs. CC) (106). En esta misma línea, Liu et al. llevaron a cabo un estudio en 562 pacientes asiáticos (China), en el que asociaron los genotipos *VDR* rs1544410 (BsmI)-TT y CT con un mayor riesgo de muerte en pacientes diagnosticados de NSCLC ($p = 0.008$; HR = 1.55; 95% CI = 1.09–2.2; CT vs. CC, and $p = 0.008$; HR = 4.33; 95% CI = 1.34–14.0; TT vs. CC) (134). En nuestro estudio, no encontramos resultados significativos entre el SNP *VDR* rs1544410 (BsmI) y la OS y SLP en CCR. Los resultados obtenidos tras el análisis de los SNPs localizados en *VDR* muestran asociación entre los alelos alterados y una menor supervivencia en CCR. Estos polimorfismos podrían dar lugar a un receptor modificado, afectando a su interacción con la vitamina D (135). Por tanto, el metabolismo de la vitamina D, así como, las acciones del *VDR* se verían disminuidas, lo que podría favorecer la progresión tumoral (135-7).

El gen *CYP24A1*, situado en el brazo largo del cromosoma 20 (20q13.2), codifica la enzima 24-hidroxilasa, encargada de catabolizar el calcitriol en sus formas inactivas (138). En la actualidad, existen estudios limitados que examinan la

relación entre los SNPs **CYP24A1 rs6068816 y rs4809957** y el CCR, arrojando resultados contradictorios (69, 139). En cuanto al SNP **CYP24A1 rs6068816**, nuestro estudio ha mostrado asociación entre el genotipo alterado **CYP24A1 rs6068816-TT** y menores valores de SG y SLP tras el análisis multivariante cuando se comparó con el alelo **CYP24A1 rs6068816-C**. En esta misma línea, una investigación llevada a cabo en 146 pacientes caucásicos (España) diagnosticados de NSCLC, asoció el genotipo **CYP24A1 rs6068816-TT** con una menor supervivencia ($p = 0.0048$; HR = 3.75; CI95% = 1.49–9.41; TT vs. C) y mayor progresión de la enfermedad en pacientes no resecaados ($p = 0.0179$; HR = 2.99; CI95% = 1.21-7.45; TT vs. C) (124). Por otro lado, Gong et al. mostraron que el genotipo wild type AA del SNP **CYP24A1 rs4809957**, confería un peor pronóstico del CCR en población asiática (524 casos/595 controles) ($p < 0.05$; HR= 2.38; 95% CI = 1.30-4.37; AA vs. GG) (67). Sin embargo, en nuestro estudio no encontramos asociación significativa entre el **CYP24A1 rs4809957** y la SG y SLP. La evidencia que existe en la actualidad sobre la influencia de los SNPs en **CYP24A1** y su relación con la supervivencia en cáncer de colon es limitada. Sin embargo, se ha visto que los SNPs rs4809957 y rs6068816, localizados en regiones intrónicas, podrían afectar al proceso de empalme del ARNm en la transcripción y traducción (140). Esto podría modificar la expresión de la enzima **CYP24A1**, y, con ello, a su funcionamiento. En concreto, estos SNPs se han relacionado con un aumento de la expresión de **CYP24A**, y, por tanto, una mayor cantidad de enzima (140). Esto se traduciría en un aumento de la actividad enzimática y mayor metabolización del calcitriol, disminuyendo sus niveles plasmáticos, así como su acción antineoplásica (141). Por tanto, los pacientes portadores de alelos alterados, podrían presentar un peor pronóstico en cuanto a supervivencia en CCR (69, 140, 141).

Otra de las enzimas implicadas en la ruta metabólica de la vitamina D es el **CYP27B1**, el cual cataliza la transformación en el hígado de la 25-hydroxyvitamin D en su forma activa (1,25-dihidroxitamina D) (103). En el gen encargado de codificar esta enzima, se han encontrado algunos polimorfismos que podrían influir en su síntesis y funcionamiento. Sin embargo, en nuestro estudio no encontramos asociación entre los SNPs estudiados en el gen **CYP27B1** y la

supervivencia en CCR. En concordancia con nuestros resultados, un estudio realizado en 893 pacientes caucásicos (Italia, USA) diagnosticados de CCR metastásico no encontró asociación entre el SNP **CYP27B1 rs703842** y la SG (p-valor = 0.940) y SLP (p-valor = 0.280) en sus pacientes (94). En cuanto al SNP **CYP27B1 rs3782130**, este fue previamente estudiado en pacientes con NSCLC sin encontrar asociación con la supervivencia global (124, 142). Gong C. et al. llevaron a cabo una investigación en pacientes asiáticos (China) diagnosticados de CCR (317) en el que asociaron el genotipo wild type **CYP27B1 rs4646536-AA** con un peor pronóstico de la enfermedad en comparación con los portadores de los genotipos **CYP27B1 rs4646536-GG** y **AG** (log-rank test $P = 0.01$) (67). Sobre el **CYP27B1 rs10877012**, se encontró un estudio realizado en 542 pacientes asiáticos (China) diagnosticados de NSCLC en el que no se encontró asociación entre el **CYP27B1 rs10877012** y la SG (p-valor = 0.695; GG/TG vs. TT) (142). En la actualidad, el papel de los SNPs en la enzima CYP27B1 no está del todo claro. Algunos estudios han asociado una mayor expresión del gen, así como, una mayor diferenciación histológica del tumor, con un aumento de la SG en pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón (77, 143).

Uno de los metabolitos principales en la ruta de la vitamina D es el calcidiol, cuya síntesis es llevada a cabo por la 25-hidroxilasa (74). Esta enzima está codificada por el gen **CYP2R1**, localizado en la región 11p15.2 (74). En este gen destaca el SNP **CYP2R1 rs10741657**, previamente estudiado por su posible asociación con el pronóstico del cáncer. Tras la realización del análisis estadístico, en nuestro estudio, no encontramos asociación entre este polimorfismo y la supervivencia del CCR. En consonancia con nuestros resultados, un estudio realizado en 194 pacientes caucásicos (España) diagnosticados de NSCLC no encontró asociación cuando investigó este SNP y la OS (p-valor > 0.05) (124). Algunos estudios han relacionado el genotipo alterado **CYP2R1 rs10741657-GG** con alteraciones en los niveles plasmáticos de vitamina D y peor pronóstico del cáncer, debido a un mal funcionamiento de la enzima 25-hidroxilasa provocado por este SNP (144,145).

La secuencia peptídica de VDBP consta de 458 aminoácidos dispuestos en tres dominios (I, II y III) y puede glicosilarse en un grado variable dependiendo del genotipo (72). El gen *GC*, localizado en el cromosoma 4, responsable de su síntesis, presenta un SNP **GC rs7041**, localizado en el exón 11 (que codifica el dominio III), que podría estar implicado en la formación de los tres tipos principales de VDBP (GCF, GCS y GC2) (72). Nuestros resultados arrojan que el *GC* rs7041 presentó un impacto en la OS de nuestros pacientes. Así, los individuos portadores del alelo alterado *GC* rs7041-C mostraron menor OS, que los portadores del genotipo *GC* rs7041-AA. Asimismo, la OS y SLP fueron menores en los pacientes que presentaron el genotipo *GC* rs7041-AC. En línea con los resultados que se han mostrado en nuestro estudio, se encuentra el proyecto llevado a cabo por Pibiri F et al. realizado en población caucásica y africana (USA) diagnosticados de CCR (961 casos/ 838 controles), en el que se observó que el alelo *GC* rs7041-C estaba asociado con un peor pronóstico de CCR, afectando desfavorablemente a la supervivencia ($p = 0.059$; HR = 0.77; IC95% = 0.58-1.01; AA vs. C).(146) En contraposición con estos resultados, otra investigación realizada en 603 pacientes caucásicos (USA) con CCR, no encontró una asociación significativa entre este polimorfismo y la OS de los pacientes estudiados ($p = 0.37$; HR = 1.11; IC 95% 0.89-1.38; A vs. C) (147). La presencia del alelo alterado *GC* rs7041-C, podría dar lugar a moléculas de VDBP alteradas, o bien, a una disminución de su síntesis, y menores niveles plasmáticos (72, 148). En consecuencia, el transporte de los metabolitos activos de la vitamina D podría verse alterado, y con ello, los niveles de vitamina D (72,148). La alteración de este mecanismo de transporte podría ser una de las causas del peor pronóstico del CCR en nuestros pacientes (72, 148, 149).

Una de las fortalezas de este estudio es que ha sido realizado en una cohorte de pacientes diagnosticada de CCR en el mismo hospital, siguiendo los mismos protocolos, lo que asegura la uniformidad en la población de estudio. Sin embargo, futuros estudios en los que haya un tamaño mayor de la cohorte son necesarios para establecer la asociación y poder detectar otras variantes relacionadas con la supervivencia en CCR. Por tanto, podemos afirmar que encontramos asociación entre los SNPs implicados en el mecanismo de acción

de la vitamina D y la SG y SLP en CCR. En concreto, nuestros resultados podrían sugerir que los SNPs *VDR* rs7975232 (ApaI), *VDR* rs731236 (TaqI), *VDR* rs2228570 (FokI), *CYP24A1* rs6068816 y *GC* rs7041, y podrían actuar como predictores de supervivencia en pacientes diagnosticados de CCR. Por tanto, estos SNPs podrían emplearse, en un futuro, como biomarcadores predictivos del pronóstico de esta patología.

Capítulo 8: Conclusiones

- Los polimorfismos *VDR* rs731236 (TaqI), *VDR* rs7975232 (ApaI), así como, *GC* rs7041 y *CYP24A1* rs6068816 podrían ser un factor de riesgo atribuible a una menor Supervivencia Global y Supervivencia Libre de Progresión en pacientes caucásicos diagnosticados de Cáncer Colorrectal.
- Los pacientes con Cáncer Colorrectal portadores del SNP *VDR* rs2228570 (FokI) pueden presentar una menor Supervivencia Libre de Progresión.
- No se han encontrado relación entre los SNPs *CYP2R1* rs10741657, *CYP27B1* rs10877012, *CYP27B1* rs4646536, *CYP27B1* rs3782130, *CYP27B1* rs703842, *CYP24A1* rs4809957, *VDR* rs1544410 (BsmI) y *VDR* rs11568820 (Cdx2).

Conclusión general

- El análisis genético de los pacientes con Cáncer Colorrectal es una herramienta de futuro que nos puede establecer horizontes de manejo del proceso.

Capítulo 9: Bibliografía

1. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España [Internet]. 2022. Available from: https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49.
3. Baidoun F, Elshiw K, Elkeraie Y, Merjaneh Z, Khoudari G, Sarmini MT, et al. Colorectal Cancer Epidemiology: Recent Trends and Impact on Outcomes. *Curr Drug Targets*. 2021;22(9):998–1009.
4. European Cancer Information System. Long terms estimates of cancer incidence and mortality, for all cancers [Internet]. 2022 [cited 2022 Jul 19]. Available from: [https://ecis.jrc.ec.europa.eu/explorer.php?\\$0-4\\$1-ES\\$4-1,2\\$3-All\\$6-0,85\\$5-2020,2040\\$7-7\\$21-0\\$CLongtermChart2_4\\$X0_14-](https://ecis.jrc.ec.europa.eu/explorer.php?$0-4$1-ES$4-1,2$3-All$6-0,85$5-2020,2040$7-7$21-0$CLongtermChart2_4$X0_14-)
5. American Cancer Society. Colorectal Cancer [Internet]. 2018 [cited 2022 Aug 10]. Available from: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-o-recto/acerca/que-es-cancer-de-colon-o-recto.html>
6. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Cáncer de colon y recto [Internet]. 2020 [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/colon-recto?start=6>
7. Bufill JA. Colorectal cancer: evidence for distinct genetic categories based on proximal or distal tumor location. *Ann Intern Med*. 1990;113(10):779–88.
8. Li F ying, Lai M de. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009;10(3):219–29.
9. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Pradilla Dieste A, Cerrada E, Rodríguez Yoldi MJ. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):197.
10. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development. *N Engl J Med*. 1988;319(9):525–32.
11. Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening. *Clin Interv Aging*. 2016;11:967–76.

12. Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2020;158(2):291–302.
13. Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer. *Adv Anat Pathol*. 2020;27(1):20–6.
14. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1079–99.
15. Ahmad R, Singh JK, Wunnava A, Al-Obeed O, Abdulla M, Srivastava SK. Emerging trends in colorectal cancer: Dysregulated signaling pathways (Review). *Int J Mol Med*. 2021;47(3):14.
16. De' Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, De' Angelis N, Leandro G, Di Mario F, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Bio-Medica Atenei Parm*. 2018;89(9-S):97–101.
17. Wang X, Wang D, Liu J, Feng M, Wu X. A novel CpG-methylation-based nomogram predicts survival in colorectal cancer. *Epigenetics*. 2020;15(11):1213–27.
18. Union for International Cancer Control (UICC). TNM Classification of Malignant Tumors Eight Edition.
19. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Colorectal Cancer - Stages [Internet]. Cancer.Net. 2022 [cited 2022 Sep 21]. Available from: <https://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/stages>
20. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *The Lancet*. 2014;383(9927):1490–502.
21. American Cancer Society. Colorectal Cancer Risk Factors [Internet]. 2020 [cited 2022 Sep 15]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>
22. Sninsky JA, Shore BM, Lupu GV, Crockett SD. Risk Factors for Colorectal Polyps and Cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2022;32(2):195–213.
23. Song M, Garrett WS, Chan AT. Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer Prevention. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1244-1260.e16.
24. Ferrer-Mayorga G, Larriba MJ, Crespo P, Muñoz Terol A. Mechanisms of action of vitamin D in colon cancer. 2019 [cited 2022 Sep 19]; Available from: <https://digital.csic.es/handle/10261/188881>
25. Mondul AM, Weinstein SJ, Layne TM, Albanes D. Vitamin D and Cancer Risk and Mortality: State of the Science, Gaps, and Challenges. *Epidemiol Rev*. 2017;39(1):28–48.
26. Dimitrakopoulou VI, Tsilidis KK, Haycock PC, Dimou NL, Al-Dabhani K, Martin RM, et al. Circulating vitamin D concentration and risk of seven cancers: Mendelian randomisation study. *BMJ*. 2017;359:j4761.

27. He Y, Zhang X, Timofeeva M, Farrington SM, Li X, Xu W, et al. Bidirectional Mendelian randomisation analysis of the relationship between circulating vitamin D concentration and colorectal cancer risk. *Int J Cancer*. 2022;150(2):303–7.
28. Jeon SM, Shin EA. Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. *Exp Mol Med*. 2018;50(4):20.
29. Dou R, Ng K, Giovannucci EL, Manson JE, Qian ZR, Ogino S. Vitamin D and Colorectal Cancer: Molecular, Epidemiological, and Clinical Evidence. *Br J Nutr*. 2016;115(9):1643–60.
30. Thacher TD, Fischer PR, Singh RJ, Roizen J, Levine MA. CYP2R1 Mutations Impair Generation of 25-hydroxyvitamin D and Cause an Atypical Form of Vitamin D Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(7):E1005–13.
31. Sunkar S, Neeharika D. CYP2R1 and CYP27A1 genes: An in silico approach to identify the deleterious mutations, impact on structure and their differential expression in disease conditions. *Genomics*. 2020;112(5):3677–86.
32. Zhang L, Zou H, Zhao Y, Hu C, Atanda A, Qin X, et al. Association between blood circulating vitamin D and colorectal cancer risk in Asian countries: a systematic review and dose-response meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(12):e030513.
33. Sadeghi H, Kamaliyan Z, Mohseni R, Sahebi U, Nazemalhosseini-Mojarad E, Aghaei N, et al. Dysregulation of vitamin D synthesis pathway genes in colorectal cancer: A case-control study. *J Clin Lab Anal*. 2020;35(2):e23617.
34. Bises G, Kállay E, Weiland T, Wrba F, Wenzl E, Bonner E, et al. 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase expression in normal and malignant human colon. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc*. 2004;52(7):985–9.
35. Horváth HC, Lakatos P, Kósa JP, Bácsi K, Borka K, Bises G, et al. The candidate oncogene CYP24A1: A potential biomarker for colorectal tumorigenesis. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc*. 2010;58(3):277–85.
36. Sun H, Wang C, Hao M, Sun R, Wang Y, Liu T, et al. CYP24A1 is a potential biomarker for the progression and prognosis of human colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2016;50:101–8.
37. Sadeghi H, Nazemalhosseini-Mojarad E, Sahebi U, Fazeli E, Azizi-Tabesh G, Yassaee VR, et al. Novel long noncoding RNAs upregulation may have synergistic effects on the CYP24A1 and PFDN4 biomarker role in human colorectal cancer. *J Cell Physiol*. 2021;236(3):2051–7.

38. Sun H, Jiang C, Cong L, Wu N, Wang X, Hao M, et al. CYP24A1 Inhibition Facilitates the Antiproliferative Effect of 1,25(OH)₂D₃ Through Downregulation of the WNT/ β -Catenin Pathway and Methylation-Mediated Regulation of CYP24A1 in Colorectal Cancer Cells. *DNA Cell Biol.* 2018;37(9):742–9.
39. Wang Y, Zhu J, DeLuca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys.* 2012;523(1):123–33.
40. Shi Q, Han XP, Yu J, Peng H, Chen YZ, Li F, et al. Decreased vitamin D receptor protein expression is associated with progression and poor prognosis of colorectal cancer patients. *Int J Clin Exp Pathol.* 2020;13(4):746–55.
41. Shioiri M, Shida T, Koda K, Oda K, Seike K, Nishimura M, et al. Slug expression is an independent prognostic parameter for poor survival in colorectal carcinoma patients. *Br J Cancer.* 2006;94(12):1816–22.
42. Fan F, Samuel S, Evans KW, Lu J, Xia L, Zhou Y, et al. Overexpression of snail induces epithelial-mesenchymal transition and a cancer stem cell-like phenotype in human colorectal cancer cells. *Cancer Med.* 2012;1(1):5–16.
43. Kim YH, Kim G, Kwon CI, Kim JW, Park PW, Hahm KB. TWIST1 and SNAI1 as markers of poor prognosis in human colorectal cancer are associated with the expression of ALDH1 and TGF- β 1. *Oncol Rep.* 2014;31(3):1380–8.
44. Pereira F, Larriba MJ, Muñoz A. Vitamin D and colon cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2012;19(3):R51-71.
45. Zhang MS, Hu AH, Qiu H, Xiong HH, Chen Y. The correlation between IGF-II and Bcl-2 expression in colorectal adenocarcinoma. *Med Oncol Northwood Lond Engl.* 2012;29(2):928–32.
46. Huang CY, Weng YT, Li PC, Hsieh NT, Li CI, Liu HS, et al. Calcitriol Suppresses Warburg Effect and Cell Growth in Human Colorectal Cancer Cells. *Life Basel Switz.* 2021;11(9):963.
47. Thorne J, Campbell MJ. The vitamin D receptor in cancer. *Proc Nutr Soc.* 2008 May;67(2):115-27. doi: 10.1017/S0029665108006964. PMID: 18412986.
48. Wu X, Hu W, Lu L, Zhao Y, Zhou Y, Xiao Z, et al. Repurposing vitamin D for treatment of human malignancies via targeting tumor microenvironment. *Acta Pharm Sin B.* 2019;9(2):203–19.
49. Huang D, Lei S, Wu Y, Weng M, Zhou Y, Xu J, et al. Additively protective effects of vitamin D and calcium against colorectal adenoma incidence, malignant transformation and progression: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr Edinb Scotl.* 2020;39(8):2525–38.

50. Lee JE, Li H, Chan AT, Hollis BW, Lee IM, Stampfer MJ, et al. Circulating levels of vitamin D and colon and rectal cancer: the Physicians' Health Study and a meta-analysis of prospective studies. *Cancer Prev Res Phila Pa.* 2011;4(5):735–43.
51. Hernández-Alonso P, Boughanem H, Canudas S, Becerra-Tomás N, Fernández de la Puente M, Babio N, et al. Circulating vitamin D levels and colorectal cancer risk: A meta-analysis and systematic review of case-control and prospective cohort studies. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2021;1–17.
52. Zgaga L, Theodoratou E, Farrington SM, Din FVN, Ooi LY, Glodzik D, et al. Plasma vitamin D concentration influences survival outcome after a diagnosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2014;32(23):2430–9.
53. Vaughan-Shaw PG, Zgaga L, Ooi LY, Theodoratou E, Timofeeva M, Svinti V, et al. Low plasma vitamin D is associated with adverse colorectal cancer survival after surgical resection, independent of systemic inflammatory response. *Gut.* 2020;69(1):103–11.
54. Bao Y, Li Y, Gong Y, Huang Q, Cai S, Peng J. Vitamin D Status and Survival in Stage II-III Colorectal Cancer. *Front Oncol.* 2020;10:581597.
55. National Human Genome Research Institute. Educational resources-Polymorphism [Internet]. *Genome.gov.* [cited 2022 Sep 7]. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Polimorfismo>
56. Gómez Meda BC, Zamora Pérez AL, Sánchez Parada MG. *Biología molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud.* McGraw Hill.
57. NCBI. dbSNP [Internet]. [cited 2022 Sep 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
58. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson. *Genética en Medicina.* Elsevier España; 2016. 560 p.
59. Sugimura H. Susceptibility to human cancer: From the perspective of a pathologist. *Pathol Int.* 2016;66(7):359–68.
60. Valle L, de Voer RM, Goldberg Y, Sijrsen W, Försti A, Ruiz-Ponte C, et al. Update on genetic predisposition to colorectal cancer and polyposis. *Mol Aspects Med.* 2019;69:10–26.
61. Kupfer SS, Anderson JR, Ludvik AE, Hooker S, Skol A, Kittles RA, et al. Genetic associations in the vitamin D receptor and colorectal cancer in African Americans and Caucasians. *PloS One.* 2011;6(10):e26123.
62. Fedirko V, Mandle HB, Zhu W, Hughes DJ, Siddiq A, Ferrari P, et al. Vitamin D-Related Genes, Blood Vitamin D Levels and Colorectal Cancer Risk in Western European Populations. *Nutrients.* 2019;11(8):E1954.

63. Wen J, Li J, Liang X, Wang A. Association of Polymorphisms in Vitamin D-Metabolizing Enzymes DHCR7 and CYP2R1 with Cancer Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers*. 2021;2021:6615001.
64. Latacz M, Snarska J, Kostyra E, Wroński K, Fiedorowicz E, Savelkoul H, et al. CYP27B1 Gene Polymorphism rs10877012 in Patients Diagnosed with Colorectal Cancer. *Nutrients*. 2020;12(4):E998.
65. Jacobs ET, Van Pelt C, Forster RE, Zaidi W, Hibler EA, Galligan MA, et al. CYP24A1 and CYP27B1 Polymorphisms Modulate Vitamin D Metabolism in Colon Cancer Cells. *Cancer Res*. 2013;73(8):2563–73.
66. Chai L, Ni J, Ni X, Zhang N, Liu Y, Ji Z, et al. Association of CYP24A1 gene polymorphism with colorectal cancer in the Jiamusi population. *PLoS ONE*. 2021;16(6):e0253474.
67. Gong C, Long Z, Yu Y, Zhu L, Tian J, Li S, et al. Dietary factors and polymorphisms in vitamin D metabolism genes: the risk and prognosis of colorectal cancer in northeast China. *Sci Rep*. 2017;7(1):8827.
68. Yi C, Huang C, Wang H, Wang C, Dong L, Gu X, et al. Association study between CYP24A1 gene polymorphisms and cancer risk. *Pathol - Res Pract*. 2020;216(1):152735.
69. Chen XQ, Mao JY, Li WB, Li J, Yang H, Qian JM, et al. Association between CYP24A1 polymorphisms and the risk of colonic polyps and colon cancer in a Chinese population. *World J Gastroenterol*. 2017;23(28):5179–86.
70. Hibler EA, Klimentidis YC, Jurutka PW, Kohler LN, Lance P, Roe DJ, et al. CYP24A1 and CYP27B1 polymorphisms, concentrations of vitamin D metabolites, and odds of colorectal adenoma recurrence. *Nutr Cancer*. 2015;67(7):1131–41.
71. Zhou L, Zhang X, Chen X, Liu L, Lu C, Tang X, et al. GC Glu416Asp and Thr420Lys polymorphisms contribute to gastrointestinal cancer susceptibility in a Chinese population. *Int J Clin Exp Med*. 2012;5(1):72–9.
72. Rozmus D, Ciesielska A, Płomiński J, Grzybowski R, Fiedorowicz E, Kordulewska N, et al. Vitamin D Binding Protein (VDBP) and Its Gene Polymorphisms—The Risk of Malignant Tumors and Other Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):7822.
73. Latacz M, Rozmus D, Fiedorowicz E, Snarska J, Jarmołowska B, Kordulewska N, et al. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphism in Patients Diagnosed with Colorectal Cancer. *Nutrients*. 2021;13(1):200.
74. Dong AN, Tan BH, Pan Y, Ong CE. The CYP2R1 Enzyme: Structure, Function, Enzymatic Properties and Genetic Polymorphism. *J Pharm Pharm Sci Publ Can Soc Pharm Sci Soc Can Sci Pharm*. 2021;24:94–112.
75. Kopp TI, Vogel U, Andersen V. Associations between common polymorphisms in CYP2R1 and GC, Vitamin D intake and risk of colorectal

cancer in a prospective case-cohort study in Danes. *PloS One*. 2020;15(2):e0228635.

76. Gene - NCBI. CYP27B1 cytochrome P450 family 27 subfamily B member 1 [*Homo sapiens* (human)] [Internet]. [cited 2022 Sep 6]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1594>
77. Latacz M, Snarska J, Kostyra E, Fiedorowicz E, Savelkoul HFJ, Grzybowski R, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in 25-Hydroxyvitamin D3 1-Alpha-Hydroxylase (CYP27B1) Gene: The Risk of Malignant Tumors and Other Chronic Diseases. *Nutrients*. 2020;12(3):801.
78. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(5):342–57.
79. Marques Vidigal V, Aguiar Junior PN, Donizetti Silva T, de Oliveira J, Marques Pimenta CA, Vitor Felipe A, et al. Genetic polymorphisms of vitamin D metabolism genes and serum level of vitamin D in colorectal cancer. *Int J Biol Markers*. 2017;32(4):e441–6.
80. Vidigal VM, Silva TD, de Oliveira J, Pimenta CAM, Felipe AV, Forones NM. Polimorfismos genéticos de los genes del receptor de vitamina D (VDR), CYP27B1 y CYP24A1 y el riesgo de cáncer colorrectal. *Int J Biol Markers*. 2017;32(2):224–30.
81. Lafi ZM, Irshaid YM, El-Khateeb M, Ajlouni KM, Hyassat D. Association of rs7041 and rs4588 Polymorphisms of the Vitamin D Binding Protein and the rs10741657 Polymorphism of CYP2R1 with Vitamin D Status Among Jordanian Patients. *Genet Test Mol Biomark*. 2015;19(11):629–36.
82. Karcioğlu Batur L, Özaydın A, Maviş ME, Gürsu GG, Harbigel L, Hekim N. Vitamin-D Binding Protein Gene Polymorphisms and Serum 25-Hydroxyvitamin-D in a Turkish Population. *Metabolites*. 2021;11(10):696.
83. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev*. 2000;22(2):203–17.
84. Li C, Li Y, Gao LB, Wang YY, Zhou B, Lv ML, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Dig Dis Sci*. 2009;54(3):634–9.
85. Yaylim-Eraltan I, Arzu Ergen H, Arikan S, Okay E, Oztürk O, Bayrak S, et al. Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct*. 2007;25(6):731–7.
86. Perna L, Hoffmeister M, Schöttker B, Arndt V, Haug U, Holleczer B, et al. Vitamin D receptor polymorphism and colorectal cancer-specific and all-cause mortality. *Cancer Epidemiol*. 2013;37(6):905–7.

87. Serrano D, Gnagnarella P, Raimondi S, Gandini S. Meta-analysis on vitamin D receptor and cancer risk: focus on the role of TaqI, Apal, and Cdx2 polymorphisms. *Eur J Cancer Prev.* 2016;25(1):85–96.
88. Gnagnarella P, Raimondi S, Aristarco V, Johansson H, Bellerba F, Corso F, et al. Ethnicity as modifier of risk for Vitamin D receptors polymorphisms: Comprehensive meta-analysis of all cancer sites. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2021;158:103202.
89. Pan Z, Chen M, Hu X, Wang H, Yang J, Zhang C, et al. Associations between VDR gene polymorphisms and colorectal cancer susceptibility: an updated meta-analysis based on 39 case-control studies. *Oncotarget.* 2018;9(16):13068–76.
90. Song N, Kim K, Shin A, Park JW, Chang HJ, Shi J, et al. Colorectal cancer susceptibility loci and influence on survival. *Genes Chromosomes Cancer.* 2018;57(12):630–7.
91. He Y, Timofeeva M, Zhang X, Xu W, Li X, Din FVN, et al. Colorectal cancer risk variants rs10161980 and rs7495132 are associated with cancer survival outcome by a recessive mode of inheritance. *Int J Cancer.* 2021;148(11):2774–8.
92. Gibbs DC, Bostick RM, McCullough ML, Um CY, Flanders WD, Jenab M, et al. Association of prediagnostic vitamin D status with mortality among colorectal cancer patients differs by common, inherited vitamin D-binding protein isoforms. *Int J Cancer.* 2020;147(10):2725–34.
93. Weinstein SJ, Mondul AM, Layne TM, Yu K, Huang J, Stolzenberg-Solomon RZ, et al. Prediagnostic Serum Vitamin D, Vitamin D Binding Protein Isoforms, and Cancer Survival. *JNCI Cancer Spectr.* 2022;6(2):pkac019.
94. Berger MD, Stintzing S, Heinemann V, Cao S, Yang D, Sunakawa Y, et al. A Polymorphism within the Vitamin D Transporter Gene Predicts Outcome in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with FOLFIRI/Bevacizumab or FOLFIRI/Cetuximab. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2018;24(4):784–93.
95. Meester, R.G. et al. Optimizing colorectal cancer screening by race and sex: microsimulation analysis II to inform the American Cancer Society colorectal cancer screening guideline. *Cancer* 124, 2974-2985 (2018).
96. Simon, K. & Balchen, V. The development of colorectal cancer and success in screening. *Clinical Aging* 11, 967-976 (2016).
97. Song, M., Garrett, W.S. & Chan, A.T. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology* 148, 1244-1260. e16 (2015).
98. Takeshige, N. et al. Associations between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and colorectal cancer risk and effect modifications of

- dietary calcium and vitamin D in a Japanese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16, 2019-2026 (2015).
99. Feldman, D., Krishnan, A.V., Swami, S., Giovannucci, E. & Feldman, B.J. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature reviews cancer* 14, 342-357 (2014).
 100. Mahendra, A. et al. Vitamin D and gastrointestinal cancer. *Journal of laboratory physicians* 10, 001-005 (2018).
 101. Mondul, A.M., Weinstein, S.J., Layne, T.M. & Albanes, D. Vitamin D and cancer risk and mortality: state of the science, gaps, and challenges. *Epidemiologic reviews* 39, 28-48 (2017).
 102. Nasiri, H., Forouzandeh, M., Rasaei, M. & Rahbarizadeh, F. Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *Journal of clinical laboratory analysis* 19, 229-232 (2005).
 103. Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L. & Carmeliet, G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews* 96, 365-408 (2016).
 104. Wang, X., Wang, D., Liu, J., Feng, M. & Wu, X. A novel CpG-methylation-based nomogram predicts survival in colorectal cancer. *Epigenetics* 15, 1213-1227 (2020).
 105. Yu, K., Yang, J., Jiang, Y., Song, R. & Lu, Q. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism and colorectal cancer risk: an updated analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15, 4801-4807 (2014).
 106. Vaughan-Shaw, P. et al. The impact of vitamin D pathway genetic variation and circulating 25-hydroxyvitamin D on cancer outcome: systematic review and meta-analysis. *British journal of cancer* 116, 1092-1110 (2017).
 107. Lamprecht SA, Lipkin M. Cellular mechanisms of calcium and vitamin D in the inhibition of colorectal carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2001 Dec;952:73-87. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb02729.x. PMID: 11795445
 108. Zgaga, L. Plasma vitamin D concentration influences survival outcome after a diagnosis of colorectal cancer. (2014).
 109. Thakkestian, A. et al. Systematic review and meta-analysis of the association between β 2-adrenoceptor polymorphisms and asthma: a HuGE review. *American journal of epidemiology* 162, 201-211 (2005).
 110. Siegal, R., DeSantis, C. & Jemal, A. Colorectal cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 64, 104-117 (2014).
 111. Takeshige, N. et al. Associations between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and colorectal cancer risk and effect modifications of

- dietary calcium and vitamin D in a Japanese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16, 2019-2026 (2015).
112. Feldman, D., Krishnan, A.V., Swami, S., Giovannucci, E. & Feldman, B.J. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature reviews cancer* 14, 342-357 (2014).
 113. Rochel N, Molnár F. Structural aspects of Vitamin D endocrinology. *Mol Cell Endocrinol.* 2017 Sep 15;453:22-35. doi: 10.1016/j.mce.2017.02.046. Epub 2017 Feb 28. PMID: 28257826.
 114. Wang, X., Wang, D., Liu, J., Feng, M. & Wu, X. A novel CpG-methylation-based nomogram predicts survival in colorectal cancer. *Epigenetics* 15, 1213-1227 (2020).
 115. Yu, K., Yang, J., Jiang, Y., Song, R. & Lu, Q. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism and colorectal cancer risk: an updated analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15, 4801-4807 (2014).
 116. Touvier M, Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Riboli E, Hercberg S, Norat T. Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 May;20(5):1003-16. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1141. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21378269.
 117. Jiménez-Lara AM. Colorectal cancer: potential therapeutic benefits of Vitamin D. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(4):672-7. doi: 10.1016/j.biocel.2006.10.024. Epub 2006 Nov 3. PMID: 17157547.
 118. Weiss, J.M. et al. NCCN Guidelines® Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal, Version 1.2021. *J Natl Compr Canc Netw* 19, 1122-1132 (2021).
 119. Ochoa Mangado, E., Madoz-Gúrpide, A. & Vicente Muelas, N. Diagnóstico y tratamiento de la dependencia de alcohol. *Medicina y seguridad del trabajo* 55, 26-40 (2009).
 120. Sb, E., Dr, B., CC, C., AG, F. & FL, G. *AJCC cancer staging manual*. New York: springer 6, 347-376 (2010).
 121. Team, R.C. R: A language and environment for statistical computing. (Vienna, Austria, 2013).
 122. Purcell, S. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics* 81, 559-575 (2007).
 123. Barrett, J.C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M.J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21, 263-5 (2005).

124. Pineda Lancheros, L.E. et al. Impact of genetic polymorphisms on the metabolic pathway of vitamin d and survival in non-small cell lung cancer. *Nutrients* 13, 3783 (2021).
125. He, Y. et al. Colorectal cancer risk variants rs10161980 and rs7495132 are associated with cancer survival outcome by a recessive mode of inheritance. *International Journal of Cancer* 148, 2774-2778 (2021).
126. Song, N. et al. Colorectal cancer susceptibility loci and influence on survival. *Genes, Chromosomes and Cancer* 57, 630-637 (2018).
127. Latacz, M. et al. Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism in patients diagnosed with colorectal cancer. *Nutrients* 13, 200 (2021).
128. Dou, R. et al. Vitamin D and colorectal cancer: molecular, epidemiological and clinical evidence. *British Journal of Nutrition* 115, 1643-1660 (2016).
129. Kim H, Giovannucci E. Vitamin D Status and Cancer Incidence, Survival, and Mortality. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1268:39-52. doi: 10.1007/978-3-030-46227-7_3. PMID: 32918213.
130. Perna, L. et al. Vitamin D receptor genotype rs731236 (Taq1) and breast cancer prognosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 22, 437-42 (2013).
131. Fedirko, V. et al. Prediagnostic 25-hydroxyvitamin D, VDR and CASR polymorphisms, and survival in patients with colorectal cancer in western European populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21, 582-93 (2012).
132. Heist, R.S. et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D, VDR polymorphisms, and survival in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 26, 5596-602 (2008).
133. Akiba, T. et al. Vitamin D Supplementation and Survival of Patients with Non-small Cell Lung Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Cancer Res* 24, 4089-4097 (2018).
134. Liu, Y. et al. Plasma vitamin D levels and vitamin D receptor polymorphisms are associated with survival of non-small cell lung cancer. *Chinese Journal of Cancer Research* 23, 33 (2011).
135. Chakraborty, M. et al. FokI polymorphism of Vitamin D receptor gene and deficiency of serum Vitamin D increases the risk of breast cancer in North Indian women. *Endocrine* (2023).
136. Nam, S.E. & Jin, T. Vitamin D receptor (VDR) mRNA overexpression is associated with poor prognosis in breast carcinoma. 103, 183-194 (2022).
137. Messaritakis, I. et al. Investigation of Microbial Translocation, TLR and VDR Gene Polymorphisms, and Recurrence Risk in Stage III Colorectal Cancer Patients. 14(2022).

138. Wang, P., Zhang, H., Zhang, Z., Qin, L. & Li, B. Association of the CYP24A1-rs2296241 polymorphism of the vitamin D catabolism enzyme with hormone-related cancer risk: a meta-analysis. *Onco Targets Ther* 8, 1175-83 (2015).
139. Yi, C. et al. Association study between CYP24A1 gene polymorphisms and cancer risk. *Pathology-Research and Practice* 216, 152735 (2020).
140. Zeng, R. et al. Association of CYP24A1 with survival and drug resistance in clinical cancer patients: a meta-analysis. *BMC Cancer* 22, 1317 (2022).
141. Chen, G. et al. CYP24A1 is an independent prognostic marker of survival in patients with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 17, 817-26 (2011).
142. Kong, J. et al. Genetic polymorphisms in the vitamin D pathway in relation to lung cancer risk and survival. *Oncotarget* 6, 2573-82 (2015).
143. Ramagopalan, S.V. et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome Res* 20, 1352-60 (2010).
144. Nissen, J. et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults. *PLoS One* 9, e89907 (2014).
145. Slater, N.A., Rager, M.L., Havrda, D.E. & Harralson, A.F. Genetic Variation in CYP2R1 and GC Genes Associated With Vitamin D Deficiency Status. *J Pharm Pract* 30, 31-36 (2017).
146. Pibiri, F. et al. Genetic variation in vitamin D-related genes and risk of colorectal cancer in African Americans. *Cancer Causes & Control* 25, 561-570 (2014).
147. Yuan, C. et al. Prediagnostic Circulating Concentrations of Vitamin D Binding Protein and Survival among Patients with Colorectal Cancer. 29, 2323-2331 (2020).
148. Chun, R.F. New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell Biochem Funct* 30, 445-56 (2012).
149. Weinstein, S.J. & Mondul, A.M. Prediagnostic Serum Vitamin D, Vitamin D Binding Protein Isoforms, and Cancer Survival. 6(2022).

Capítulo 10: Figuras y tablas

Índice de figuras

Figura 1. Subtipos anatómicos de CCR y su asociación con las características moleculares del tumor y otros factores	15
Figura 2. Secuencia adenoma-carcinoma y vías moleculares involucradas en el CCR	17
Figura 3. Mecanismos de carcinogénesis colorrectal asociados a la dieta	23
Figura 4. Obtención y metabolismo de la vitamina D	24
Figura 5. Acciones antitumorales de la vitamina D en el CCR	32
Figura 6. Ejemplos de polimorfismos	35
Figura 7. Estructura del gen CYP27B1 y SNP más frecuentemente asociados al CCR	39
Figura 8. Estructura del gen VDR y polimorfismos más frecuentemente asociados al CCR	44
Figura 9. Desequilibrio de igamiento	60
Figura 10. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo VDR rs7975232 (ApaI)-C en 127 pacientes CCR	63
Figura 11. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo VDR rs7975232 (ApaI)-AA en 127 pacientes CCR	63
Figura 12. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo VDR rs731236 (TaqI)-GG en 127 pacientes CCR	63
Figura 13. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo VDR rs731236 (TaqI)-A en 127 pacientes CCR	63
Figura 14. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo CYP24A1 rs6068816-C en 127 pacientes CCR	64
Figura 15. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el alelo GC rs7041-C en 127 pacientes CCR	64
Figura 16. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia global con el genotipo GC rs7041-AC en 127 pacientes CCR	64
Figura 17. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo VDR rs2228570 (FokI)-AG en 127 pacientes CCR	67
Figura 18. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el alelo VDR rs2228570 (FokI)-G en 127 pacientes CCR	67
Figura 19. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo VDR rs7975232 (ApaI)-AA en 127 pacientes CCR	68
Figura 20. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo VDR rs731236 (TaqI)-GG en 127 pacientes CCR	68
Figura 21. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo CYP24A1 rs6068816-TT en 127 pacientes CCR	68

Figura 22. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo CYP24A1 rs6068816-TT en 127 pacientes CCR.....	68
Figura 23. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el genotipo GC rs7041-CC en 127 pacientes CCR.....	69
Figura 24. Gráfica de Kaplan–Meier de las curvas de supervivencia libre de progresión con el alelo GC rs7041-A en 127 pacientes CCR.....	69

Índice de tablas

Tabla 1. Diferentes grupos pronósticos en la estadificación del CCR basados en el sistema de clasificación TNM.....	21
Tabla 2. Resumen de los factores de riesgo en el CCR	21
Tabla 3. SNP más frecuentemente asociados al metabolismo de la vitamina D y con implicación en el CCR.....	36
Tabla 4. Estudios que relacionan a los SNP rs6068816 y rs4809957 y el CCR	41
Tabla 5. SNP de GC más frecuentemente asociados con el CCR	43
Tabla 6. Polimorfismos analizados y TaqMan ID utilizados.....	53
Tabla 7. Características clínico-patológicas y demográficas de 127 pacientes con CCR.....	57
Tabla 8. Influencia de los polimorfismos y las características clínicas en la supervivencia global de pacientes con CCR.....	62
Tabla 9. Influencia de los polimorfismos y las características clínicas en la supervivencia libre de progresión de 127 pacientes con CCR.....	66

Capítulo 11: Producción científica

Single Nucleotide Polymorphisms in the Vitamin D Metabolic Pathway as Survival Biomarkers in Colorectal Cancer

Carmen Pérez-Durán, Noelia Márquez-Pete, José María Gálvez-Navas, Yasmin Cura, Susana Rojo-Tolosa, Laura Elena Pineda-Lancheros, MCarmen Ramírez-Tortosa, Carlos García-Collado, María del Mar Maldonado-Montoro, Jesús María Villar-del-Moral, Cristina Pérez-Ramírez and Alberto Jiménez-Morales

Abstract: Several studies have suggested that single nucleotide polymorphisms (SNPs) related to vitamin D metabolism may affect CRC carcinogenesis and survival. The aim of this study was to evaluate the influence of 13 SNPs involved in the vitamin D metabolic pathway on CRC survival. We conducted an observational retrospective cohort study, which included 127 Caucasian CRC patient from the south of Spain. SNPs in VDR, CYP27B1, CYP2R1, CYP24A1, and GC genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction. Progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) were assessed. Cox regression analysis adjusted for metastasis, age of diagnosis, stage (IIIB, IV or IVB), ECOG score (2–4), lymph node involvement, adjuvant chemotherapy, and no family history of CRC showed that the VDR Apal ($p = 0.036$), CYP24A1 rs6068816 ($p < 0.001$), and GC rs7041 ($p = 0.006$) were associated with OS in patients diagnosed with CRC, and CYP24A1 rs6068816 ($p < 0.001$) was associated with PFS adjusted for metastasis, age of diagnosis, stage (IIIB, IV or IVB), ECOG score (2–4), lymph node involvement, adjuvant chemotherapy, and no primary tumor resection. The rest of the SNPs showed no association with CRC survival. Thus, the SNPs mentioned above may have a key role as prognostic biomarkers of CRC.

Resumen: Varios estudios han sugerido que los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) relacionados con El metabolismo de la vitamina D puede afectar la carcinogénesis y la supervivencia del CCR. El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de 13 SNP implicados en la vía metabólica de la vitamina D en la supervivencia del CCR. Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo observacional, que incluyó a 127 pacientes caucásicos con CCR del sur de España. Se analizaron los SNP en los genes VDR, CYP27B1, CYP2R1, CYP24A1 y GC mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Se analizaron la Supervivencia libre de progresión (SSP) y supervivencia general (SG), mediante el análisis de regresión de Cox ajustado por metástasis, edad de diagnóstico, estadio (IIIB, IV o IVB), puntuación ECOG (2-4), afectación de los ganglios linfáticos, quimioterapia adyuvante y sin antecedentes familiares de El CRC mostró que el VDR Apal ($p = 0,036$), CYP24A1 rs6068816 ($p < 0,001$) y GC rs7041 ($p = 0,006$) se asociaron con la SG en pacientes diagnosticados con CCR, y CYP24A1 rs6068816 ($p < 0,001$) fue asociado con PFS ajustada por metástasis, edad de diagnóstico, estadio (IIIB, IV o IVB), puntuación ECOG (2–4), afectación de los ganglios linfáticos, quimioterapia adyuvante y ninguna resección del tumor primario. El resto de los SNP no mostraron asociación con la supervivencia del CCR. Por lo tanto, los SNP mencionados anteriormente pueden tener un papel clave como biomarcadores pronósticos del CCR.



Article

Single Nucleotide Polymorphisms in the Vitamin D Metabolic Pathway as Survival Biomarkers in Colorectal Cancer

Carmen Pérez-Durán ¹, Noelia Márquez-Pete ^{2,3,*}, José María Gálvez-Navas ^{3,4,5,6,*}, Yasmin Cura ^{2,3}, Susana Rojo-Tolosa ^{2,6,7}, Laura Elena Pineda-Lancheros ^{2,3}, MCarmen Ramírez-Tortosa ⁶, Carlos García-Collado ^{2,3}, María del Mar Maldonado-Montoro ², Jesús María Villar-del-Moral ¹, Cristina Pérez-Ramírez ^{3,6,†} and Alberto Jiménez-Morales ^{2,3,†}

- ¹ General Surgery and Digestive System Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Avda. de las Fuerzas Armadas 2, 18004 Granada, Spain; carmenpereduran@yahoo.es (C.P.-D.); jesum.villar.sepa@juntadeandalucia.es (J.M.V.-d.-M.)
 - ² Pharmacogenetics Unit, Pharmacy Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Avda. de las Fuerzas Armadas 2, 18004 Granada, Spain; eyacura@go.ugr.es (Y.C.); susanarotolosa@gmail.com (S.R.-T.); lepineda@unaledu.co (L.E.P.-L.); carlos.garcia.sepa@juntadeandalucia.es (C.G.-C.); mariadelmarmaldonadomontoro@gmail.com (M.d.M.M.-M.); alberto.jimenez.morales.sepa@juntadeandalucia.es (A.J.-M.)
 - ³ Biosanitary Research Institute ibs.GRANADA, Avda. de Madrid 15, 18012 Granada, Spain; cperazramirez87@ugr.es
 - ⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), 28029 Madrid, Spain
 - ⁵ Cancer Registry of Granada, Andalusian School of Public Health, Cuesta del Observatorio 4, 18011 Granada, Spain
 - ⁶ Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Faculty of Pharmacy, Campus Universitario de Cartuja, University of Granada, 18011 Granada, Spain; mramirez@ugr.es
 - ⁷ Pneumology Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Avda. de las Fuerzas Armadas 2, 18004 Granada, Spain
- * Correspondence: noeliamarquezpete@gmail.com (N.M.-P.); jmaria.galvez.easp@juntadeandalucia.es (J.M.G.-N.)
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Pérez-Durán, C.;

Márquez-Pete, N.; Gálvez-Navas,

J.M.; Cura, Y.; Rojo-Tolosa, S.;

Pineda-Lancheros, L.E.;

Ramírez-Tortosa, M.; García-Collado,

C.; Maldonado-Montoro, M.d.M.;

Villar-del-Moral, J.M.; et al. Single

Nucleotide Polymorphisms in the

Vitamin D Metabolic Pathway as

Survival Biomarkers in Colorectal

Cancer. *Cancers* 2023, 15, 4077.[https://doi.org/10.3390/](https://doi.org/10.3390/cancers15164077)[cancers15164077](https://doi.org/10.3390/cancers15164077)

Academic Editor: David Wong

Received: 25 June 2023

Revised: 29 July 2023

Accepted: 10 August 2023

Published: 12 August 2023



Copyright: © 2023 by the authors.

Licensee: MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article

distributed under the terms and

conditions of the Creative Commons

Attribution (CC BY) license ([https://creativecommons.org/licenses/by/](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

4.0/).

Simple Summary: Colorectal cancer is one of the leading neoplasms in mortality worldwide. Recent studies suggest that vitamin D might influence the development of colorectal cancer and its prognosis. Furthermore, vitamin D activity might be influenced by the presence of single nucleotide polymorphisms in the genes involved in its metabolism. Thus, the aim of this study was to evaluate the influence of 13 SNPs in the vitamin D metabolic pathway on colorectal cancer survival. The results of the study showed that variants in *VDR*, *CYP24A1*, and *GC* genes are associated with a lower survival rate.

Abstract: Several studies have suggested that single nucleotide polymorphisms (SNPs) related to vitamin D metabolism may affect CRC carcinogenesis and survival. The aim of this study was to evaluate the influence of 13 SNPs involved in the vitamin D metabolic pathway on CRC survival. We conducted an observational retrospective cohort study, which included 127 Caucasian CRC patient from the south of Spain. SNPs in *VDR*, *CYP27B1*, *CYP2R1*, *CYP24A1*, and *GC* genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction. Progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) were assessed. Cox regression analysis adjusted for metastasis, age of diagnosis, stage (IIIB, IV or IVB), ECOG score (2–4), lymph node involvement, adjuvant chemotherapy, and no family history of CRC showed that the *VDR* Apal ($p = 0.036$), *CYP24A1* rs6068816 ($p < 0.001$), and *GC* rs7041 ($p = 0.006$) were associated with OS in patients diagnosed with CRC, and *CYP24A1* rs6068816 ($p < 0.001$) was associated with PFS adjusted for metastasis, age of diagnosis, stage (IIIB, IV or IVB), ECOG score (2–4), lymph node involvement, adjuvant chemotherapy, and no primary tumor resection. The rest of the SNPs showed no association with CRC survival. Thus, the SNPs mentioned above may have a key role as prognostic biomarkers of CRC.