UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Caracterización de la microbiota oral e intestinal en individuos con síndrome de poliposis serrada

LARA AGUILERA CASTRO

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=es

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license: https://creativecommons.org/licenses/?lang=en

Tesis Doctoral 2026

Caracterización de la microbiota oral e intestinal en individuos con síndrome de poliposis serrada

Lara Aguilera Castro

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

Caracterización de la microbiota oral e intestinal en individuos con síndrome de poliposis serrada

Tesis doctoral presentada por
Lara Aguilera Castro
Para optar al grado de doctora

Directores:
Dra. Natalia Borruel Sainz
Dr. Francisco Guarner Aguilar
Tutor:
Dr. Lluís Castells Fusté

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
Universidad Autónoma de Barcelona
Barcelona, 2026

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que han hecho posible esta tesis doctoral.

En primer lugar, a los pacientes y participantes, cuya generosidad y disposición han sido fundamentales para la realización de este trabajo.

A las personas esenciales en mi vida, cuyo apoyo incondicional ha sido mi mayor fortaleza en este largo camino:

Javi, por ser mi pilar en la vida, por tu paciencia y tus ánimos en los momentos difíciles.

Mis hijas, Vega y Candela, con la esperanza de que todo este esfuerzo os pueda servir de inspiración.

A mi madre, por ser un ejemplo de vida, no solo como madre, sino también como persona y profesional.

A mi hermana, mis sobrinos y Aida, por vuestro amor incondicional y por estar siempre a mi lado.

A mis abuelos, por enseñarme el valor de nuestro origen.

A Olga, Elisa y Ana, por vuestra amistad infinita y por todos los momentos compartidos.

A Encarna, por tu paciencia, cariño y enseñanzas.

A mis tutores de tesis, Pancho y Natalia, por guiarme en este proceso y compartir conmigo su conocimiento y experiencia.

Al equipo del laboratorio del VHIR, por su apoyo constante y por resolver mis dudas desde el primer día, especialmente a Zaida, Marc, Elba, Ana y Fran.

A Anna Accarino, por demostrarme que se puede liderar con humildad y corazón; eres un referente como persona y como profesional.

A Fernando Azpiroz, por confiar en mí y brindarme siempre tu ayuda.

A mis compañeros del Servicio de Digestivo del Hospital Vall d'Hebron, especialmente a las enfermeras Elena y Zahira.

A mis amigos del Hospital Ramón y Cajal, donde me formé, un lugar que siempre traerá a mi memoria los mejores recuerdos y sonrisas.

A mis amigas de la universidad, con vosotras empezó todo, gracias por vuestro apoyo.

A todos, gracias por formar parte de este camino y por haber dejado una marca imborrable en cada etapa de mi vida.

ABREVIATURAS

16S rARN 16S del ARN ribosomal

AAS Ácido acetilsalicílico

ADN Ácido desoxirribonucleico

AGCC Ácidos grasos de cadena corta

AINEs Antiinflamatorios no esteroideos

ARN Ácido ribonucleico

AST Adenomas serrados tradicionales

AUC Área bajo la curva (del inglés, *Area Under the Curve*)

CCR Cáncer colorrectal

CFCA Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

CIMP Fenotipo metilador de islas CpG (del inglés, *CpG island methylator phenotype*)

CIMP-A Fenotipo metilador de islas CpG de alto nivel (del inglés, *CpG island methylator phenotype-high*)

CIMP-B Fenotipo metilador de islas CpG de bajo nivel (del inglés, *CpG island methylator phenotype-low*)

CIN Inestabilidad cromosómica (del inglés, *chromosomal instability*)

CMS Consenso molecular de subtipos

DE Desviación estándar

EGFR Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (del inglés, *Epidermal Growth Factor Receptor*)

EMS Estabilidad de microsatélites

ESGE Sociedad Europea de Endoscopia Gastrointestinal (del inglés, *European Society of Gastrointestinal Endoscopy*)

FDR Tasa de descubrimiento falso (del inglés *False Discovery Rate*)

FEAST Rastreo rápido de fuentes microbianas por expectativa-maximización (del inglés, *fast expectaction–maximization microbial source tracking*)

FISH Hibridación in situ con fluorescencia (del inglés, *Fluorescence In Situ Hybridization*)

F. nucleatum *Fusobacterium nucleatum*

HTA Hipertensión arterial

HBEGF Factor de crecimiento similar al EGF con unión a la heparina (del inglés, *Heparin-Binding EGF-like Growth Factor*)

HBUS Sistema de sobreexpresión de HBEGF (del inglés, *HBEGF Upregulated System*)

IBP Inhibidores de la bomba de protones

IC Intervalo de confianza

IMS Inestabilidad de microsatélites

LSS Lesiones serradas sésiles

MAPKs Proteínas quinasas activadas por mitógenos (del inglés, *mitogen-activated protein kinases*)

MGMT O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa

MMP3 Metaloproteinasa de Matriz 3

MMR Reparadores de errores de apareamiento (del inglés *mismatch repair*)

NAD Nicotinamida adenina dinucleótido

NGS Secuenciación de próxima generación (del inglés *next generation sequencing*)

OMS Organización Mundial de la Salud

OTU Unidad Taxonómica Operativa

Pb Pares de bases

PCoA Análisis de coordenadas principales

PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa (del inglés, *Polymerase Chain Reaction*)

PDGFRA Receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (del inglés: *Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha)*

PH Pólipos hiperplásicos

PI3KCA Subunidad catalítica alfa p110 del PI3K (del inglés, *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha*)

PVPP Polivinilpolipirrolidona

QIIME del inglés, *Quantitative Insights Into Microbial Ecology*

qPCR Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa

REDCap del inglés, *Research Electronic Data Capture*

RIC Rango intercuartílico

SPS Síndrome de poliposis serrada

T. denticola *Treponema denticola*

Tris-EDTA Ácido etilendiaminotetraacético

TMAO Trimetilamina-N-óxido

UPGMA del inglés, *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*

VHIR Vall d'Hebron Institut de Recerca

VSA Variante de Secuencia de Amplición

YAP Proteína asociada a Yes

ÍNDICE

SUMMARY 15

RESUMEN 17

1. INTRODUCCIÓN 19

1.1. **Cáncer colorrectal** **21**

1.1.1 Incidencia y mortalidad 21

1.1.2 Factores de riesgo 23

1.1.3 Lesiones precursoras 24

1.1.4 Carcinogénesis del cáncer colorrectal 27

1.1.5. Diagnóstico del cáncer colorrectal y sus lesiones precursoras 32

1.2. **Síndrome de poliposis serrada** **33**

1.2.1 Epidemiología 33

1.2.2 Criterios diagnósticos 33

1.2.3 Etiopatogenia 34

1.2.4 Riesgo y carcinogénesis de cáncer colorrectal 35

1.2.5 Manejo 36

1.3. **Microbiota** **37**

1.3.1 Técnicas utilizadas para caracterizar la microbiota 37

1.3.2 Composición de la microbiota oral 42

1.3.2.1 Cáncer colorrectal y microbiota oral 43

1.3.2.2 Lesiones precursoras del cáncer colorrectal y microbiota oral 45

1.3.3 Composición de la microbiota intestinal 46

1.3.3.1 Cáncer colorrectal y microbiota intestinal 48

1.3.3.2 Lesiones precursoras del cáncer colorrectal y microbiota intestinal 51

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS 57

3. OBJETIVOS 61

4. MÉTODOS 65

4.1. Diseño del estudio 67

4.2. Aspectos éticos y cumplimiento de la legislación vigente 68

4.3. Recogida de datos y muestras 69

4.4. Extracción de ADN 71

4.5. Secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA 72

4.5.1 Amplificación del gen 16S rRNA (generación de amplicones) 72

4.5.2 Cuantificación y cualificación de los resultados de PCR 73

4.5.3 Preparación de biblioteca de secuenciación y secuenciación Illumina 73

4.5.4 Depuración de VSAs y anotación de especies 74

4.6. PCR cuantitativa para Fusobacterium nucleatum 75

4.7. Análisis estadístico 76

5. RESULTADOS 79

5.1. Descripción de la población 81

5.2. Diferencias en la composición de la microbiota oral e intestinal entre los grupos mediante secuenciación 16S rRNA 87

5.2.1 Diversidad alfa y beta 88

5.2.1.1. Microbiota oral 88

5.2.1.2 Microbiota intestinal 93

5.2.2 Diferencias en la taxonomía bacteriana entre grupos 97

5.2.2.1 Microbiota oral 97

5.2.2.2 Microbiota intestinal 102

5.2.3 Asociación entre las variables clínicas y la microbiota 105

5.2.4 Comparación de microbiota oral e intestinal 109

5.2.4.1 Oralización de la microbiota intestinal 110

5.2.4.2 Correlación entre la microbiota oral e intestinal 113

5.3. Abundancia de Fusobacterium nucleatum en saliva y heces calculado mediante qPCR 115

6. DISCUSIÓN **117**

7. CONCLUSIONES **129**

8. PERSPECTIVAS FUTURAS **133**

9. BIBLIOGRAFÍA **137**

10. ANEXOS **163**

10.1. ANEXO 1. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA) 165

10.2. ANEXO 2. Archivo fotográfico 167

SUMMARY

Introduction: Serrated polyposis syndrome (SPS) is the most common form of colorectal polyposis, characterized by the presence of multiple serrated lesions in the colon and rectum, and associated with an increased risk of colorectal cancer (CRC) compared with the general population. Although some genetic and environmental factors have been identified in association with the syndrome, its etiopathogenesis remains unclear. Microbiota studies have shown that *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) and other oral cavity species are implicated in colorectal oncogenesis. We hypothesized that patients with SPS present a characteristic oral and gut dysbiosis, which may play a role in the etiopathogenesis of the syndrome. To date, the oral and gut microbiota of these individuals have not been jointly characterized.

Objectives: The primary aim of this study is to characterize the oral and gut microbiota of patients with SPS and compare it with that of individuals with serrated lesions, adenomas, and polyp-free controls. The study seeks to identify specific microbial alterations associated with SPS and to assess the potential correlation between oral and gut microbiota in these patients.

Methods: We conducted a prospective, case–control study in which individuals with SPS (n=32), serrated lesions (n =30), adenomas (n =32), and polyp-free controls (n =32) were recruited. Saliva and stool samples were collected for microbiota analysis through 16S rRNA gene sequencing and quantitative PCR for *F. nucleatum*. In addition, clinical, dietary, dental health, and pharmacological data were collected from participants. Microbial diversity, taxonomic composition, and the relationship between oral and gut microbiota were evaluated across the study groups.

Results: The SPS group showed a higher prevalence of smoking. These individuals did not exhibit a significant reduction in oral microbiota alpha diversity; however, they did show alterations in microbial composition compared with the other groups. In this group, an increased abundance of oral bacteria associated with serrated pathway CRC and periodontal disease was observed, including *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. Regarding gut microbiota, the SPS group presented lower alpha diversity-measured by the Simpson index-compared with polyp-free individuals. Significant differences in bacterial composition were also identified between the SPS group and the adenoma and control groups. No significant differences in *F. nucleatum* abundance were found between groups, either in saliva or stool.

Conclusions: This study confirms the presence of specific alterations in the oral and gut microbiota of patients with SPS, distinct from those in polyp-free individuals and in patients with serrated lesions or adenomas. The oral microbiota of SPS patients showed an increased abundance of bacteria associated with CRC and periodontal disease, such as *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. Together with the high prevalence of smoking in this group, these findings suggest that periodontal disease and smoking may contribute to the pathogenesis of SPS through oral dysbiosis.

RESUMEN

Introducción: El síndrome de poliposis serrada (SPS) es la forma más frecuente de poliposis colorrectal, caracterizada por la presencia de múltiples lesiones serradas en el colon y recto, y asociada a un mayor riesgo de desarrollo de cáncer colorrectal (CCR) respecto a la población general. A pesar de que se han identificado algunos factores genéticos y ambientales asociados al síndrome, su etiopatogenia no ha sido completamente esclarecida. Los estudios sobre microbiota han demostrado que *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) y otras especies típicas de la cavidad oral están implicadas en la oncogénesis colorrectal. Hipotetizamos que los pacientes con SPS presentan una disbiosis oral e intestinal característica y que esta podría desempeñar un papel en la etiopatogenia del síndrome. Hasta la fecha, no se han caracterizado de forma conjunta la microbiota oral e intestinal en estos individuos.

Objetivos: El objetivo principal de este estudio es caracterizar la microbiota oral e intestinal de pacientes con SPS y compararla con la de individuos con lesiones serradas, adenomas y controles sin pólipos. Se busca identificar alteraciones microbianas específicas asociadas al SPS y evaluar la posible correlación entre la microbiota oral e intestinal en estos pacientes.

Métodos: Se diseñó un estudio de casos y controles, prospectivo, en el que se reclutaron individuos con SPS (n=32), lesiones serradas (n=30), adenomas (n=32) y controles sin pólipos (n=32). Se recogieron muestras de saliva y heces para el análisis de la microbiota mediante secuenciación del gen 16S rRNA y la realización de PCR cuantitativa de *F. nucleatum*. Además, se recopilaron datos clínicos, dietéticos, de salud dental y farmacológicos de los participantes. Se evaluó la diversidad microbiana, la composición taxonómica y la relación entre la microbiota oral e intestinal en los diferentes grupos de estudio.

Resultados: El grupo SPS presentó una mayor prevalencia de tabaquismo. Estos individuos no mostraron una reducción significativa en la diversidad alfa de la microbiota oral; sin embargo, sí presentaron una alteración en su composición microbiana en comparación con los demás grupos. En este mismo grupo se observó un aumento en la abundancia de bacterias orales vinculadas tanto al CCR de la vía serrada como a la enfermedad periodontal, entre ellas *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. En cuanto a la microbiota intestinal, el grupo SPS presentó una menor diversidad alfa -evaluada mediante el índice de Simpson- frente a los individuos sin pólipos. Asimismo, se identificaron diferencias significativas en la composición bacteriana entre el grupo SPS y los grupos adenoma y control. No se encontraron diferencias significativas en la abundancia de *F. nucleatum* entre los grupos, ni en saliva ni en heces.

Conclusiones: Este estudio confirma la presencia de alteraciones en la microbiota oral e intestinal de pacientes con SPS específica y distinta a la de los individuos sin pólipos y aquellos con lesiones serradas y adenomas. La microbiota oral de los pacientes con SPS muestra un aumento de bacterias asociadas con el CCR y la enfermedad periodontal, como *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Este hecho junto con la alta prevalencia de tabaquismo en este grupo, sugiere que la enfermedad periodontal y el tabaquismo podrían contribuir a la patogenia del SPS a través de la disbiosis oral.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Cáncer colorrectal

1.1.1 Incidencia y mortalidad

El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer carcinoma más frecuente del mundo, por detrás del cáncer de pulmón y de mama; y el segundo más mortal, después del de pulmón. En el año 2022 se diagnosticaron más de 1,9 millones de nuevos casos de CCR en todo el mundo, lo que supone el 9,6% del global de nuevos diagnósticos de cáncer considerando ambos sexos (**figura 1**) [1].

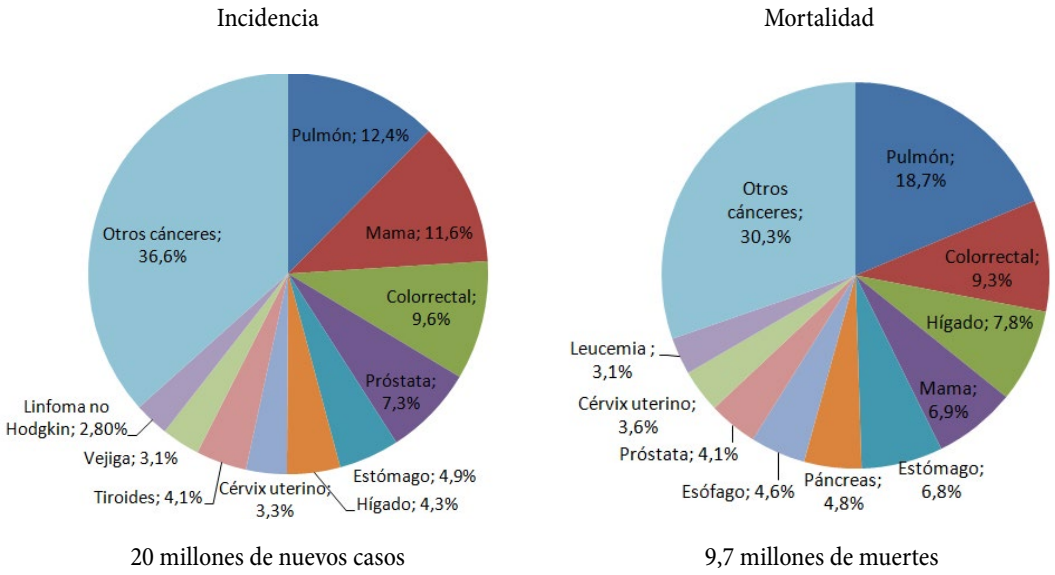
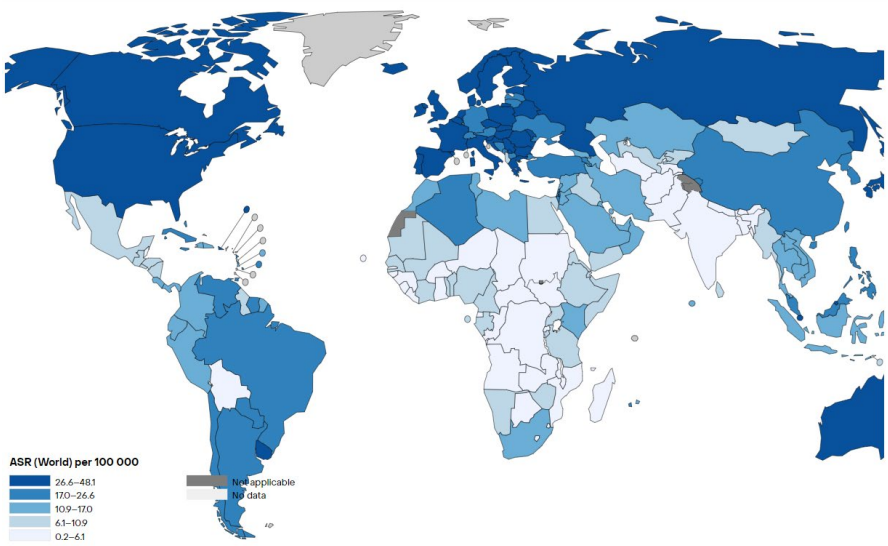


Figura 1. Distribución de los tumores más frecuentemente diagnosticados y con mayor mortalidad en el mundo en 2022.

Fuente: GLOBOCAN 2022 [1].

La incidencia de CCR es 4 veces mayor en países desarrollados que en países en vías de desarrollo [1]. Las mayores tasas de incidencia de cáncer de colon se encuentran en regiones de Europa, Australia, y Norteamérica. La incidencia de cáncer rectal tiene una distribución similar a la del colon, aunque la tasa es mayor en el Sudeste Asiático. Las tasas más bajas tanto de colon como recto se encuentran en África y Asia del Sur-Central (**figura 2**).

Incidencia por cada 100.000 casos de CCR en ambos sexos



Mortalidad por cada 100.000 casos de CCR en ambos sexos

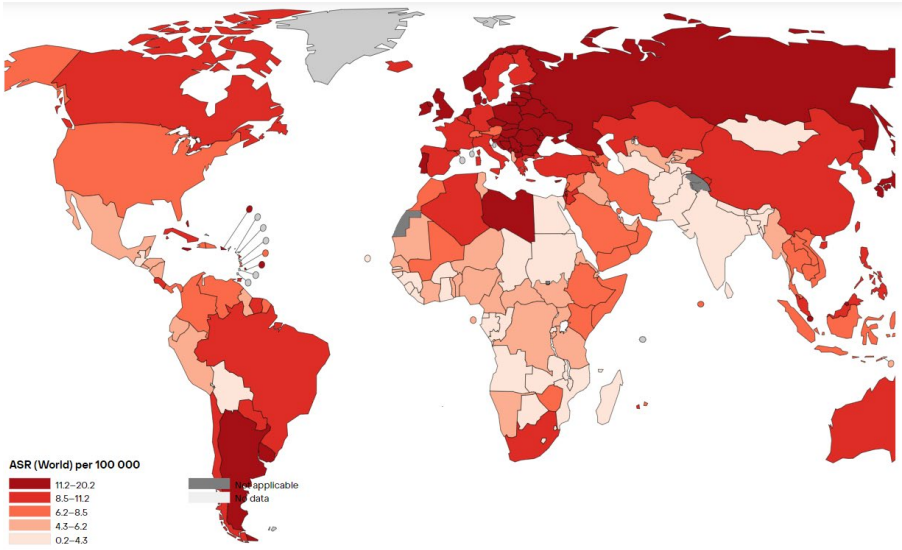


Figura 2. Distribución mundial de las tasas estandarizadas por edad de incidencia y mortalidad de cáncer de colorrectal, en 2022.

CCR: cáncer colorrectal.
Fuente: GLOBOCAN 2022 [1].

En España, se estima que en 2025 el CCR será el cáncer más frecuente diagnosticado, con un total de 44.573 nuevos casos (30.311 de colon y 14.262 de recto) (**figura 3**) [2]. Por sexos, el CCR será el segundo tumor con mayor incidencia: en hombres, por detrás del de próstata; y en mujeres, por detrás del de mama.

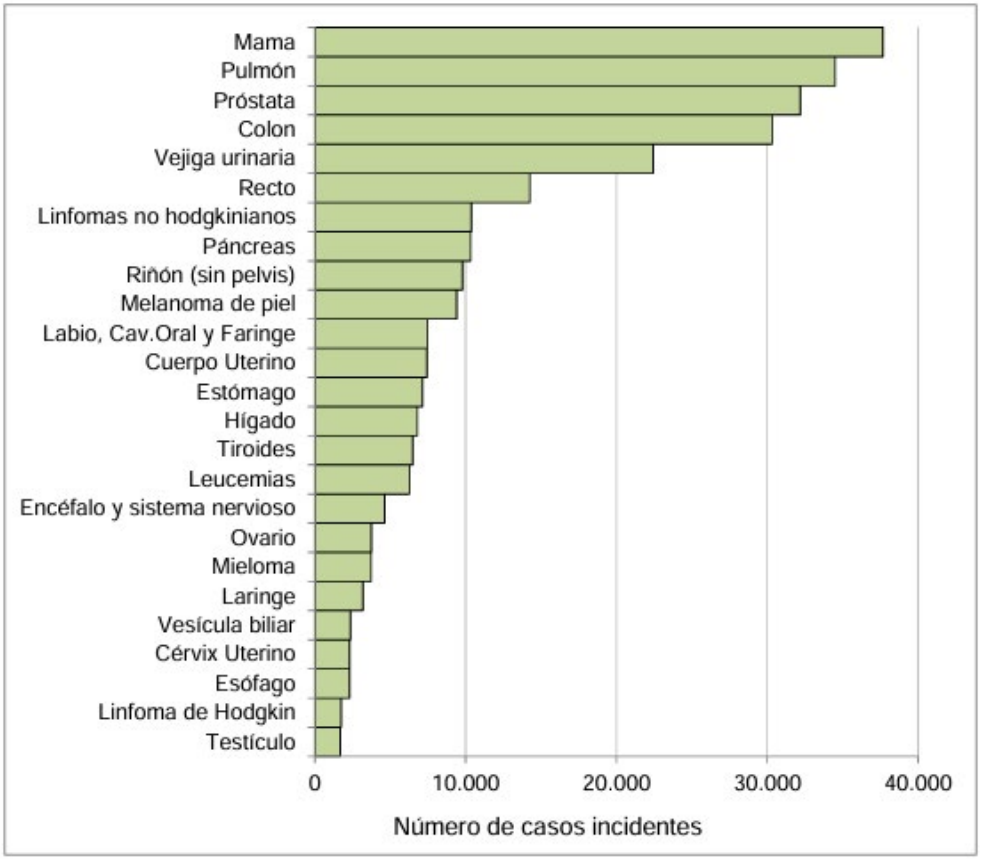


Figura 3. Número estimado de casos incidentes de cáncer en España, por tipo tumoral, en 2025.
Fuente: Red Española de Registros de Cáncer [2].

1.1.2 Factores de riesgo

El CCR es una enfermedad multifactorial en la que influyen diversos factores, como la edad, el sexo, los factores ambientales, los antecedentes personales y familiares, así como los factores genéticos. Estudios en gemelos han mostrado que la heredabilidad del CCR es solo del 12-35% [3], lo que sugiere que los factores ambientales desempeñan un papel predominante en el CCR [4]. La incidencia de CCR aumenta a partir de los 50 años y es mayor en hombres que en mujeres [5]. Las elevadas tasas de incidencia en países con alto índice de desarrollo están asociadas a factores de riesgo relacionados con el estilo de vida y la dieta, como el consumo elevado de carne roja o procesada, el tabaquismo, el consumo de alcohol, el sedentarismo, el sobrepeso y la obesidad [6,7]. Entre los factores protectores descritos se encuentran los suplementos de calcio, el consumo de cereales integrales, frutas, verduras, fibra y productos lácteos [6,7]. La reducción de la incidencia de CCR en algunos países con alta prevalencia en los últimos años se ha atribuido tanto a cambios en el estilo de vida de la población, como la reducción del tabaquismo, como a la implementación de programas de cribado poblacional [8].

1.1.3 Lesiones precursoras

El CCR se desarrolla por la acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas en las células epiteliales del colon y recto, lo que lleva a la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores. Estas alteraciones provocan la evolución maligna del epitelio normal, generalmente a través de lesiones precursoras que suelen manifestarse en forma de pólipos. No todas las lesiones precursoras progresarán a cáncer; el tamaño, el número y el grado de displasia son factores de riesgo para su progresión. Se considera que las lesiones localizadas en colon proximal incluyen el ciego, el colon ascendente y el colon transverso, mientras que las lesiones en el colon distal se encuentran en el colon descendente, el sigma y el recto [9].

Las lesiones precursoras colorrectales se clasifican en pólipos adenomatosos, lesiones serradas y un conjunto de lesiones que incluyen pólipos hamartomatosos, inflamatorios y otras lesiones no mucosas [10]. Estas lesiones son biológicamente distintas y presentan características histológicas y mecanismos genéticos y epigenéticos específicos [11]. A continuación, se describen las características de los pólipos adenomatosos y las lesiones serradas.

- Los **pólipos adenomatosos** o adenomas son las lesiones más frecuentes, responsables del 70-90% de todos los CCR. Pueden aparecer en toda la mucosa colorrectal con apariencia pediculada, sésil, ligeramente elevada, plana o deprimida [12]. Se pueden clasificar según el componente velloso: si presentan menos del 25% de componente velloso se denominan adenomas tubulares; entre 25-75% de componente velloso, se clasifican como adenomas túbulovellosos; y si tienen más del 75%, son adenomas vellosos [10]. Además, pueden tener displasia de bajo grado o de alto grado. Los adenomas evolucionan a CCR típicamente por la secuencia adenoma-carcinoma, con mutaciones en genes supresores de tumores como *APC* y *TP53*, y oncogenes como *KRAS* y *PI3KCA* [13].

- Las **lesiones serradas** constituyen el 30% de los pólipos e incluyen los pólipos hiperplásicos (PH), las lesiones serradas sésiles (LSS), los adenomas serrados tradicionales (AST) y los pólipos mixtos [14]. En el pasado, estas lesiones se consideraban relativamente benignas [15]; sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que las LSS y los AST son responsables de hasta un 20-30% de los casos de CCR [16]. Se han identificado factores ambientales asociados a estas lesiones; revisiones sistemáticas han encontrado que el tabaquismo, el consumo de alcohol y un índice de masa corporal elevado están más fuertemente relacionados con las lesiones serradas que con los adenomas [17,18]. Además, en un estudio de casos y controles se ha observado una alta asociación entre el consumo de carne roja y el riesgo de LSS [19]. A continuación, se describen los principales tipos de lesiones serradas (**figura 4**):

- Los **pólipos hiperplásicos** (PH) conforman el 75% de las lesiones serradas [20]. Suelen ser menores de 5 mm, de coloración pálida, y tienen una forma plana o sésil. Su localización principal es en el sigma y el recto [21]. A nivel histológico, presentan criptas elongadas con morfología en dientes de sierra en la parte superior y media de las criptas, proliferación normal en la cripta inferior, y ausencia de displasia u otros rasgos típicos de las LSS [20]. Existen tres subtipos: el microvesicular, el PH rico en células caliciformes y el PH pobre en mucina. Los PH microvesiculares son los más frecuente, presentan mucina microvesicular en la zona superior de la cripta y se asocian a mutaciones en el gen *BRAF*. Los PH ricos en células caliciformes se caracterizan por un predominio de células caliciformes maduras en la parte superior de la cripta y se asocian a mutaciones en *KRAS*. Por último, los PH pobres en mucina son poco comunes y pueden tener tanto mutaciones en *BRAF* como en *KRAS* [22]. En general, la incidencia de displasia de alto grado es muy baja, y el riesgo de evolución a CCR es nulo si se localizan en el rectosigma y miden menos de 5 mm [23].
- Las **lesiones serradas sésiles** (LSS), anteriormente conocidas como adenomas serrados sésiles o pólipos serrados sésiles, representan el 25% de las lesiones serradas [14]. La prevalencia de las LSS varía considerablemente según la región geográfica, oscilando entre el 2,6% en Asia y el 10,5% en Australia [24]. Típicamente, son lesiones planas, pálidas, de bordes imprecisos, mayores de 5 mm, cubiertas por moco y localizadas en el colon proximal. Histológicamente, la presencia de un sola cripta distorsionada de manera inequívoca se considera diagnóstica para LSS [10]. Las criptas pueden presentar diferentes formas: horizontales, dilatadas o morfología en "dientes de sierra" en la base. Otros hallazgos incluyen la presencia de mucosa prolapsada y la proliferación estromal [20]. Existe una alta variabilidad interobservador en el diagnóstico histológico de las lesiones serradas, especialmente en la distinción entre PH y LSS. El diagnóstico de PH se realiza por exclusión, al descartar que presente características de LSS. En muchas ocasiones, la orientación o fragmentación de la muestra dificulta esta evaluación. El tamaño, la localización y el aspecto endoscópico pueden ayudar a la identificación. A nivel molecular, las LSS se caracterizan por mutaciones en *BRAF* y la presencia de fenotipo metilador de islas CpG alto (CIMP-A). La progresión de las LSS a displasia no es frecuente, ocurriendo solo en el 4-8% de los casos [25,26], pero suele aparecer en lesiones menores de 10 mm [27]. Las LSS con displasia muestran, en el 75% de los casos, pérdida de la proteína reparadora del ADN, MLH1 [20]. Se cree que la evolución de LSS a LSS con displasia es lenta, pero una vez ocurre la metilación en MLH1 y la displasia, la progresión hacia CCR se produce rápidamente [27].

  Las LSS pueden pasar desapercibidas en la colonoscopia debido a su localización, coloración similar a la mucosa y su típico recubrimiento de moco. Además, las áreas con displasia se detectan con mayor frecuencia que aquellas sin displasia, lo que puede aumentar el riesgo de resección incompleta. El infradiagnóstico y

la resección incompleta de las LSS se han relacionado con el cáncer de intervalo, es decir, el CCR detectado tras una colonoscopia en la que no se observó cáncer, pero antes de la siguiente colonoscopia programada. En un estudio que revisó las características moleculares del cáncer de intervalo, se observó que estos se localizaban mayoritariamente en colon proximal y presentaban inestabilidad de microsatélites (IMS) y CIMP-A, características típicas de los CCR de la vía serrada [28].

- Los **adenomas serrados tradicionales** (AST) son lesiones poco frecuentes, representando entre 1-6% de las lesiones serradas. Suelen ser pediculados, eritematosos, con un tamaño medio superior a los 10 mm y se localizan en colon distal. Las células contienen citoplasma eosinofílico con núcleos alargados y presentan un aspecto serrado muy prominente debido a las ondulaciones del epitelio de la cripta y la aparición de criptas ectópicas [29]. Aunque pueden desarrollar displasia, esto es poco frecuente, en <2% de los casos [21]. Las alteraciones genéticas descritas son heterogéneas y el mecanismo de progresión a cáncer no está completamente claro. Se ha observado un mayor porcentaje de mutaciones en *BRAF* que en *KRAS*, así como una prevalencia de entre 43-80% de CIMP-A [30,31].

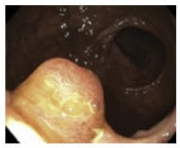
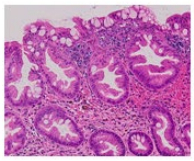
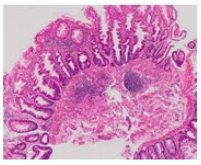
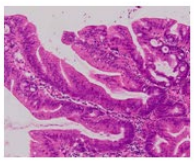
	Pólipos hiperplásicos (PH)	**Lesiones serradas sésiles (LSS)**	**Adenomas serrados tradicionales**
Características clínicas	·Prevalencia: 20-30% ·Tamaño: ≤ 5 mm ·Morfología: plana o sésil	·Prevalencia: 5-15% ·Tamaño: mayor que PH, 5-7 mm de media ·Morfología: plana o sésil	·Prevalencia: <1% ·Tamaño: mayor que LSS ·Morfología: pediculada
Localización	Colon distal	Colon proximal	Colon distal
Apariencia endoscópica	Pálido o similar a la mucosa normal Forma ovalada Se aplanan con la insuflación Ausencia de vasos o muy finos 	Color pálido Bordes difusos Patrón vascular difuminado Cobertura mucosa 	Eritematoso Multilobulado Apariencia de "piña" 
Histopatología	Morfología en dientes de sierra en la parte superior y media de las criptas 	Distribución irregular de las criptas Perfil serrado y criptas dilatadas en la base 	Citoplasma eosinofílico Núcleos alargados Criptas ectópicas 

Figura 4. Clasificación de las lesiones serradas.

Figura adaptación de Crockett *et al.* [20] y Bateman *et al.* [23].

Los adenomas y las lesiones serradas se pueden clasificar en lesiones avanzadas y no avanzadas según las características histológicas y el tamaño. Las lesiones avanzadas tienen mayor riesgo de progresar a CCR [32]. En la **tabla 1**, se describen las características de las lesiones colorrectales avanzadas y no avanzadas.

Clasificación	Tipo de lesión	Características
Avanzada	Adenomatosa	Componente velloso, ≥10 mm o con displasia de alto grado
	Serrada	≥10 mm o con displasia
No avanzada	Adenomatosa	Adenoma tubular, <10 mm y con displasia de bajo grado
	Serrada	<10 mm y sin displasia*

Tabla 1. Clasificación y características de las lesiones colorrectales avanzadas y no avanzadas.

*Se incluyen los pólipos hiperplásicos en rectosigma.

1.1.4 Carcinogénesis del cáncer colorrectal

El conocimiento sobre las vías moleculares del CCR ha aumentado sustancialmente en los últimos años, gracias a los avances en las pruebas moleculares para la IMS y las mutaciones de los genes *RAS* (*KRAS*, *NRAS*) y *BRAF* [33]. Estos conocimientos genéticos en el estudio de los tumores también han proporcionado información valiosa sobre sus lesiones precursoras.

Existen tres vías principales de carcinogénesis: la vía de la inestabilidad cromosómica (CIN), la vía de la inestabilidad de microsatélites (IMS) y la vía del fenotipo metilador de islas CpG (CIMP). Cada una de ellas se caracteriza por el predominio de cambios genéticos y epigenéticos específicos.

- La **vía CIN** es un fenómeno caracterizado por errores persistentes en la separación cromosómica durante la mitosis [34]. Este tipo de CCR se asocia con una menor supervivencia en comparación con los CCR de la vía IMS. La vía CIN es la que mejor se ajusta a la secuencia convencional adenoma-carcinoma descrita en 1990 [35].

- La **vía IMS** corresponde a un fenotipo hipermutado causado por la acumulación de errores en las regiones de microsatélites del genoma, generalmente secundarios a la pérdida de función de los genes reparadores de errores del ADN (sistema MMR, del inglés *mismatch repair*), como *MLH1*. La mayoría de estos casos son CCR esporádicos, atribuibles a la hipermetilación del promotor del gen *MLH1* con mutaciones en *BRAFV600E* [36]. El resto corresponde a tumores asociados al síndrome de Lynch, donde la IMS se adquiere a través de mutaciones germinales en uno de los genes del sistema MMR [37]. En los pacientes con CCR con IMS, la inmunoterapia se ha establecido como el tratamiento estándar, con resultados altamente favorables [38].

- La **vía CIMP** se origina por un fenómeno epigenético que produce una extensa metilación en las islas CpG ubicadas en las regiones promotoras de los genes supresores de tumores, lo que conduce al silenciamiento transcripcional. El CIMP está implicado en diversos procesos biológicos, como el desarrollo del sistema nervioso, la especificación de patrones, la señalización celular, la diferenciación y la proliferación, todos ellos relacionados con la

migración celular y la metástasis [39]. Según el nivel de CIMP, los CCR pueden clasificarse en CIMP de alto nivel (CIMP-A) (≥3 genes metilados), CIMP de bajo nivel (CIMP-B) (1 o 2 genes metilados) y no CIMP (sin genes metilados). Aunque existe controversia, se considera que los pacientes con tumores CIMP-A presentan un pronóstico más desfavorable que los CIMP-B [40].

A pesar de que estos fenotipos moleculares son distintos, a menudo coexisten en la patogénesis del CCR. Por ejemplo, el CIMP y la IMS están frecuentemente relacionados, ya que la hipermetilación de las islas CpG puede inactivar genes del sistema MMR, lo que conduce al desarrollo de IMS [41]. En los casos esporádicos de CCR, las frecuencias de estas alteraciones son las siguientes: CIN, alrededor del 85%; CIMP-A, aproximadamente el 20%; e IMS, cerca del 15% [42,43].

Otra clasificación divide los CCR en tres vías principales: vía convencional adenoma-carcinoma (también conocida como vía CIN), la vía de IMS por mutaciones germinales en alguno de los genes del sistema MMR y la vía alternativa de neoplasia serrada [44]. La mayoría de los CCR se desarrollan a través de la vía convencional adenoma-carcinoma, mientras que aproximadamente el 20% de los casos siguen la vía alternativa de la neoplasia serrada [44].

- La **secuencia convencional adenoma-carcinoma** es responsable del 70-80% de los casos de CCR y su lesión precursora es el adenoma. En esta vía, se produce una progresión gradual desde el epitelio normal hasta la formación de pólipos benignos (adenomas no avanzados), que luego evolucionan a adenomas avanzados y, eventualmente, a carcinoma invasivo [45]. Esta progresión ocurre debido a la acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas específicas en las células del tejido colorrectal, un proceso conocido como la vía *APC-KRAS-TP53* o modelo Fearon y Vogelstein (**figura 5**) [35,45]. Según este modelo, el desarrollo del CCR se explica por la aparición progresiva de mutaciones en tres genes clave: *APC, KRAS* y *TP53*. Estas mutaciones suceden de manera secuencial, desempeñando un papel fundamental en la transformación de células normales en malignas. Estos CCR suelen presentar estabilidad de microsatélites [46].

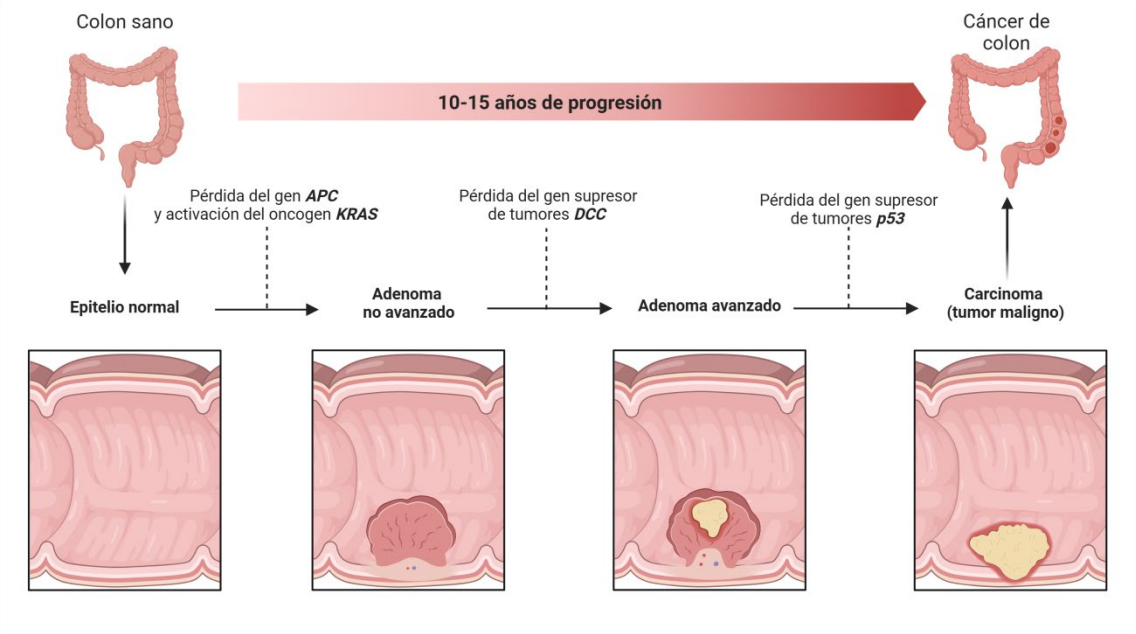


Figura 5. Modelo de Fearon y Vogelstein de la progresión del cáncer colorrectal.

Figura adaptada de Gharib *et al.* [45] y creada con BioRender.com.

- La **vía de IMS causada por mutaciones en línea germinal en los genes del sistema MMR** es la responsable de aproximadamente el 3% de todos los CCR [37]. Su paradigma es el síndrome de Lynch, caracterizado por mutaciones germinales en alguno de los genes del sistema MMR, como *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* o *PMS2*.

- La **vía alternativa de la neoplasia serrada** se desarrolla a través de la activación de la vía de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs). Su lesión precursora es la lesión serrada. Se caracteriza principalmente por mutaciones en los protooncogenes *BRAF* o *KRAS*, así como por estabilidad cromosómica y CIMP [44]. Aproximadamente, el 33% de los CCR asociados a esta vía presentan mutaciones en *BRAF*, el 50% en *KRAS*, y el 16% no presentan mutaciones ni en *BRAF* ni *KRAS* [47]. Se trata de CCR mucosecretores y expresan las mucinas MUC2, MUC5B, MUC5AC y MUC6 [47]. Según la mutación en *RAS*, el grado de IMS y el nivel de CIMP, se han clasificado dos subtipos principales de vías serradas [16,48] (**figura 6**).

    - Los **CCR de la vía serrada sésil** se localizan típicamente en el colon proximal, presentan mutaciones en *BRAF*, IMS y un CIMP-A. Su lesión precursora es la LSS. Estos tumores se caracterizan por un fenotipo hipermutado, asociado a un pronóstico más favorable. La IMS en estos tumores es consecuencia de la hipermetilación adquirida del promotor del gen *MLH1*, un evento que ocurre en las etapas finales de la carcinogénesis y que está relacionado con el desarrollo de displasia o malignidad. Por esta razón, la IMS no se observa en la mayoría de lesiones precursoras serradas.

- Los **CCR de la vía serrada tradicional** se desarrollan en el colon distal, tienen mutaciones en *KRAS*, estabilidad de microsatélites y un CIMP-B. La lesión precursora característica es el AST.

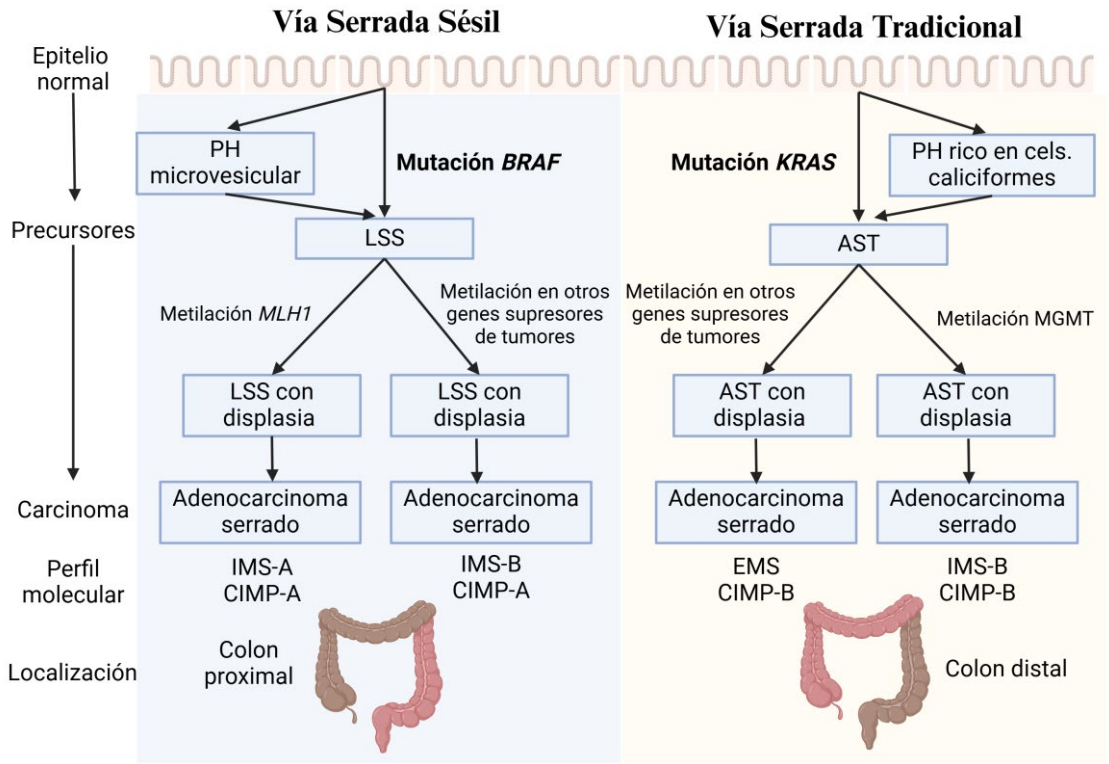


Figura 6. Subtipos de vías serradas: vía serrada sésil y vía serrada tradicional.

Figura adaptada de Kang *et al.* [49] y creada con BioRender.com.
PH: pólipo hiperplásico; cels: células; LSS: lesión serrada sésil; AST: adenoma serrado tradicional; MGMT: O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa; IMS-A: inestabilidad de microsatélites de alto nivel; IMS-B: inestabilidad de microsatélites de bajo nivel; EMS: estabilidad de microsatélites; CIMP-A: Fenotipo metilador de islas CpG de alto nivel; CIMP-B: Fenotipo metilador de islas CpG de bajo nivel.

Existe otro subtipo de CCR poco frecuente (2-6%) que combina mutaciones en *BRAF* y un fenotipo CIMP-A, pero sin IMS [27]. En este caso, la lesión precursora puede ser tanto una LSS como un AST.

Consenso molecular de subtipos de cáncer colorrectal

El CCR es una enfermedad heterogénea con distintos patrones de expresión génica, lo que ha dado lugar a la descripción de múltiples clasificaciones [50–56]. En 2015, se propuso el consenso molecular de subtipos (CMS) de CCR con el objetivo de unificar seis estrategias previas de subtipificación del CCR basadas en transcriptomas [57]. Esta clasificación define cuatro subtipos moleculares con características distintivas (**figura 7**): CMS1 (tumores inmunes) que son inmunogénicos, con IMS e hipermutados; CMS2 (tumores canónicos) que muestran activación de las vías de señalización WNT y MYC; CMS3 (tumores metabólicos) que presentan disregulación metabólica; y CMS4 (tumores mesenquimales) que asocian

infiltración estromal, activación de la vía TGF-β y angiogénesis [57]. Las muestras con características mixtas se consideran fenotipos de transición o pueden representar heterogeneidad intra-tumoral.

	CMS1	CMS2	CMS3	CMS4
Nombre alternativo	IMS/Inmune	Canónico	Metabólico	Mesenquimal
Incidencia	14%	37%	13%	23%
Características moleculares	IMS, CIMP-A, hipermutación	Alto nivel de ASNC	Estado IMS mixto, bajo nivel de ASNC, CIMP-B	Alto nivel de ASNC
Mutaciones	*BRAF*		*KRAS*	
Firmas	Infiltración y activación inmunitaria	Activación vías WNT y MYC	Disregulación metabólica	Infiltración estromal, activación vía TGF-β y angiogénesis
Características clínicas	Peor supervivencia tras la recaída			Peor supervivencia libre de recaída y supervivencia global
Lesión precursora	Serrada	Adenoma tubular	Incierto (adenoma túbulo-velloso con rasgos serrados)	Serrada

Figura 7. Consenso molecular de subtipos (CMS) de CCR y sus lesiones precursoras.

Figura adaptada de Kang *et al.* [49] y creada con BioRender.com.
IMS: inestabilidad de microsatélites; CIMP-A: fenotipo metilador de islas CpG de alto nivel; ASNC: alteraciones somáticas en el número de copias; CIMP-B: fenotipo metilador de islas CpG de bajo nivel.

Una pregunta que surgió tras esta clasificación fue cómo se relacionan los tipos de lesiones precursoras con los subtipos de cáncer. A través de estudios con cultivos organoides, se descubrió que las LSS sobreexpresaban la señalización de TGF-β, una característica molecular clave del subtipo CMS4 de CCR [58]. En otros estudios, los adenomas mostraron un perfil transcriptómico muy similar al del subtipo CMS2, mientras que los perfiles transcriptómicos de los PH y las LSS se asemejaban al subtipo CMS1 [59]. Junto con su ubicación anatómica en colon proximal y las mutaciones en *BRAF*, esto sugiere una fuerte relación entre las lesiones serradas y el subtipo CMS1 de CCR [49]. En el caso de los tumores CMS3, el tipo de lesiones premalignas sigue siendo incierto [60,61].

1.1.5. Diagnóstico del cáncer colorrectal y sus lesiones precursoras

La principal técnica para diagnosticar el CCR es la colonoscopia. Este método endoscópico permite observar la totalidad del colon, realizar biopsias de tejido y resecar tanto lesiones precursoras como CCR en estadios iniciales [62]. Se estima que el desarrollo de un CCR a partir de un adenoma puede tardar entre 10 y 15 años. El crecimiento lento del CCR y la presencia de lesiones precursoras detectables brinda una excelente oportunidad para su cribado. El programa de cribado poblacional del CCR ha demostrado reducir la incidencia y mortalidad por esta enfermedad [63,64].

En España, el cribado del CCR comenzó en los años 90 con algunos estudios pioneros que evaluaban su aplicabilidad [65]. Sin embargo, no fue hasta los años 2000 y 2010 cuando se implantaron en nuestro país programas poblacionales organizados, vinculados a la Red de Programas de Cribado de Cáncer de España [66]. El programa se basa en la realización de una prueba bienal de detección de sangre oculta en heces a toda la población asintomática de entre 50 y 69 años. Los individuos con resultado positivo son invitados a realizarse una colonoscopia para confirmar o descartar la presencia de CCR o de sus lesiones precursoras.

1.2. Síndrome de poliposis serrada

El síndrome de poliposis serrada (SPS) es una entidad descrita por primera vez en 1996, caracterizada por la presencia de múltiples lesiones serradas colorrectales y asociada a un aumento del riesgo de desarrollar CCR respecto a la población general [67].

1.2.1 Epidemiología

El SPS es el síndrome de poliposis colorrectal más frecuente. Se estima que su frecuencia es de 1 en 127 colonoscopias realizadas por sangre oculta en heces positiva, y de 1 en 238 individuos que se someten a una colonoscopia como prueba directa de cribado [68]. El SPS se considera una entidad infradiagnosticada, con una tasa de error en el diagnóstico de hasta el 24% [69]. Entre las razones posibles, se incluyen la baja conciencia sobre el síndrome y la necesidad de tener en cuenta informes previos de endoscopia e histopatología para aplicar correctamente los criterios diagnósticos. En el programa de cribado poblacional de CCR de Barcelona, se realizó una reevaluación endoscópica un año después a los participantes que habían presentado al menos una lesión serrada ≥ 5 mm proximal al sigma. Se observó un aumento del diagnóstico, pasando de 11 pacientes previamente diagnosticados de SPS (0,32 % sobre 3444 colonoscopias de cribado) a 31 (0,90 %), con 20 nuevos diagnósticos [70]. A pesar del infradiagnóstico, en los últimos años se ha detectado un aumento en la prevalencia del síndrome, probablemente debido al mayor conocimiento del SPS entre los endoscopistas, el establecimiento de estándares de calidad para el rendimiento de la colonoscopia, los avances en la tecnología de imagen endoscópica, la instauración de un seguimiento sistemático de lesiones serradas, la mejora en la preparación intestinal y la amplia implementación de programas de cribado poblacionales [71].

El SPS suele diagnosticarse alrededor de la quinta década de la vida. Aunque algunas series asiáticas han descrito una mayor prevalencia en hombres, en series occidentales no se ha observado predominio por sexo [72–75].

1.2.2 Criterios diagnósticos

El diagnóstico de SPS se basa en los criterios clínicos definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), los cuales tienen en cuenta el número de lesiones serradas acumuladas a lo largo de la vida. La definición de SPS se actualizó en 2019, presentando los siguientes criterios [76]:

- **Criterio 1**: ≥5 lesiones serradas proximales al recto, todas de ≥5 mm y al menos 2 de ≥10 mm.
- **Criterio 2**: >20 lesiones serradas de cualquier tamaño a lo largo de todo el intestino grueso, al menos 5 de ellas proximales al recto.

Los criterios diagnósticos anteriores eran los establecidos en 2010 (**figura 8**) [77]. El cambio más relevante fue la eliminación del criterio II (al menos un pólipo serrado proximal al sigma en un paciente con un familiar de primer grado con SPS). Este cambio se basó en el hecho de que estos pacientes presentan un riesgo de CCR menor que aquellos con un fenotipo de poliposis (antiguos criterios I y/o III) [72,73]. Otra modificación importante fue la redefinición de la localización "proximal", que pasó de ser del sigma al recto, dada a la incidencia significativa de CCR en rectosigma [72,73].

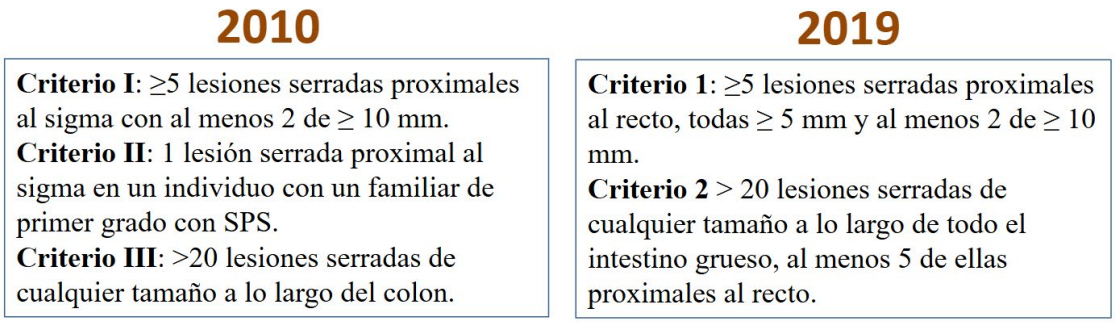


Figura 8. Criterios diagnósticos de síndrome de poliposis serrada de la Organización Mundial de la Salud de 2010 y 2019.

SPS: síndrome de poliposis serrada.

1.2.3 Etiopatogenia

La etiopatogenia del SPS no ha sido aclarada; sin embargo, se postula que se basaría en la combinación de una predisposición genética desconocida y factores ambientales. En una cohorte española con 296 pacientes con SPS, el 74% eran o habían sido fumadores, y el 69,5% presentaban sobrepeso u obesidad [73]. El tabaquismo se ha asociado con un mayor riesgo de lesiones serradas y lesiones serradas avanzadas en la población general [78,79]. En individuos con más de 5 lesiones serradas proximales al recto, se observó la denominada "paradoja del tabaquismo", donde los fumadores presentaban un riesgo significativamente menor de desarrollar CCR en comparación con los no fumadores [80,81]. Se ha planteado la hipótesis de que el tabaco podría favorecer la aparición de pólipos serrados diminutos, ya que en la SPS los fumadores cumplían con mayor frecuencia el criterio 2 de la OMS frente a los no fumadores [72]. Hasta la fecha, se desconoce el efecto de la abstención tabáquica en la evolución de la enfermedad.

Otro factor asociado con el SPS es haber recibido tratamiento de quimioterapia para un linfoma de Hodgkin u otros tipos de cáncer durante la infancia o adolescencia [82,83]. Esta condición se describe como poliposis asociada a terapia, en la que los pacientes pueden presentar características que imitan diversos síndromes hereditarios de CCR.

La edad tardía al momento del diagnóstico, la asociación con el tabaquismo y la habitual ausencia de antecedentes familiares con poliposis parecen contradecir la hipótesis de un síndrome hereditario [80]. Sin embargo, en un pequeño porcentaje de pacientes se han descrito patrones de herencia autosómica dominante o recesiva. En algunos casos, se han identificado variantes patogénicas bialélicas en el gen *MUTYH*, asociado a un fenotipo de poliposis adenomatosa atenuada [75], así como en otros genes como *MMR*, *PTEN*, *GREM1* y *NTHL1* [84,85]. Más recientemente, se han reportado casos de SPS con variantes patogénicas de línea germinal en el gen *RNF43* [86,87]. Este gen codifica una ligasa E3 de ubiquitina expresada en las células madre del colon, que actúa como inhibidor de la vía WNT. A pesar de estos hallazgos, la frecuencia de variantes patogénicas en *RNF43* en individuos con SPS sigue siendo baja, entre el 1,76 y el 2,63% en estudios de cohortes [80]. En el documento de posicionamiento español sobre el uso de paneles de genes en pacientes con alto riesgo de cáncer digestivo hereditario, solo se recomienda realizar paneles genéticos en pacientes diagnosticados de SPS antes de los 50 años o en aquellos con al menos un familiar de primer grado afectado por SPS [88].

1.2.4 Riesgo y carcinogénesis de cáncer colorrectal

La incidencia de CCR en el SPS se estima entre el 15% y el 35%, lo que representa un riesgo 5 veces mayor en comparación con la población general [73,75,89,90]. Un metanálisis reciente, que incluyó 36 estudios y 2.788 pacientes con SPS, reportó una prevalencia de CCR del 19,9% (IC 95%: 15,3%–24,5%) [67]. El riesgo fue mayor en el momento de diagnóstico (14,7%) y antes del diagnóstico de SPS (7%). Durante el seguimiento endoscópico posterior al diagnóstico, el riesgo de CCR fue del 2,8%, equivalente a 7 casos por cada 1.000 personas-año, con un período de seguimiento de entre 1,8 y 5,1 años.

A los 3 años de seguimiento endoscópico, se ha descrito una incidencia del 35,1% de lesiones serradas avanzadas y del 12,8% de adenomas avanzados [91]. El 87% de las LSS y el 67% de los PH en individuos con SPS presentan mutaciones en *BRAF*. Sin embargo, esta mutación solo se encuentra en el 5% de los adenomas [92]. La alta tasa de mutaciones en *BRAF* en LSS de pacientes con SPS, en comparación con las LSS esporádicas, sugiere que su determinación podría ser útil como marcador diagnóstico de SPS [27,92].

La vía de la carcinogénesis característica del SPS es la vía alternativa de la neoplasia serrada, asociada a CIMP, mutaciones en *BRAF*, IMS y metilación de *MLH1*. Sin embargo, un estudio reciente que analizó 43 CCR en 35 pacientes con SPS encontró que el 51,1% de los tumores probablemente se originaron a través de la vía adenoma-carcinoma, mientras que el 48,8% correspondieron a la vía alternativa de la neoplasia serrada [93]. En este estudio, el 75% de los pacientes presentaban al menos un adenoma, y la proporción de lesiones serradas frente a adenomas en SPS fue de 7:1. Esta relación fue menor en pacientes con CCR de la vía tradicional (4:1) en comparación con los de la vía serrada (14:1, p= 0,059).

Los familiares de primer grado de pacientes con SPS presentan un riesgo aumentado de desarrollar CCR y SPS, con un riesgo de CCR hasta 5 veces mayor que el de la población general [74,94,95]. Por esta razón, la Sociedad Europea de Endoscopia Gastrointestinal (ESGE) recomienda realizar colonoscopias a los familiares de primer grado de pacientes con SPS a partir de los 45 años, con un intervalo de seguimiento de 5 años [96].

1.2.5 Manejo

El seguimiento endoscópico en pacientes con SPS debe ser realizado por endoscopistas expertos, con la identificación y resección de todas las lesiones de ≥5 mm o aquellas con sospecha de displasia. El tratamiento consta de dos fases:

1. **Fase de "limpieza"**, en la que se resecan todos las lesiones para reducir la carga de pólipos y facilitar el control endoscópico.
2. **Fase de mantenimiento**, donde las recomendaciones de vigilancia se basan en los hallazgos de la última colonoscopia [80].

En esta fase de mantenimiento, la guía de la ESGE recomienda realizar una colonoscopia anual si se detecta al menos un pólipo avanzado o ≥5 pólipos no avanzados, y cada dos años si no se cumplen estos criterios [96]. Durante la fase de "limpieza", se requieren, en promedio, 2,8 colonoscopias (rango, 2–5) para resecar un promedio de 27,9 pólipos por paciente (rango, 5–195) [97].

Aunque la mayoría de los casos de SPS se manejan endoscópicamente, la cirugía se considera en casos específicos, como cuando se diagnóstica un CCR o si la carga de pólipos impide un tratamiento endoscópico adecuado. En los casos en que la cirugía sea necesaria, se recomienda una resección segmentaria, evitando de manera rutinaria la colectomía total [80].

1.3. Microbiota

La microbiota es el conjunto de microorganismos que incluye bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos, los cuales residen en nuestro cuerpo e interactúan con nuestras células [98]. Se estima que el cuerpo humano alberga más de 10^{13} microorganismos [99]. Por su parte, el término microbioma hace referencia al ecosistema completo que comprende las comunidades microbianas, sus genes, metabolitos y las condiciones ambientales en las que se desarrollan. La colonización microbiana humana ocurre en la piel y en las mucosas de cavidades expuestas al exterior, como el tracto digestivo, respiratorio y genitourinario, así como en glándulas secretoras, como las sebáceas, biliar y mamaria. El tracto digestivo contiene distintos ecosistemas: la cavidad oral, el esófago, el estómago, el intestino delgado y el colon, siendo el ciego la región con mayor densidad de microorganismos [100]. En todos estos entornos, la microbiota establece una relación simbiótica con el hospedador, desempeñando funciones esenciales en la modulación temprana del desarrollo fisiológico, la nutrición, la inmunidad y la resistencia a patógenos a lo largo de la vida [101]. Los principales factores que regulan la composición y la funcionalidad de la microbiota humana son el estilo de vida, la genética, la edad y la dieta [102,103].

El papel de la microbiota en la salud comenzó a valorarse a principios del siglo XX [104]. La disbiosis se define como una alteración en la composición o función de la microbiota causada por un desequilibrio entre microorganismos simbióticos y oportunistas. Esto puede manifestarse como pérdida de microorganismos beneficiosos, expansión de microorganismos patógenos y/o disminución de la diversidad microbiana [105]. La disbiosis se ha asociado con el desarrollo de diversas enfermedades, incluyendo la enfermedad inflamatoria intestinal, varios tipos de cáncer, enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes, y trastornos autoinmunes [106–110].

1.3.1 Técnicas utilizadas para caracterizar la microbiota

Hasta 1990, el estudio de la composición de la microbiota se realizaba mediante métodos de cultivo microbiológico [111]. Sin embargo, actualmente se sabe que menos del 30% de la microbiota es cultivable con técnicas tradicionales [112]. El desarrollo de técnicas independientes del cultivo revolucionó este campo, permitiendo evaluar la diversidad microbiana y proporcionando información tanto cualitativa como cuantitativa sobre las especies presentes [111].

En la **tabla 2** se resumen las principales técnicas independientes del cultivo utilizadas para caracterizar la microbiota.

Técnica	Descripción	Ventajas	Inconvenientes
qPCR	Amplificación y cuantificación de 16S rARN. La mezcla de reacción contiene un componente que emite fluorescencia al unirse al ADN bicatenario.	Identificación filogenética, cuantitativo, rápido.	Sesgo de la PCR, incapaz de detectar especies desconocidas.
EGGD	Los amplicones 16S rARN se separan mediante electroforesis en gel con agentes desnaturalizantes.	Rápido, semicuantitativo, las bandas se pueden recortar para futuros análisis.	Sesgo de la PCR, no identificación filogenética.
FISH	Sondas de oligonucleótidos marcadas con fluorescencia se hibridan a secuencias complementarias del 16S rARN. La fluorescencia puede cuantificarse con citometría de flujo.	Identificación filogenética, semicuantitativo, no hay sesgo de PCR.	Dependiente de la secuencia de la sonda, incapaz de detectar especies desconocidas.
ADN microarrays	Sondas de oligonucleótidos marcadas con fluorescencia se hibridan a secuencias complementarias de nucleótidos. La fluorescencia se detecta con láser.	Identificación filogenética, semicuantitativo, rápido.	Hibridación cruzada, sesgo de la PCR, dificultad de detectar especies a bajos niveles.
Secuenciación dirigida	Secuenciación masiva paralela de parte de los amplicones 16S rARN.	Identificación filogenética, cuantitativo, rápido.	Sesgo de la PCR, laborioso.
Secuenciación *shotgun* del microbioma	Secuenciación masiva paralela de todo el genoma.	Identificación filogenética, cuantitativo, identificación de bacterias desconocidas.	Coste económico, análisis de datos complejo.

Tabla 2. Técnicas utilizadas para caracterizar la microbiota.

Adaptación de Fraher *et al.* [111].
qPCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa. rARN: ácido ribonucleico ribosomal. ADN: ácido desoxirribonucleico. PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa. EGGD: electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización. FISH: hibridación fluorescente in situ.

Actualmente, los métodos más comunes para caracterizar el microbioma son la secuenciación dirigida y la secuenciación metagenómica (*shotgun*).

La **secuenciación dirigida** emplea un gen microbiano específico para describir la composición taxonómica de las muestras. Para bacterias y arqueas, el gen más comúnmente utilizado es el de la subunidad 16S del ARN ribosomal (16S rARN). Los ribosomas de las células bacterianas son de tipo 70S, formados por dos subunidades: la 30S y la 50S. La subunidad 30S contiene una molécula de ARN, el 16S rARN, que presenta tanto regiones altamente conservadas (comunes a todas las especies) como regiones variables (únicas para cada especie o grupo de especies). Las regiones conservadas permiten el uso de cebadores universales para detectar todas las

bacterias presentes, mientras que las regiones variables facilitan la identificación filogenética (es decir, la identificación bacteriana) sin necesidad de estudiar el genoma completo [113]. El gen *16S rARN*, con aproximadamente 1.500 pares de bases, contiene 9 regiones variables. La región V4 es la más útil para generar una adecuada especificidad de dominio y un espectro más amplio de la composición microbiana [114].

La secuenciación de Sanger fue la secuenciación dirigida más utilizada en la década de 1990 [115], pero actualmente se emplean otros métodos de secuenciación masiva, como los de segunda generación o secuenciación de próxima generación (NGS, del inglés *next generation sequencing)*. Estos métodos tienen un coste más bajo, requieren menos tiempo para preparar las librerías y generan una gran cantidad de secuencias con calidad de datos aceptable. La primera plataforma de NGS fue 454 Pyrosequencing® (Roche Diagnostics GMBH Ltd, Alemania) [116]. Posteriormente, empresas como Ion Torrent (con su plataforma PGM®) se unieron al mercado, y la plataforma más utilizada hoy en día es Illumina® (Illumina, San Diego, EEUU).

Este tipo de secuenciación requiere la amplificación del gen marcador mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), lo que puede generar errores, como la sobreestimación de las poblaciones mayoritarias y la subestimación de las poblaciones menos abundantes. Los productos resultantes de la PCR se secuencian y se comparan con secuencias de referencia almacenadas en bases de datos como GreenGenes [117], el Proyecto de Base de Datos Ribosomal [118] y SILVA [119]. Otra limitación de este método es que algunas secuencias no se pueden asignar a un nivel taxonómico, ya que no han sido identificadas previamente.

Cada secuencia única corresponde a una especie, pero pueden surgir errores de secuenciación que provoquen pequeñas variaciones entre secuencias de la misma especie. Por ese motivo, se suele permitir cierto grado de divergencia en las secuencias; frecuentemente se usan umbrales de similitud de 95%, 97% o 99% en la práctica [120]. El grupo resultante de secuencias casi idénticas (y por lo tanto presumiblemente de genomas idénticos) se denomina Unidad Taxonómica Operativa (OTU) [121]. En los últimos años ha surgido el concepto de Variante de Secuencia de Amplicón (VSA), que se define como secuencias de ADN únicas con una precisión de una sola diferencia de nucleótido [122]. Las VSA se generan mediante algoritmos bioinformáticos que distinguen diferencias minúsculas en las secuencias, eliminando errores de secuenciación y permitiendo una resolución mucho más detallada de la diversidad microbiana. A diferencia de las OTU, que agrupan secuencias basadas en un porcentaje de similitud, las VSA ofrecen una resolución más alta, identificando secuencias con una sola base de diferencia.

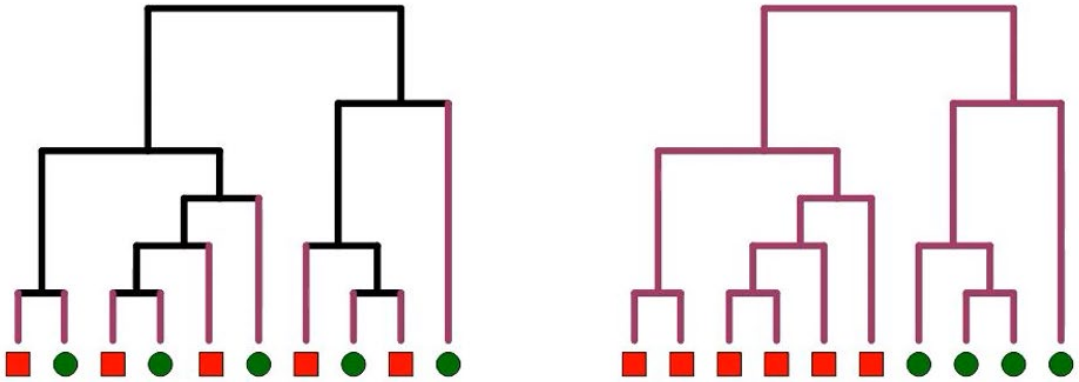
La clasificación de cada VSA como una especie bacteriana genera tablas de abundancia que se utilizan para calcular la diversidad de la población bacteriana. Existen varios estimadores para calcular la diversidad:

- La **diversidad alfa** o intramuestra se define como la variedad de especies dentro de una única comunidad microbiana en un entorno específico. Es una medida que refleja tanto la riqueza (número total de especies) como la uniformidad o equitatividad (distribución de las abundancias de las especies) de las especies en una comunidad. Cuanto mayor sea la diversidad alfa, más diversa y compleja es la comunidad microbiana. Para determinar la diversidad alfa, se emplean índices como el índice de Chao1, que valora la riqueza [123]; el índice de Shannon, que considera la riqueza y la uniformidad [124]; y el índice de Simpson, que se enfoca en la dominancia de las especies y es sensible a la pérdida de especies comunes [125].

- La **diversidad beta** compara la composición entre grupos de muestras establecidos según las variables clínicas recogidas. Es decir, mide el número de taxones compartidos entre dos poblaciones. Se puede cuantificar mediante el índice de similitud de Bray-Curtis, que mide la concordancia en función de la abundancia de especies [126], o la métrica de distancia UniFrac, que permite conocer la diferencia en términos de taxonomía bacteriana entre dos muestras [127].

  Los análisis que tienen en cuenta la diferencia filogenética entre especies consideran las muestras con mayor similitud de secuencia como más similares desde el punto de vista evolutivo. Este análisis se realiza mediante la construcción de un árbol filogenético. La métrica estándar UniFrac determina la fracción de longitudes de ramas únicas dentro de un árbol filogenético que es atribuible a una muestra particular y se puede utilizar como una medida de similitud de muestra única o de múltiples muestras [128]. La métrica UniFrac no ponderada considera la presencia o ausencia de taxones microbianos en diferentes muestras, mientras que la UniFrac ponderada tiene en cuenta tanto la presencia o ausencia de taxones como sus abundancias relativas, lo que la convierte en una medida más completa de disimilitud. Cuanto más similares sean filogenéticamente las comunidades, menores serán las distancias UniFrac, mientras que las comunidades que difieren más tendrán distancias UniFrac más altas (**figura 9**).

  Las distancias UniFrac pueden organizarse en una matriz de distancias resumida y representarse en tres dimensiones mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA) [129]. Esta descomposición se realiza de manera que las coordenadas principales capturan la mayor parte de la variabilidad en la estructura de similitud o distancia entre las muestras. Cada muestra se representa como un punto en este espacio; las muestras que están más cerca en el espacio de coordenadas tienen perfiles más similares, mientras que las muestras más distantes tienen perfiles más diferentes. La visualización resultante permite identificar patrones, agrupaciones o tendencias en los datos.



A. Comunidad similar

B. Comunidad máximamente diferentes

Figura 9. Dendrogramas representativos de comunidades microbianas con baja y alta distancia UniFrac no ponderada.

Las ramas unidas por nodos son de color morado si son únicas para un entorno particular y negras si se comparten. (A) Árbol que muestra dos comunidades filogenéticamente similares y una distancia UniFrac relativamente baja. (B) Árbol con dos comunidades que son máximamente diferentes, sin líneas negras y una distancia UniFrac elevada.
Figura adaptada de https://hyperskill.org.

El análisis taxonómico de los microorganismos que componen la microbiota puede no ser suficiente para comprender su impacto en los procesos fisiopatológicos, dado que muchas especies pueden ser metabólicamente equivalentes en un ecosistema específico [130]. Por lo tanto, las variaciones en su proporción pueden resultar irrelevantes para explicar estos procesos. Además, la falta de consenso sobre lo que constituye una composición "normal" de la microbiota complica la interpretación de este tipo de investigaciones.

La **secuenciación metagenómica** o *shotgun* permite secuenciar todo el ADN de la muestra, no solo un fragmento, e identificar genes funcionales y rutas metabólicas presentes en la comunidad. Esto proporciona información sobre las capacidades funcionales y las actividades potenciales de los microorganismos, lo que facilita establecer correlaciones entre la microbiota y una patología [131]. Al no requerir la amplificación específica de genes, los sesgos se reducen, y también permite identificar hongos, virus y protozoos, proporcionando una visión más integral de todos los componentes genéticos presentes en la muestra. La metatranscriptómica, la metaproteómica y la metabolómica son enfoques basados en la secuenciación metagenómica de ARN, proteínas y metabolitos, respectivamente, con el fin de detectar actividades metabólicas [132].

La gran cantidad de datos generados en el proceso de secuenciación ha impulsado la creación de herramientas bioinformáticas para su análisis, entre ellas se encuentran *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* (QIIME) [133], DADA2 [134] y MetaAmp [135].

1.3.2 Composición de la microbiota oral

La cavidad oral alberga aproximadamente entre 10^7 y 10^9 bacterias por mililitro de saliva, con unas 700 especies bacterianas diferentes [136–138]. Los filos más abundantes en la microbiota oral son *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidota*, *Fusobacteria* y *Spirochaetes* [139]. *Streptococcus* es el género más abundante, seguido de *Haemophilus*, *Veillonella* y *Prevotella* [140].

El tipo de muestra utilizada en los estudios de microbiota oral debe ser considerado al interpretar y generalizar los resultados. La saliva es la muestra preferida para obtener ADN de la microbiota oral, ya que suele reflejar la microbiota de todas las áreas orales [141]. Aunque la mayoría de los estudios utilizan muestras de saliva, ya sea estimulada o no, también se han publicado investigaciones con muestras de hisopos (mejillas), de la capa de la lengua y de enjuagues bucales [142–144]. No se han encontrado diferencias significativas en la diversidad de la microbiota entre muestras de saliva no estimulada, saliva estimulada y enjuagues bucales recolectados en tubos de muestras [145]. Además, se puede utilizar placa subgingival, que teóricamente refleja de manera más específica la composición local de la microbiota en comparación con una muestra de saliva. No obstante, este método de recolección es más invasivo y requiere personal capacitado para obtener la muestra de placa subgingival [146]. La mayoría de estudios sobre microbiota oral y CCR han utilizado muestras de saliva [141].

La transmisión oral-intestinal, un fenómeno que ocurre en condiciones fisiológicas, se acentúa en el contexto de la disbiosis intestinal. Por ejemplo, en pacientes con enfermedad de Crohn, se ha observado que las bacterias orales están enriquecidas en la microbiota intestinal [147]. Esto sugiere que la cavidad bucal podría actuar como un reservorio de patógenos oportunistas capaces de colonizar el intestino, especialmente en individuos con disbiosis intestinal, comprometiendo la integridad de la barrera intestinal y aumentando la presencia de metabolitos tóxicos y la actividad proteolítica [148]. Este fenómeno también se ha descrito en pacientes con cirrosis hepática, después de una cirugía bariátrica o con CCR [149–152]. La transmisión se produce por propagación hematógena de patógenos periodontales y citocinas inflamatorias, así como por translocación al tracto gastrointestinal a través de la saliva (vía enteral) [141]. La separación entre la microbiota oral e intestinal se mantiene debido a la acidez gástrica y los ácidos biliares duodenales [153,154]; sin embargo, en ocasiones esta barrera puede fallar debido a una infección intestinal o al uso prolongado de inhibidores de la bomba de protones (IBP) [155]. Modelos animales han sugerido tres posibles mecanismos para la migración bacteriana: (1) alteración de la homeostasis intestinal que provoca un crecimiento excesivo de bacterias en el intestino, (2) aumento de la permeabilidad de la barrera mucosa intestinal y (3) deficiencias en las defensas inmunitarias del huésped. Sin embargo, la ruta exacta de transmisión sigue siendo incierta y actualmente no se dispone de evidencia concluyente al respecto [156]. Lo que se ha observado es que esta conexión oral-intestinal es más estrecha entre las mucosas, ya que las bacterias orales son menos detectables en muestras fecales que en tejido colónico [143].

1.3.2.1 Cáncer colorrectal y microbiota oral

Las bacterias típicamente orales se encuentran con mayor frecuencia en los pólipos y el CCR en comparación con la mucosa de individuos sanos. La diversidad beta de la microbiota oral en individuos con CCR difiere estadísticamente de manera significativa respecto a la de individuos sanos [143]. Estos hallazgos podrían indicar que las redes bacterianas de la cavidad oral juegan un papel en el desarrollo del CCR [157]. Sin embargo, los mecanismos específicos mediante los cuales los patógenos orales contribuyen a este proceso aún no se conocen. Se cree que podrían estar relacionados con la disbiosis de la microbiota intestinal, la inflamación crónica y la modulación o evasión del sistema inmunitario, principalmente a través de la interacción con linfocitos T colaboradores y monocitos [158–160]. En este contexto, la microbiota oral podría utilizarse para la detección precoz del CCR, con alta sensibilidad y especificidad [143,161]. Además, la microbiota salival presenta una mayor estabilidad que la intestinal [162].

Se postula que los hábitos alimentarios pueden inducir cambios en el epitelio intestinal, como un aumento de la permeabilidad o alteraciones en el pH, que facilitan la supervivencia de las bacterias orales en el colon [157]. Por ejemplo, la ingesta de gliadina o una dieta baja en fibra, que reduce la producción de butirato –un metabolito esencial para el mantenimiento de la adhesión celular y la integridad de la barrera epitelial–, podría alterar la función de esta barrera. En este sentido, se ha observado que la presencia de patógenos orales en la mucosa colónica está fuertemente correlacionada de manera negativa con la abundancia de *Lachnospiraceae*, una bacteria productora de butirato [143]. Además, los individuos que consumen una dieta occidental presentan menor abundancia de *Lachnospiraceae*, lo que sugiere que esta bacteria podría desempeñar un papel protector al prevenir la colonización del colon por bacterias orales típicamente asociadas con el CCR [143].

Como se ha mencionado previamente, los pacientes con CCR presentan alteraciones específicas en la composición taxonómica de la microbiota oral [141]. Una reciente revisión sistemática describió las diferencias en la composición de la microbiota oral entre individuos con CCR y controles sanos [141]. Sin embargo, ninguno de los estudios incluidos distinguió el CCR según sus características moleculares.

En el filo *Firmicutes*, los pacientes con CCR mostraron una mayor abundancia de *Lactobacillus* [144,163] y *Streptococcus* [143,151,164–167] en comparación con los controles. La abundancia de *Solobacterium moorei* mostró resultados discordantes entre estudios [151,164]. Por otro lado, solo un estudio reportó una mayor abundancia de *Streptococcus gallolyticus* en pacientes con CCR respecto a controles [165].

En el filo *Bacteroidota*, tanto este grupo como la especie *Prevotella intermedia* fueron más abundantes en individuos con CCR [143,144,165,166,168–170]. Esta última especie ha sido relacionada con inflamación crónica debido a la producción de mediadores inflamatorios como interleucina-1β, interleucina-6 y metaloproteinasas de matriz [171]. *Porphyromonas gingivalis* también

mostró un aumento en pacientes con CCR frente a controles en dos estudios [166,170], aunque estos resultados no se confirmaron en un tercer estudio [165]. Esta bacteria promueve vías inflamatorias mediadas por PD-L1 al interactuar con células del colon [158] y también está elevada en otros cánceres digestivos, como el esofágico y el gástrico [170]. En contraste, *Prevotella melaninogenica* fue más abundante en controles que en individuos con CCR [144,170].

Dentro del filo *Proteobacteria*, se reportó una correlación de *Neisseria oralis* sp. y CCR. Esta especie es capaz de producir acetaldehído, un compuesto asociado con un mayor riesgo de cáncer en el tracto digestivo [143,144,166,170,172].

En relación con el filo *Fusobacteria*, múltiples estudios han relacionado la bacteria *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) con la progresión del CCR [142,143,164,165,169,173,174]. Un estudio encontró que el 40% de los pacientes presentaba cepas idénticas de *F. nucleatum* en los tejidos tumorales de CCR y en su saliva, lo que sugiere que esta bacteria podría originarse en la cavidad oral [175]. Además, se ha descrito que la subespecie *F. nucleatum nucleatum* es más abundante en la saliva de pacientes con CCR, mientras que *F. nucleatum vincentii* predomina en muestras fecales [164]. Esto ha llevado a hipotetizar que *F. nucleatum nucleatum* podría colonizar los tejidos del intestino grueso, aunque su tránsito del entorno oral al intestinal sería limitado y con menor influencia en la progresión del CCR. En contraste, *F. nucleatum vincentii* podría tener un impacto más significativo en la colonización intestinal y en la progresión del CCR [141]. Por otro lado, los niveles de *Fusobacterium periodonticum* fueron más altos en los controles que en los pacientes con CCR [168].

Finalmente, dentro del filo *Actinobacteria*, el género *Rothia* presentó una mayor abundancia relativa en pacientes con CCR en algunos estudios [143,163], aunque esta asociación no se observó en otro análisis [144]. Aunque *Rothia* se considera un comensal oral benigno, se ha reconocido como un patógeno oportunista en individuos inmunosuprimidos [176] y se ha asociado con periodontitis en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida [177]. Esto sugiere que un microambiente inflamatorio podría favorecer el desarrollo del CCR, aunque se requieren más estudios para confirmar esta hipótesis [141].

La diversidad de la microbiota oral varía geográficamente entre diferentes poblaciones y regiones [178,179]. En la revisión sistemática, la mitad de los estudios sobre microbiota oral y CCR eran de población asiática, mientras que solo 3 de los 16 estudios incluyeron población europea [141]. Por este motivo, la generalización de los resultados es limitada.

La mayoría de los estudios sobre la microbiota oral y el CCR han categorizado a los pacientes según el estadio de la enfermedad. Se ha observado que *Peptoanaerobacter stomatis* (anteriormente llamado *Peptostreptococcus stomatis*), *S. koreensis*, *Streptococcus anginosus* y *Solobacterium moorei* presentan una mayor abundancia en los estadios avanzados de CCR en comparación con los estadios tempranos [164]. Esto sugiere que podrían estar asociados no solo con la carcinogénesis, sino también con la progresión del CCR, contribuyendo a la generación de un ambiente inflamatorio [180].

La periodontitis se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedades crónicas, incluido el CCR, debido a la disbiosis de la microbiota oral y las vías inmunoinflamatorias asociadas a esta afección [141]. El estado de la salud periodontal y la higiene bucal son factores clave a considerar al interpretar los estudios sobre microbiota oral y CCR. Se ha encontrado una correlación positiva entre la abundancia de los géneros *Rothia* y *Streptococcus* en la saliva y el índice de higiene bucal [166]. Por otro lado, los niveles de *Alloprevotella*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* y *Prevotella* se correlacionan negativamente con dicho índice [166]. Además, los pacientes con CCR han mostrado una peor higiene bucal y salud periodontal en comparación con los controles [144,164,174]. Se ha postulado que mejorar las prácticas de higiene bucal podría reducir la abundancia de estas especies bacterianas, disminuyendo así el riesgo de que migren al intestino y, potencialmente, previniendo el CCR. Sin embargo, esta hipótesis aún no ha sido demostrada.

1.3.2.2 Lesiones precursoras del cáncer colorrectal y microbiota oral

Pocos estudios han investigado la microbiota oral en individuos con lesiones precursoras de CCR. Un estudio realizado en población asiática analizó la microbiota oral utilizando muestras de la capa de la lengua en individuos sin pólipos, con pólipos (sin diferenciar el tipo histológico) y con CCR [181]. Se observó que los grupos con pólipos y CCR presentaban una menor diversidad alfa en comparación con el grupo control, además de diferencias estadísticamente significativas en la diversidad beta entre los tres grupos. *Actinobacteria* fue más abundante en los grupos de pólipos y CCR en comparación con los controles sanos.

Otro estudio evaluó la microbiota oral mediante muestras de saliva en individuos sin pólipos y con pólipos, nuevamente sin diferenciar por tipo histológico [182]. Se identificaron diferencias tanto en la diversidad alfa como en la beta entre ambos grupos. En el grupo de pólipos se encontró una mayor abundancia de *Porphyromonas gingivalis*, *F. nucleatum*, y *Campylobacter concisus* en comparación con los controles.

Un tercer estudio comparó la microbiota oral en saliva entre pacientes con adenomas y CCR, sin hallar diferencias significativas en la diversidad alfa o beta entre ambos grupos [183].

Por otro lado, diversos estudios han demostrado la utilidad de los perfiles de microbiota para el cribado de lesiones colónicas [184–187]. La combinación de datos de microbiota oral y fecal para detectar CCR y adenomas alcanzó valores de AUC de 0,94 y 0,98, respectivamente, con una especificidad del 95% para ambos y una sensibilidad del 76% y 88%, respectivamente [143]. Especialmente prometedora es la alta sensibilidad para la detección de adenomas, dada la importancia pronóstica y terapéutica de un diagnóstico temprano de la enfermedad colónica.

1.3.3 Composición de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal es un ecosistema de microorganismos que habitan tanto en la luz como en la superficie de la mucosa intestinal, incluyendo microorganismos residentes y en tránsito. Su composición varía a lo largo del tracto gastrointestinal debido a factores como la oxigenación, disponibilidad de sustratos, pH y velocidad del tránsito intestinal [188]. El colon, específicamente el ciego, presenta el pico máximo de carga bacteriana (10^{11} a 10^{12} bacterias por gramo) y diversidad. La microbiota intestinal está formada por unas 400-500 especies bacterianas, mientras que el microbioma abarca alrededor de 3,3 millones de genes microbianos. El número de microorganismos presentes en el intestino humano es aproximadamente tres veces mayor que el total de células en el cuerpo humano [99]. Esta microbiota se adquiere durante las primeras etapas de vida a partir de la madre y, su composición y estructura están principalmente moldeadas por factores ambientales, ya que solo el 1,9% del microbioma intestinal es heredable [189]. Aunque su composición varía entre individuos, es relativamente estable en cada persona [190].

El 95% de la microbiota intestinal está compuesta por bacterias. En adultos, el 90% de las bacterias intestinales pertenecen a los filos *Bacteroidota* y *Firmicutes*. En menor proporción se encuentran *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria* y *Spirochaetes*, además de arqueas, hongos, protozoos, virus y otros microorganismos [191]. Las arqueas son escasas, siendo las productoras de metano, como *Methanobrevibacter smithii*, las más frecuentes [192]. Los hongos representan apenas el 0,1% de la microbiota intestinal; su composición se altera en diversas enfermedades y se cree que desempeñan un papel clave en la homeostasis intestinal y en la regulación del sistema inmunológico [193,194]. Por su parte, el viroma intestinal está dominado por bacteriófagos, que podrían influir en la estructura y composición de las comunidades bacterianas al depredar especies dominantes, aunque su impacto en la microbiota intestinal aún es poco conocido [195].

La composición de la microbiota intestinal está influida por factores como la dieta, el uso de medicamentos como antibióticos o IBP, el tiempo de tránsito colónico y la localización geográfica [193,196,197]. No obstante, la microbiota de una persona sana se caracteriza por su estabilidad y resiliencia. Por ejemplo, después de una preparación colónica, tiende a normalizarse en aproximadamente 14 días [198], y tras un tratamiento de antibioterapia de amplio espectro, suele recuperarse en unos 45 días [199]. Sin embargo, una exposición prolongada o repetida a estímulos negativos puede afectar particularmente a las especies minoritarias, que a menudo desempeñan un papel importante en el equilibrio del ecosistema intestinal.

La microbiota intestinal es fundamental para la fisiología del huésped, contribuyendo a la producción de sustratos, la síntesis de vitaminas, la maduración del sistema inmunológico y la protección contra patógenos entéricos [200,201]. Sus funciones principales se dividen en estructurales, metabólicas e inmunológicas (**figura 10**).

- Las **funciones estructurales** se centran en preservar la integridad de la barrera epitelial y mantener la capa de moco, lo que impide la invasión de patógenos y el crecimiento descontrolado de microorganismos residentes con potencial patógeno. La biopelícula bacteriana actúa como una barrera física, previniendo el acceso de bacterias enteroinvasoras, y produce sustancias antimicrobianas como bacteriocinas que inhiben el crecimiento de competidores. Por otro lado, la mucosidad producida por las células caliciformes garantiza el aislamiento entre el lumen intestinal y el epitelio [202].

- Las **funciones metabólicas** incluyen la fermentación de residuos no digeribles de la dieta, como carbohidratos complejos, que generan ácidos grasos de cadena corta (AGCC) utilizados como fuente de energía tanto por las bacterias como por los enterocitos. Los AGCC principales son el ácido acético, butírico y propiónico, y desempeñan un papel clave en el funcionamiento y la permeabilidad de la barrera intestinal [203]. Además, la microbiota del colon sintetiza aminoácidos esenciales, vitaminas como la vitamina K y compuestos antibacterianos (bacteriocinas, microcinas y colicinas) [204]. Los AGCC también influyen en la tolerancia inmunológica local y participan en señales del eje intestino-cerebro, impactando en la actividad neurotransmisora a distancia [205,206].

- Finalmente, la microbiota desempeña un papel esencial en la **inmunidad intestinal** y el mantenimiento de la **homeostasis inmunológica**, promoviendo una señalización tolerogénica que previene respuestas inmunes exageradas frente a antígenos externos [207]. Las interacciones entre los microbios, el epitelio y los tejidos linfoides intestinales remodelan continuamente la inmunidad local y sistémica. Esta relación es bidireccional, ya que el sistema inmunológico también modula la composición y estructura de la microbiota a través de mecanismos innatos y adaptativos [208].

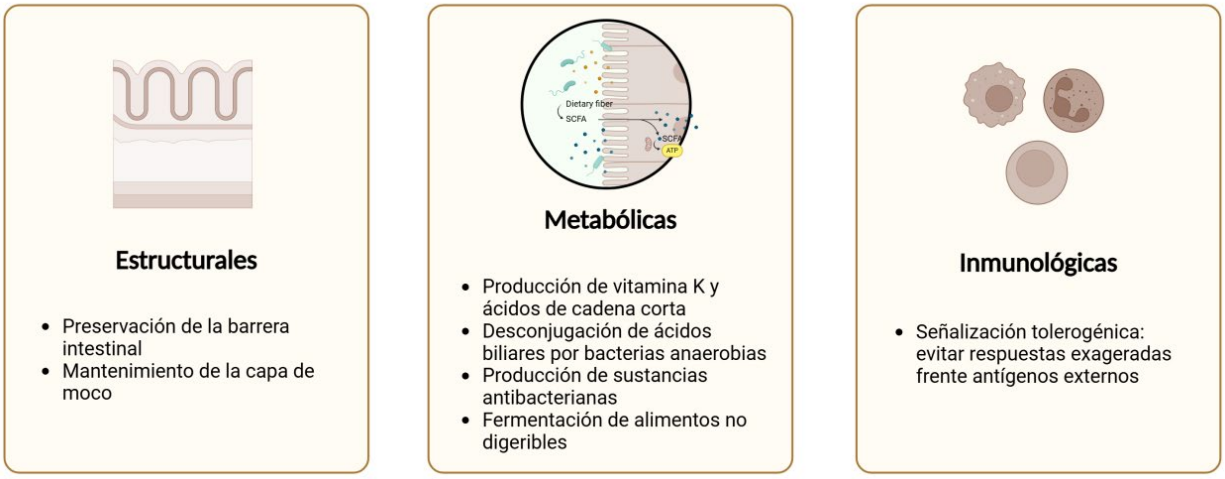


Figura 10. Funciones de la microbiota intestinal.

Creada con BioRender.com.

La composición bacteriana en el lumen varía desde el ciego al recto, mientras que la microbiota asociada a la mucosa se mantiene altamente estable desde el íleon terminal al recto. La microbiota de la mucosa intestinal se puede estudiar mediante biopsias o con el análisis del contenido luminal [209,210]. Un inconveniente de las biopsias es que pueden alterar las biopelículas durante su toma, además del efecto de la preparación intestinal de la colonoscopia [111]. La mayoría de los estudios sobre el microbioma intestinal se basan en muestras fecales, ya que es un procedimiento fácil y no invasivo [186,211]. Algunos investigadores afirman que las comunidades bacterianas en mucosa y heces difieren completamente en cuanto a composición y diversidad, debido a su dependencia del gradiente de oxígeno en el intestino y de los nutrientes proporcionados por el tejido del huésped [212,213]. Sin embargo, otros sostienen que es posible identificar variaciones similares en las especies bacterianas entre las biopsias de la mucosa intestinal y las muestras fecales [214,215]. En el CCR, varios estudios sugieren que las muestras de tejido son más relevantes para evaluar la participación fisiopatológica de la microbiota en la carcinogénesis colorrectal, mientras que las muestras fecales son más útiles para identificar marcadores diagnósticos o pronósticos no invasivos del CCR [212,213,216].

1.3.3.1 Cáncer colorrectal y microbiota intestinal

Diversos factores de riesgo asociados al CCR, como la dieta, la obesidad, el tabaquismo y el consumo de alcohol, también influyen en la composición de la microbiota intestinal [217–219]. En las últimas décadas, numerosos estudios han evidenciado el papel de la microbiota intestinal en la carcinogénesis del CCR. Se han identificado diferencias significativas en la composición de la microbiota, así como una disminución en su diversidad, al comparar muestras de mucosa tumoral con mucosa normal [220]. Además, se ha observado que la administración de muestras fecales de pacientes con CCR a ratones libres de gérmenes promueve la carcinogénesis intestinal [221].

Se postula que la disbiosis intestinal, combinada con una respuesta inmunitaria alterada, puede predisponer a inflamación crónica, y, como consecuencia, contribuir al desarrollo del CCR. Ciertas bacterias pueden generar alteraciones genéticas y epigenéticas mediante la producción de radicales superóxido y genotoxinas, además de activar vías carcinogénicas a través de los receptores tipo Toll [157,222–225].

Estudios en humanos han mostrado que la microbiota intestinal de pacientes con CCR presenta una menor diversidad bacteriana, con una menor abundancia de bacterias comensales y un aumento en bacterias procarcinogénicas [226,227]. En concreto, se han identificado niveles elevados de *Bacteroides, Prevotella, Escherichia coli, Bacteroides fragilis, Streptococcus gallolyticus* y *Enterococcus faecalis* en tejido tumoral comparado con tejido normal adyacente [228–233]. Además, se ha observado una mayor abundancia de *F. nucleatum* y *Clostridioides difficile* en pacientes con CCR frente a controles sanos [234]. Otros estudios han confirmado que *F. nucleatum* se asocia con otras bacterias gramnegativas como

Streptococcus, Campylobacter spp. y *Leptotrichia*, y que estas actúan sinérgicamente para promover el desarrollo del CCR [227,235].

El papel de los microorganismos en el desarrollo del CCR ha sido explicado a través del modelo de "conductor-pasajero" [236,237]. Según esta teoría, las bacterias "conductoras" generan genotoxinas que inducen daño en el ADN, lo que provoca alteraciones en el epitelio colónico y fomenta la formación de lesiones preneoplásicas. Ejemplos de estas bacterias incluyen *Bacteroides fragilis* y *Escherichia coli*. Por otro lado, el microambiente tumoral favorece la proliferación de bacterias oportunistas denominadas "pasajeras", que influyen en la progresión del cáncer mediante la modulación del sistema inmunológico, la promoción de la inflamación crónica y la alteración del metabolismo local. Especies como *F. nucleatum* y *Peptostreptococcus* son ejemplos de bacterias "pasajeras" que se encuentran con frecuencia en tumores colorrectales.

A continuación, se describen los mecanismos moleculares de las principales bacterias implicadas en la carcinogénesis del CCR (**tabla 3**).

Bacteria	Mecanismos propuestos de contribución al CCR
Enterococcus faecalis	Produce especies reactivas de oxígeno que pueden causar daño en el ADN, contribuyendo a la inestabilidad cromosómica [238].
Bacteroides fragilis enterotoxigénico	Genera una toxina directamente genotóxica que escinde la proteína supresora de tumores E-cadherina, provocando un aumento de la señalización de las vías Wnt/beta-catenina y NF-kB. Esto resulta en mayor permeabilidad de la mucosa y proliferación de colonocitos. Además, puede potenciar la tumorogénesis a través de su asociación con la sobreexpresión de la interleucina-17, la cual activa STAT3 y la respuesta inflamatoria mediada por células T-helper 17 [239].
Streptococcus gallolyticus	Prospera en el microambiente tumoral, es capaz de translocarse a través del epitelio y está asociado con un incremento en la señalización inflamatoria [240].
Escherichia coli	Ciertas cepas secretan colibactina, una toxina que induce rupturas de ADN de doble cadena en modelos murinos. Asimismo, estas cepas pueden reducir la expresión de proteínas responsables de la reparación de errores de apareamiento en el ADN [222].
Fusobacterium nucleatum	Produce la proteína adhesina FadA, que le permite unirse a la E-cadherina de las células epiteliales y activar la señalización Wnt. También recluta células inmunitarias al entorno tumoral y sobreexpresa genes relacionados con la inflamación [241].
Peptostreptococcus anaerobius	Induce la formación de especies reactivas de oxígeno al modular las células inmunitarias y al interactuar con los receptores tipo Toll, TLR-2 y TLR-4, presentes en las células del colon [242,243]. Esto estimula la inflamación y favorece la proliferación celular.
Parvimonas micra	Promueve la proliferación de colonocitos mediante el incremento en la infiltración de células Th17 y la activación de la vía de señalización oncogénica Wnt [244]. Cabe destacar que esta bacteria también está asociada a enfermedades orales como la periodontitis.

Tabla 3. Mecanismos moleculares de bacterias implicadas en el cáncer colorrectal.

Tabla adaptada de DeDecker *et al.* [157].
CCR: cáncer colorrectal. ADN: Ácido desoxirribonucleico.

Dado que la carcinogénesis del CCR varía según la vía molecular, es probable que el microbioma contribuya al inicio y/o progresión de cada vía de manera específica. Por ejemplo, se ha observado que los CCR asociados a la secuencia adenoma-carcinoma presentan una mayor abundancia de *Capnocytophaga*, *Selenomonas, Finegoldia* y *Prevotella* [245,246]. Por el contrario, los microbios orales *F. nucleatum*, *Parvimonas micra* y *Peptoanaerobacter stomatis* se han relacionado con los tumores clasificados dentro del subtipo de Consenso molecular 1 (CMS1), que está estrechamente asociado con la vía serrada [59,246]. En este contexto, el análisis de ARN ribosómico 16S reveló un aumento en las abundancias relativas de *Fusobacteria* y *Bacteroidota*, mientras que los niveles de *Firmicutes* y *Proteobacteria* disminuyeron en CMS1. A nivel de especie, *Fusobacterium hwasookii* y *Porphyromonas gingivalis* fueron las más enriquecidas en este subtipo. Además, se señaló que estos microbios orales son capaces de formar biopelículas. *Porphyromonas gingivalis*, en particular, co-agrega con *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, que también están enriquecidos en los tumores CMS1 [246].

Asimismo, se han identificado correlaciones entre otras especies microbianas y alteraciones moleculares, como el estado de *MLH1*, *BRAF* y *KRAS*. Se ha observado que los CCR con mutaciones en *KRAS* y *BRAF* muestran alta abundancia de *Bacteroides fragilis*, mientras que los tumores con mutaciones en *MLH1* presentan una menor abundancia de esta especie [247]. Además, una alta abundancia de *Bacteroides fragilis* se asoció con un peor pronóstico de supervivencia [247]. Finalmente, se ha reportado una correlación positiva entre *Ruminococcus gnavus* y mutaciones en *KRAS* en muestras provenientes de focos de criptas aberrantes, lo que sugiere un papel potencial en las primeras etapas de la carcinogénesis [248].

Las biopelículas son estructuras formadas por microorganismos que se adhieren entre sí y a una superficie mediante una matriz extracelular bacteriana [157]. Esta matriz favorece la supervivencia en condiciones de bajo nutriente y permite el intercambio de metabolitos con el entorno externo. En el colon, las biopelículas pueden crear entornos procancerígenos tan relevantes como los taxones específicos que las componen. Estas estructuras albergan bacterias orales, incluyendo comensales y patógenos periodontales como *F. nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis* [249]. Se ha detectado la presencia de biopelículas bacterianas polimicrobianas invasivas en un 89% de CCR proximales, en comparación con solo el 12% de los CCR distales [250]. En pacientes con CCR positivo para biopelículas, estas también se encontraron en la mucosa no tumoral, lejos de las lesiones. Las células epiteliales cubiertas por biopelículas mostraron disminución de la expresión de E-cadherina, mayor permeabilidad de la mucosa, incremento en los niveles de interleucina-6 y activación de STAT3, lo que promueve la inflamación y proliferación celular. Estos efectos sugieren que la formación de biopelículas y la invasión bacteriana permiten interacciones bacterianas persistentes con el epitelio, contribuyendo a la inflamación crónica y la carcinogénesis. Además, un estudio identificó estos cambios en un subconjunto de individuos sanos con biopelículas, lo que plantea la posibilidad de que estas estructuras desempeñen un papel en las etapas iniciales de la carcinogénesis del CCR. La asociación de biopelículas con el CCR proximal sugiere que podrían contribuir específicamente a la vía serrada.

La microbiota no solo juega un papel clave en la carcinogénesis del CCR, sino que también puede servir como un biomarcador para su detección. Estudios a gran escala en metagenomas fecales han identificado firmas microbianas capaces de predecir el CCR en distintas poblaciones [184,226,227]. *F. nucleatum* es la bacteria más frecuentemente identificada como biomarcador fecal del CCR, y además, ha demostrado su capacidad para diferenciar a pacientes con adenomas colorrectales de controles sanos [251].

Finalmente, el tipo de dieta también se asocia con el riesgo de CCR, en gran parte debido a los efectos que produce en la microbiota. Una dieta rica en fibra se ha vinculado con la prevención del CCR, posiblemente gracias a la producción de butirato por bacterias colónicas [252,253]. Los estudios sobre el butirato han demostrado que este compuesto reduce la inflamación, inhibe el crecimiento de células cancerosas y promueve su apoptosis [254]. Un desequilibrio en las bacterias productoras de butirato, folato y biotina podría favorecer la carcinogénesis, ya que estas moléculas están implicadas en la proliferación epitelial, tanto de forma directa como epigenética [157,255–257]. Las dietas ricas en grasas, que se asocian a un mayor riesgo de CCR, aumentan la secreción de ácidos biliares primarios los cuales son convertidos por los microorganismos intestinales en ácidos biliares secundarios [258,259]. Estos compuestos pueden actuar como carcinógenos al comportarse como mutágenos, inducir especies reactivas de oxígeno y activar el NF-kappa B, lo que desencadena inflamación [260]. Así mismo, una dieta baja en fibra reduce la disponibilidad de carbohidratos para la microbiota, lo que lleva a las bacterias a degradar la capa de moco rica en proteínas que protege el epitelio colónico [261]. Este cambio metabólico, de carbohidratos a proteínas, genera subproductos inflamatorios, mientras que la pérdida de la capa protectora de moco permite el contacto directo entre las bacterias y el epitelio. Finalmente, una dieta rica en grasas y carne roja aumenta la producción de trimetilamina-N-óxido (TMAO), un metabolito microbiano relacionado con un mayor riesgo de CCR [262,263]. El TMAO induce daño en el ADN, inflamación y estrés oxidativo [264].

1.3.3.2 Lesiones precursoras del cáncer colorrectal y microbiota intestinal

Los factores que contribuyen a la progresión de los precursores del CCR a través de las diversas vías de carcinogénesis aún no se comprenden por completo. Como ya se ha mencionado, el microbioma podría estar implicado en este proceso. Sin embargo, la mayoría de los estudios existentes se han centrado en analizar los cambios en el microbioma en pacientes con CCR o lesiones precursores, sin diferenciar los tipos histopatológicos, genéticos o epigenéticos [157]. La investigación de la microbiota en la formación de los dos tipos principales de pólipos colorrectales representa una oportunidad prometedora para ampliar el conocimiento sobre las etapas iniciales de la carcinogénesis y para el desarrollo de nuevos biomarcadores [11].

La mayoría de los estudios realizados en adenomas han identificado una disbiosis intestinal, caracterizada por una menor diversidad alfa y una mayor presencia de bacterias proinflamatorias en comparación con controles sanos [216,265,266]. Una revisión sistemática reciente reportó una reducción en la riqueza de especies bacterianas en pacientes con adenomas en comparación con controles sanos [216]. Entre las alteraciones composicionales de la microbiota, las más comunes fueron un aumento en la abundancia de *Fusobacterium*, *Escherichia-Shigella*, *Coprococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y/o *Ruminococcus* spp., y una disminución en *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Eubacteria*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y bacterias productoras de butirato, como *Clostridium*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Blautia* y *Dorea* spp.. Estas diferencias fueron evidentes tanto en muestras de mucosa como fecales.

Un estudio realizado con muestras fecales encontró que individuos con adenomas avanzados presentaban una disminución significativa en las bacterias productoras de butirato, como *Roseburia*, *Eubacteria* y *Clostridia*, en comparación aquellos con adenomas no avanzados y controles sanos [267]. Otros trabajos detectaron un aumento notable de *Fusobacterium*, *Enterococcus* y *Bacteroidota* en muestras fecales de adenomas avanzados, mientras que el filo *Firmicutes* y la proporción *Firmicutes*:*Bacteroidota* estaban reducidos [226,268]. En un estudio con 780 pacientes, se observó un incremento estadísticamente significativo de los géneros *Bilophila*, *Desulfovibrio*, *Sutterella* y *Mogibacterium* en las heces de pacientes con adenomas avanzados frente a individuos sanos [269]. *Bilophila* y *Desulfovibrio* producen ácido sulfhídrico y ácidos biliares secundarios, que pueden actuar como catalizadores en el desarrollo del CCR [269]. En muestras de tejido, se reportó un aumento de *Halomonadaceae* y *Shewanella algae*, y una disminución en *Coprococcus* y *Bacteroides ovatus* en adenomas avanzados en comparación con controles sanos [270].

La mayoría de los estudios sobre microbiota y lesiones precursoras del CCR se han centrado en los pólipos adenomatosos propios de la secuencia convencional adenoma-carcinoma, mientras que el papel de los microorganismos en la neoplasia serrada sigue siendo menos claro [271]. En un estudio basado en muestras fecales, se observó un enriquecimiento de los géneros *Actinomyces* y *Streptococcus*, junto con una disminución de las clases *Erysipelotrichi* y *Clostridia* en LSS en comparación con controles sanos [272]. El aumento de *Erysipelotrichi* se ha asociado con una capa de moco impenetrable en modelos murinos, lo que sugiere un posible papel protector frente al desarrollo de LSS [273]. Por otro lado, *Clostridium perfringens* se detectó exclusivamente en LSS con displasia, pero no en LSS sin displasia o adenomas. Dado que las LSS con displasia presentan mayor riesgo de progresión a CCR, se ha propuesto que *Clostridium perfringens* podría contribuir a la carcinogénesis mediante la activación de la proteína asociada a Yes (YAP) [274].

En un estudio realizado en 971 pacientes, se analizó la microbiota intestinal en individuos sin pólipos, con adenomas y con lesiones serradas utilizando muestras de heces [275]. En pacientes con adenomas, se identificó una disminución de enzimas relacionadas con el metabolismo del metano y un aumento en aquellas vinculadas al metabolismo de aminoácidos y lípidos, lo que

resultaría en una reducción de aminoácidos y un incremento en los productos de la lipogénesis [11]. Estos hallazgos coinciden con estudios previos de metagenómica a gran escala, que han demostrado una correlación positiva entre la degradación de aminoácidos y el CCR [276]. Además, los pacientes con adenomas mostraron una mayor abundancia de vías metabólicas tanto de aminoácidos esenciales como no esenciales, mientras que en los pacientes con LSS se observó únicamente un aumento en el metabolismo de aminoácidos esenciales. Las LSS también se asociaron con un incremento en el metabolismo del sulfato y de los ácidos biliares secundarios, así como una mayor producción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD). El mismo estudio también destacó la influencia de la dieta y la medicación sobre el microbioma en el desarrollo de pólipos colorrectales. Las bacterias *Flavonifractor plautii* y *Bacteroides stercoris* fueron más abundantes en pacientes con adenomas, pero su presencia disminuyó significativamente en aquellos que seguían una dieta rica en vegetales o utilizaban aspirina de forma concomitante. Esto sugiere una posible relación causal, en la que los efectos protectores del consumo de vegetales y del uso de aspirina frente al CCR podrían estar mediados por la reducción de especies microbianas específicas asociadas con la enfermedad. Estos hallazgos refuerzan la evidencia de que el efecto quimioprotector de la aspirina en el CCR no se limita a propiedades antiinflamatorias clásicas, sino que podría estar relacionado también con cambios en la composición del microbioma intestinal [11].

Un estudio con 140 individuos comparó la microbiota obtenida con cepillado y aspirado de la mucosa, así como muestras fecales, en controles sanos, personas con adenomas y aquellas con lesiones serradas [277]. Se encontró que las muestras fecales mostraban una mayor diversidad alfa y una composición diferente en comparación con las muestras de mucosa. Además, las muestras de mucosa de los controles sanos presentaron una mayor diversidad alfa respecto a los individuos con adenomas, aunque esta diferencia no se observó en muestras fecales. En individuos con adenomas, se detectó una mayor abundancia en la mucosa de *Lachnospiraceae*, *Bacteroides fragilis* y *Ruminococcus gnavus*, previamente asociados al CCR y a la enfermedad inflamatoria intestinal. También se encontró un aumento de *Clostridium scindens*, conocido por metabolizar ácidos biliares primarios no absorbidos en ácidos biliares secundarios. Es importante destacar que no se observaron diferencias en la abundancia de *F. nucleatum* entre los grupos. En las lesiones serradas, se identificó una disminución de *Eggerthella lenta* y sus CAZymes (enzimas de la familia de carbohidratos) en los aspirados mucosos. Esta bacteria convierte lignanos vegetales inertes en enterolignanos bioactivos, que tienen efectos antiproliferativos y antiinflamatorios, además de modular la señalización estrogénica, el metabolismo lipídico y la regulación de los ácidos biliares [278,279]. Dichos compuestos se han asociado con un menor riesgo de cáncer [280]. Asimismo, se detectó una reducción de *Anaerostipes hadrus*, bacteria productora de butirato, en los aspirados de mucosa de lesiones serradas [277]. El butirato actúa como inhibidor de la histona deacetilasa, regulando epigenéticamente genes clave. En la vía serrada, el gen *SLC5A8*, que facilita la captación de AGCC en las células epiteliales del colon, a menudo está inhibido mediante metilación del promotor, lo que subraya la importancia de la fibra dietética para la regulación epigenética celular.

Por otro lado, algunos estudios no han encontrado diferencias significativas en la microbiota de individuos con lesiones serradas respecto a controles sanos, adenomas y CCR [265,281]. Sin embargo, estos estudios presentaron limitaciones por el reducido tamaño muestral, con solo 16 individuos con LSS en un estudio y 6 en otro [265,281].

Por último, en un estudio de casos-controles retrospectivo, se sugirió una posible asociación entre la espiroquetosis intestinal humana y las LSS. La tasa de infección por espiroquetas fue significativamente mayor en individuos con LSS (52,6%) que en los controles (8,1%) [282]. Sin embargo, este hallazgo requiere validación en estudios más amplios y poblaciones más diversas.

En la **figura 11**, se resumen las especies microbianas y sus funciones metabólicas asociadas con LSS y adenomas.

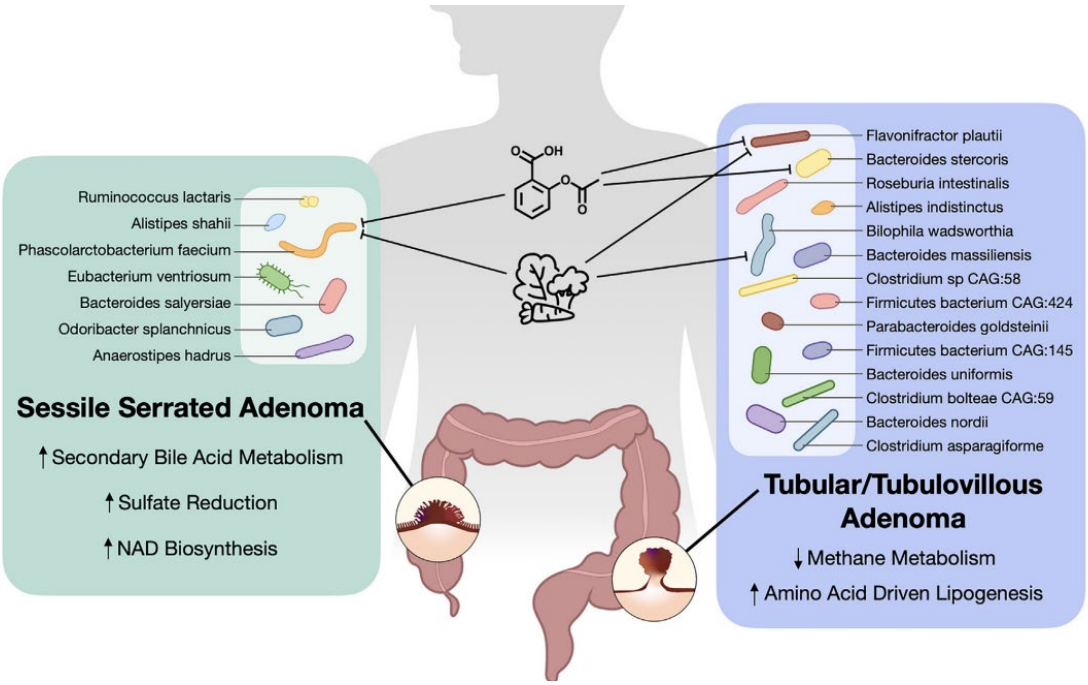


Figura 11. Tipos de pólipos colorrectales y sus especies microbianas y funciones metabólicas microbianas asociadas.

Especies microbianas específicas asociadas positivamente con LSS y adenomas (mostrados en orden de la asociación más fuerte a la más débil).
Imagen obtenida de Zhao *et al.* [11].

El hecho de que las lesiones serradas se localicen preferentemente en ubicaciones específicas del colon sugiere que factores no genéticos, como la microbiota específica de nicho, podrían interactuar con alteraciones genéticas para influir en su desarrollo [49]. En un estudio basado en ratones transgénicos, utilizando análisis inmunohistoquímicos e inmunoblot, se encontró que la vía de señalización de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) está activada en las lesiones serradas humanas [283]. La activación de la señalización de EGFR mediante la

expresión transgénica de su ligando, el factor de crecimiento similar al EGF con unión a la heparina (HBEGF), en el intestino de ratones promueve el desarrollo de lesiones serradas en el ciego [283]. Además, se demostró que la microbiota específica del huésped estaba asociada con la formación de lesiones serradas. La alteración de esta microbiota, ya sea inducida por antibióticos o mediante rederivación por transferencia de embriones, suprimió la formación de lesiones serradas en el ciego de ratones transgénicos diseñados para sobreexpresar HBEGF (HBUS, del inglés, *HBEGF Upregulated System*) [284]. El desarrollo de lesiones serradas se relacionó con la ruptura de la barrera epitelial, la invasión bacteriana y la sobreexpresión de diversos factores inflamatorios [284,285]. En este contexto, la liberación de interleucina-1β por macrófagos inflamatorios estimula subconjuntos de fibroblastos del ciego que expresan el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGRFA+). Este proceso ocurre en una etapa temprana del desarrollo de lesiones serradas y resulta en la sobreexpresión de la metaloproteinasa de matriz 3 (MMP3), que puede promover la inflamación y acelerar el desarrollo de estas lesiones al facilitar la señalización HBEGF/EGFR [285]. Por otro lado, utilizando la secuenciación del ARN 16S, se observó que el filo bacteriano *Verrucomicrobia* estaba enriquecido, mientras que *Deferribacteres* estaba disminuido en la mucosa cecal de ratones HBUS rederivados [284].

Fusobacterium nucleatum en las lesiones precursoras del cáncer colorrectal

F. nucleatum es una bacteria anaerobia gramnegativa muy prevalente en la cavidad oral, asociada a periodontitis, gingivitis, enfermedad inflamatoria intestinal, abscesos hepáticos y apendicitis [286]. Varios estudios han demostrado que *F. nucleatum* está enriquecido en muestras de tejido de pacientes con CCR en comparación con muestras de tejido normal adyacente, mientras que otros han identificado un aumento de *F. nucleatum* en muestras fecales de pacientes con CCR en comparación con sujetos sanos [226,287–289]. Como se ha comentado previamente, esta bacteria se ha asociado con el subtipo CMS1 del CCR, lo que ha llevado a investigar si también podría estar implicado en su lesión precursora, la LSS [230,290–292].

En un estudio realizado en población asiática, se utilizó qPCR para detectar *F. nucleatum* en tejido de PH, LSS, AST y adenomas. Los resultados indicaron que esta bacteria no estaba significativamente asociada con la histología de las lesiones, sino con lesiones precursoras del colon proximal que presentaban IMS, mutaciones en *BRAF* y CIMP-A, en comparación con lesiones CIMP-B o negativas [290]. Entre el 30 y 40% de LSS fueron positivas para *F. nucleatum*, observándose una frecuencia creciente desde el sigma hasta el ciego. Una posible explicación para este aumento en el colon proximal es que la capa mucosa producida por estas lesiones favorezca la supervivencia de la bacteria. Otro estudio no encontró diferencias significativas en la prevalencia de *F. nucleatum* entre diferentes tipos de lesiones preneoplásicas, pero sí observó que su presencia en tejido aumentaba con el grado histológico de las lesiones [290,293]. En otro trabajo, se analizó el *F. nucleatum* invasivo mediante hibridación in situ con fluorescencia (FISH) del ARN ribosómico 16S en tejido de pacientes con PH, LSS, adenomas y CCR [294]. Esta técnica permitió diferenciar entre *F. nucleatum* invasor, localizado en células epiteliales

colorrectales, y *F. nucleatum* presente en biopelículas. Los resultados mostraron una mayor prevalencia de *F. nucleatum* invasor en CCR proximales (89,6%) frente a los distales (42,2%). Además, *F. nucleatum* invasor fue más frecuente en LSS (78,8%) y en PH proximales (65,7%) que en adenomas proximales (28,9%) y distales (24,4%). Asimismo, los PH distales presentaron una mayor prevalencia de *F. nucleatum* (47,5%) en comparación con los adenomas. Por otro lado, el porcentaje de otras bacterias invasoras en LSS y PH fue del 12,1-14,3%, mientras que en los adenomas alcanzó el 31,7-42,1%. No se observó correlación entre la presencia de *F. nucleatum* en biopelículas y su forma invasora.

En muestras de heces, tres estudios han reportado un aumento de *F. nucleatum* en pacientes con adenomas en comparación controles, sin embargo, otros dos estudios no han encontrado estas diferencias [226,227,295–297]. No se han observado diferencias significativas en la abundancia de *F. nucleatum* entre lesiones serradas y controles sanos o adenomas [272,275,277], excepto en un estudio donde se detectó un aumento de *F. nucleatum* en pacientes con adenomas en comparación con las lesiones serradas [265].

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

El SPS es el síndrome de poliposis más frecuente; a pesar de ello, contamos con poca información sobre su patogenia. Por un lado, se ha observado que los familiares directos de los pacientes presentan un mayor riesgo de CCR, pero, por otro lado, solo se han identificado variantes patogénicas germinales en casos aislados. La microbiota oral e intestinal de estos pacientes podría desempeñar un papel en la etiopatogenia del síndrome, además de justificar el mayor riesgo de CCR en sus familiares directos.

Se trata de un síndrome con criterios diagnósticos clínicos que en ocasiones han sido cuestionados debido a su arbitrariedad. Es necesario disponer de criterios que faciliten la diferenciación entre pacientes con SPS y aquellos con lesiones serradas esporádicas. La microbiota diferencial podría utilizarse como biomarcador diagnóstico para el SPS.

Hipotetizamos que los pacientes con SPS presentan una disbiosis oral e intestinal característica y diferente de los pacientes con lesiones serradas esporádicas, adenomas o individuos sin pólipos. La disbiosis oral podría contribuir a la modificación de la microbiota intestinal de los pacientes con SPS, influyendo así en la carcinogénesis inicial. Además, la bacteria *F. nucleatum* podría ser más abundante tanto a nivel oral como intestinal en individuos con SPS en comparación con el resto de grupos, dada su asociación con el subtipo CMS1 del CCR y con las lesiones serradas proximales.

En los últimos años, el estudio de la microbiota en pacientes con lesiones preneoplásicas colorrectales se ha centrado principalmente en los casos esporádicos, y hasta la fecha no existen estudios que describan la microbiota oral e intestinal, de forma conjunta, en pacientes con SPS.

La consecución de los objetivos de este trabajo podría permitir avanzar en la comprensión de la patogenia del síndrome y sentar las bases para un diagnóstico microbiológico. La identificación de firmas microbianas en saliva y heces podría mejorar las estrategias de diagnóstico de SPS y contribuir al desarrollo de enfoques personalizados para la prevención y el manejo de la enfermedad. Además, se trataría del primer estudio sobre microbiota oral e intestinal en lesiones precursoras del CCR en población española.

Finalmente, este estudio podría abrir las puertas para futuros trabajos cuyo objetivo sea la modificación de la microbiota de estos pacientes, con la finalidad de cambiar historia natural del síndrome.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

- Caracterizar la microbiota oral e intestinal de individuos con SPS y compararla con individuos con lesiones serradas, pólipos adenomatosos y controles sin pólipos.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Correlacionar los hallazgos de la microbiota oral con la intestinal entre los diferentes grupos.
- Determinar la asociación entre las características de la microbiota oral e intestinal de los individuos y sus variables clínicas.
- Explorar y comparar la abundancia de la bacteria *F. nucleatum* en muestras de saliva y heces de pacientes con SPS, individuos con lesiones serradas, pólipos adenomatosos y controles sin pólipos.

4. MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Se diseñó un estudio observacional de casos y controles, prospectivo, bicéntrico a nivel nacional en individuos adultos.

Se incluyeron cuatro grupos de estudio: pacientes con SPS (grupo SPS), individuos con lesiones serradas (grupo serrado), individuos con adenomas (grupo adenoma) e individuos sin pólipos (grupo control).

El periodo de reclutamiento fue desde enero de 2021 hasta diciembre de 2023. El reclutamiento se realizó en las consultas de gastroenterología y en las consultas del cribado poblacional de CCR del Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona y del Hospital Santos Reyes de Aranda de Duero.

Los **criterios de inclusión** fueron los siguientes:

1) Grupo SPS: Individuos que cumplan los criterios diagnósticos modificados de la OMS 2019 de SPS y que tengan una colonoscopia reciente (realizada en los últimos 3 meses) en la que se reseque al menos una lesión serrada (definida como pólipo hiperplásico o lesión serrada sésil) proximal al recto de tamaño ≥5 mm.

2) Grupo serrado: Individuos que tengan una colonoscopia reciente (realizada en los últimos 3 meses) en la que se reseque al menos una lesión serrada proximal al recto de tamaño ≥5 mm. No deben cumplir criterios de SPS ni presentar 5 o más lesiones serradas metacrónicas o sincrónicas.

3) Grupo adenoma: Individuos que se hayan realizado una colonoscopia reciente (realizada en los últimos 3 meses) con resección de al menos un adenoma de tamaño ≥5 mm.

4) Grupo control: Individuos que se hayan realizado una colonoscopia reciente (realizada en los últimos 3 meses) en la que no se haya detectado ningún pólipo.

Los **criterios de exclusión** fueron:

- Sospecha de síndromes hereditarios de predisposición al CCR.
- Antecedente de CCR.
- Consumo de antibioterapia, probióticos o prebióticos en los últimos 3 meses a la inclusión.
- Colonoscopia incompleta o con preparación inadecuada en algún tramo.

- Pólipos resecados y no recuperados para análisis histológico.
- Lesiones serradas sincrónicas en la colonoscopia de inclusión del grupo de adenomas.
- Diagnóstico de CCR, pólipos hamartomatosos o indeterminados en la colonoscopia de inclusión.

Este estudio no contempló un cálculo formal del tamaño muestral previo al inicio de la recolección de datos, ya que se diseñó como un estudio piloto de carácter exploratorio. En este contexto, el objetivo principal fue evaluar la viabilidad del protocolo, explorar tendencias preliminares y generar hipótesis para futuros estudios confirmatorios. En el ámbito de la investigación en microbiota, es habitual adoptar este tipo de aproximación en fases iniciales, dado que la elevada variabilidad interindividual del microbioma humano y la limitada disponibilidad de estudios previos comparables en la población de interés dificultan la estimación precisa del tamaño muestral basada en potencia estadística.

En consecuencia, se optó por un enfoque pragmático, definiendo un tamaño muestral factible desde el punto de vista logístico, ético y temporal, que permitiera obtener una caracterización preliminar de la microbiota oral e intestinal en los distintos grupos de estudio. Los hallazgos deben interpretarse como generadores de hipótesis que requieren validación en cohortes independientes de mayor tamaño, si bien permiten estimar tamaños del efecto útiles para el cálculo muestral en futuros estudios.

La caracterización de la microbiota se realizó mediante secuenciación del gen 16S rRNA, una técnica ampliamente utilizada en estudios poblacionales del microbioma por su capacidad para identificar y comparar la composición taxonómica de comunidades bacterianas de forma robusta y coste-efectiva. Este enfoque permite analizar simultáneamente múltiples muestras y detectar diferencias en la diversidad y abundancia relativa entre grupos, siendo especialmente útil en estudios exploratorios. Adicionalmente, se realizó la cuantificación específica de *F. nucleatum* mediante qPCR, debido a su mayor sensibilidad y especificidad para la detección de taxones concretos

4.2. Aspectos éticos y cumplimiento de la legislación vigente

El protocolo del estudio se adhirió a los principios de la Declaración de Helsinki y recibió la aprobación del Comité de Ética de Investigación del Hospital Universitario Vall d'Hebron (PR(AG)400/2020; 10 de julio de 2020).

Todos los sujetos incluidos otorgaron su consentimiento informado por escrito, autorizando el almacenamiento y uso de sus muestras biológicas con fines de investigación.

4.3. Recogida de datos y muestras

Recogida de datos:

Se realizó una entrevista mediante cuestionario a los participantes en la que se obtuvieron los siguientes datos:

a) **Personales y patológicos**: sexo, edad en el momento de la colonoscopia, peso, talla, hábito tabáquico, tipo de parto, actividad física recomendada, antecedentes de hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus, síndrome de intestino irritable, enfermedad inflamatoria intestinal, cirrosis hepática, antecedentes de neoplasias, cirugía abdominal en los últimos 3 meses, uso de IBP y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) o ácido acetilsalicílico (AAS) en los últimos 3 meses, consumo de suplementos de vitamina D y calcio, metformina o estatinas.

   En el grupo con SPS, se registraron el tipo de criterio diagnóstico, la edad al momento del diagnóstico y los resultados del panel de genes germinales, si lo tenían realizado.

   La definición de actividad física recomendada fue la siguiente:

   - 150 minutos por semana de actividad física moderada, que incluye: caminar a paso rápido, bailar, jardinería, tareas domésticas, caza y recolección tradicionales, participación activa en juegos y deportes con niños, paseos con animales domésticos, o el desplazamiento de cargas moderadas (< 20 kg).
   - 75 minutos por semana de actividad física intensa, que incluye: correr, ascender a paso rápido o trepar por una ladera, desplazamientos rápidos en bicicleta, aerobic, natación rápida, deportes y juegos competitivos, o el desplazamiento de cargas pesadas (> 20 kg)
   - O una combinación de ambas, considerando que 2 minutos de actividad física moderada equivalen a 1 minuto de actividad física intensa.

b) **Antecedentes familiares** de primer grado de neoplasia especificando el tipo de cáncer, la edad al diagnóstico y el grado de parentesco.

c) **Endoscópicos**: Indicación de la prueba, tipo de solución evacuante utilizada, número de lesiones, tamaño, diagnóstico histológico y localización en la colonoscopia actual. Se definieron como pólipos proximales los localizados en ciego, colon ascendente, ángulo hepático, colon transverso y ángulo esplénico; y pólipos distales los localizados en colon descendente, sigma y recto. Asimismo, se recopiló información sobre el número de lesiones, tamaño, diagnóstico histológico y localización de pólipos en colonoscopias previas.

d) **Cuestionario sobre salud dental** con las siguientes preguntas:

- ¿Alguna vez tiene mal aliento o mal gusto?
- ¿Alguna vez tiene encías inflamadas, rojas, sensibles o sangrantes?
- ¿Alguna vez vio que las encías retroceden o se alejan del diente?
- ¿Alguna vez ha tenido gingivitis o periodontitis?
- ¿Alguna vez ha tenido caries?
- ¿Con qué frecuencia se lava los dientes?
- Evidencia de enfermedad periodontal a la exploración oral, realizada por un gastroenterólogo.

e) **Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA)** validado para población española [298], se adjunta en **Anexo 1**. Para valorar correctamente el tamaño de las raciones de los alimentos se utilizó un atlas fotográfico de porciones de alimentos [299] (**Anexo 2**). Las respuestas obtenidas del CFCA sobre la frecuencia semanal o mensual de consumo de cada ítem se transformaron en el número de veces consumidas al día. Posteriormente, se calcularon los gramos consumidos por día multiplicando la frecuencia de consumo diaria de cada ítem por el peso de la porción habitual correspondiente. Se realizaron las siguientes modificaciones del CFCA validado:

- Se eliminaron los ítems golosinas y cerveza sin alcohol.
- Se ajustaron los pesos de algunos alimentos: 100 gr. de lechuga por 60 gr.; 150 gr de patata al horno por 100 gr.; 70 gr. de arroz y pasta por 100 gr.; 60 gr. de legumbres por 100 gr.; 30 gr. de sopa por 200 gr.; 150 gr de pollo por 175 gr..
- Se añadió un nuevo ítem: 80 gr. de otras carnes definidas como bacón, nuggets, salchichas, morcilla, butifarra.

Los datos del estudio se recopilaron y gestionaron utilizando REDCap (*Research Electronic Data Capture*) gestionada por la Asociación Española de Gastroenterología. REDCap es una plataforma de software segura basada en una web diseñada para respaldar la captura de datos para estudios de investigación [300,301].

Recogida de muestras:

a) **Muestras de saliva**: Los participantes recolectaron una muestra de saliva en su domicilio entre 30 y 90 días después de haberse realizado la colonoscopia. Para ello, debían depositar 2 ml de saliva escupiendo en un tubo Falcon de 15 ml que contenía 7 ml de etanol al 95% diluido en agua.

b) **Muestra de heces**: Los participantes recolectaron una muestra de heces en su domicilio entre 30 y 90 días después de la realización de la colonoscopia. La muestra se depositó

en un tubo para heces equipado con una cuchara, que contenía 7 ml de etanol al 95% diluido en agua [302].

Ambas muestras se congelaron inmediatamente tras su obtención en el congelador del domicilio a -20ºC. El traslado se realizó en un plazo máximo de 7 días desde la recogida, utilizando un sistema portátil térmico. Las muestras se almacenaron en el laboratorio del grupo de Fisiología y Fisiopatología Digestiva del Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR). Una vez en el laboratorio, los botes de heces se centrifugaron a 4ºC durante 20 minutos a 4.000 rpm. Posteriormente, se realizaron alícuotas de 275 mg de heces y se almacenaron a -80ºC, al igual que las muestras de saliva.

4.4. Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo en el laboratorio del grupo de Fisiología y Fisiopatología Digestiva del VHIR.

El ADN fue extraído de las muestras de saliva y heces utilizando el método descrito por Godon [303,304], siguiendo además las recomendaciones de los *International Human Microbiome Standards* para muestras de heces (http://www.microbiome-standards.org/) [305].

Para las muestras de saliva, los tubos de 15 ml se centrifugaron durante 15 minutos a 11.000g y a 4ºC, eliminando posteriormente el sobrenadante. En ambas muestras (saliva y heces), se añadieron 800 mg de bolitas de 0,1 mm de silicato de circonio antes de la extracción. Para la lisis química, cada muestra fue suspendida en 250 µl de guanidina tiocianato, 40 µl de N- Lauril sarcosina al 10% y 500 µl de N-Lauril sarcosina al 5%. Las muestras fueron incubadas a 70ºC durante 1 hora. La disrupción mecánica de la pared celular microbiana se realizó agitando la mezcla en un BeadBeater (Biospec Products©) a una velocidad media de aproximadamente 1.500 oscilaciones/minuto. Tras esto, se añadieron 15 mg de PVPP (polivinilpolipirrolidona) y se realizaron varios lavados para precipitar y eliminar restos celulares y proteínas. Posteriormente, se realizó la digestión enzimática del ARN remanente, obteniendo el ADN, que fue precipitado con etanol absoluto y acetato de sodio 3M. El ADN de las muestras de saliva se resuspendió en 60 µl de tampón Tris-EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y el de heces en 200 µl de tampón Tris-EDTA. Finalmente, las muestras fueron congeladas a -20ºC (**figura 12**).

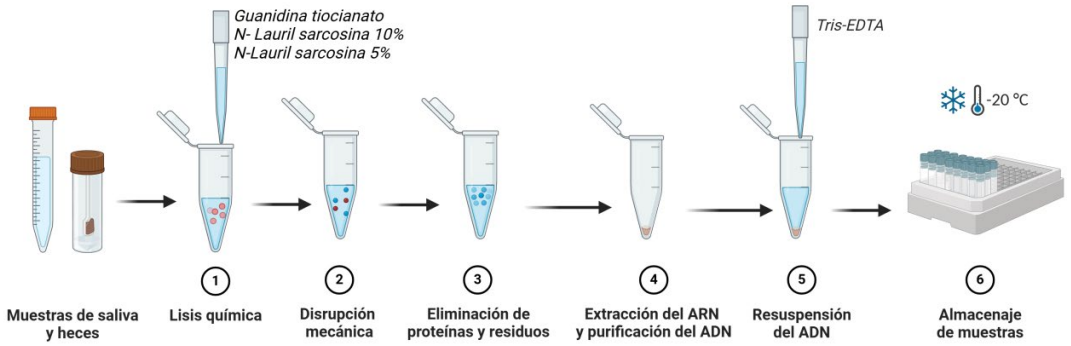


Figura 12. Resumen de los pasos para la extracción de ADN.

Creada con BioRender.com.

La cuantificación de ADN se llevó a cabo mediante un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (Nucliber©). La integridad del ADN fue evaluada mediante electroforesis micro-capilar utilizando el Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies©).

4.5. Secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA

La secuenciación 16S rRNA de saliva y heces fue realizada por la compañía Novogene con sede en Reino Unido. Se utilizó la plataforma Illumina®. Los pasos realizados fueron los siguientes (**figura 13**):

4.5.1 Amplificación del gen 16S rRNA (generación de amplicones)

Se procedió a la amplificación del material genético bacteriano mediante una reacción de PCR convencional, dirigida a la región variable V4 del gen 16S rRNA. Para ello, se utilizaron los siguientes cebadores específicos para Illumina® MiSeq Technology, dirigidos al gen 16S: Forward V4_515F 5' GTGCCAGCMGCCGCGGTAA 3' y Reverse 806R 5'GGACTACHVGGGTWTCTAAT 3', junto con un *barcode* único añadido a cada muestra.

Todas las reacciones de PCR se realizaron con 15 µL de Phusion® High - Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs), 0,2 µM de cebadores forward y reverse, y 10 ng de plantilla de ADN. El ciclo térmico consistió en una desnaturalización inicial a 98ºC durante 1 minuto, seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 98ºC durante 10 segundos, hibridación a 50ºC durante 30 segundos, y elongación a 72ºC durante 30 segundos, con un ciclo final a 72ºC durante 5 minutos.

4.5.2 Cuantificación y cualificación de los resultados de PCR

Para la cuantificación de amplicones se utilizó el Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). Para el control de calidad de las muestras, se realizó una electroforesis con gel de agarosa al 2% para descartar degradación de ADN o posible contaminación. La aparición de bandas confirmó la generación de amplicones durante la amplificación de PCR, mientras que la ausencia de bandas podría deberse a la baja presencia de ADN bacteriano en la muestra o a la presencia de inhibidores de PCR en el procedimiento. Se utilizó un gel de agarosa al 2% debido a que los amplicones generados no superan los 500 pares de bases (pb).

Los amplicones se purificaron mediante perlas magnéticas utilizando el sistema AMPure XP (Beckman Coulter). Las muestras se mezclaron en proporciones equidensitarias basadas en la concentración de los productos de PCR, determinada mediante Agilent 2100 Bioanalyzer.

4.5.3 Preparación de biblioteca de secuenciación y secuenciación Illumina

Las bibliotecas cuantificadas se agruparon y secuenciaron en plataformas Illumina utilizando el método de extremos emparejados, generando lecturas de 250 pb. La técnica de secuenciación empleada, conocida como secuenciación de extremos emparejados (del inglés, *paired-end*), permite obtener secuencias de ADN tanto del extremo 5' como del extremo 3' de cada fragmento de ADN original. Este método no solo duplica el número de lecturas generadas en el mismo tiempo y con el mismo esfuerzo de preparación de la biblioteca, sino que también mejora la precisión de la alineación de la lectura, facilita la eliminación de duplicados de PCR (un artefacto común causado por la amplificación de PCR) y optimiza la calidad de los datos obtenidos.

Los pasos fueron:

- **División de datos**: Las lecturas de extremos emparejados se asignaron a las muestras según sus códigos de barras únicos. Posteriormente, se truncaron eliminando las secuencias correspondientes a los códigos de barras y a los cebadores.
- **Ensamblaje de secuencias**: Las lecturas de extremos emparejados se unieron utilizando la herramienta FLASH (V1.2.11, http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/) [306], diseñada para unir lecturas que se solapan con las generadas desde el extremo opuesto del mismo fragmento de ADN. Las secuencias resultantes de este ensamblaje se denominaron secuencias "brutas".
- **Filtración de datos:** Se realizó un filtrado de calidad en las secuencias "brutas" utilizando el software *fastp* (versión 0.23.1) para obtener secuencias limpias y de alta calidad [307].

- **Eliminación de quimeras:** Las secuencias limpias se compararon con la base de datos de referencia (base de datos SILVA v138 [16S], https://www.arbsilva.de/) para identificar secuencias quiméricas. Posteriormente, estas se eliminaron empleando el paquete *vsearch* (V2.16.0, https://github.com/torognes/vsearch) [308]. Las secuencias restantes se denominaron secuencias efectivas.

4.5.4 Depuración de VSAs y anotación de especies

- **Depuración de VSAs**: Se aplicó un proceso de depuración a las secuencias efectivas utilizando los módulos DADA2 en el software QIIME2 (Versión QIIME2202202), obteniendo las VSAs iniciales.

- **Anotación de especies:** La anotación de especies se realizó mediante el software QIIME2, utilizando la base de datos SILVA como referencia. Para analizar las relaciones filogenéticas entre las VSAs y las diferencias en las especies dominantes entre muestras, se realizó una alineación de secuencias múltiples utilizando QIIME2. Además, la abundancia absoluta de VSAs se normalizó empleando como estándar el número de secuencias correspondiente a la muestra con menor cantidad de secuencias. Los análisis de alfa y betadiversidad se realizaron en base a los datos normalizados.

Se seleccionaron los 10 taxones más abundantes de cada muestra en cada nivel taxonómico (filo, clase, orden, familia, género, especie) para el cálculo de abundancia relativa. El árbol filogenético, también conocido como árbol evolutivo, describe las relaciones evolutivas entre diferentes especies. Para esto, se seleccionaron los 100 géneros con mayor abundancia en las muestras y se realizaron alineaciones de secuencias. Finalmente, el árbol filogenético se visualizó mediante scripts en Perl utilizando la función SVG.



Figura 13. Pasos para la secuenciación de amplicones del gen 16S rRNA.

4.6. PCR cuantitativa para *Fusobacterium nucleatum*

Las copias del gen 16S rRNA de *F. nucleatum* se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) en el laboratorio del grupo de Fisiología y Fisiopatología Digestiva del VHIR.

La amplificación se realizó utilizando el sistema 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). La reacción de PCR de *F. nucleatum* se llevó a cabo con TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems), empleando una concentración de 300 nM para cada cebador y 100 nM para la sonda. La **tabla 4** muestra los cebadores y sondas utilizados para *F. nucleatum* [186].

Secuencia de nucleótidos 5' → 3'	Tamaño (pb)
F. nucleatum Forward: TTC AAT AAA AGT GGC AGG TCA AG Reverse: TAA CAA CAC ATG CAG GTC AAT GG Sonda: FAM-ACT CGA ACC CCC AAC CCT CGG TTT-TAMRA	100

Tabla 4. Cebadores y sonda utilizados para *F. nucleatum*.

F. nucleatum: *Fusobacterium nucleatum*, pb: pares de bases.

Las condiciones de la reacción para PCR de *F. nucleatum* fueron: 2 minutos a 50ºC, 10 minutos a 95ºC, seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95ºC y 1 minuto a 60ºC (**figura 14**). Todas las muestras se realizaron por triplicado y se calculó la media de los valores. Los datos se analizaron con Sequence Detection Software versión 1.4, suministrado por Applied Biosystems.

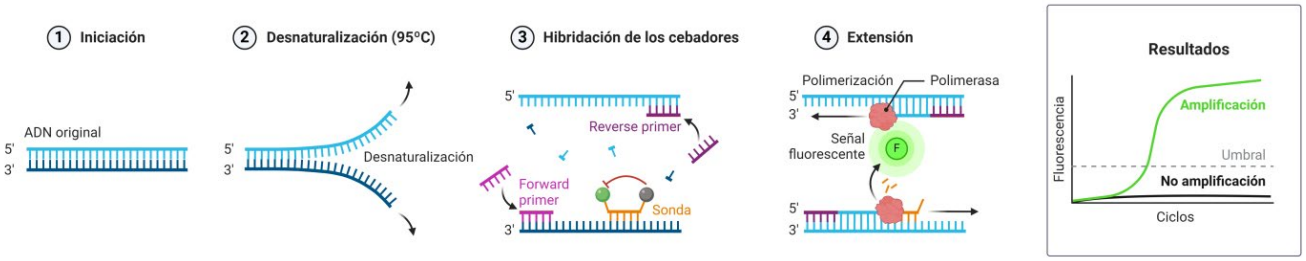


Figura 14. Representación gráfica de la amplificación de PCR cuantitativa.

Creada con BioRender.com.

Para generar las curvas estándar, se calculó la cantidad de plásmidos en los cuales se había insertado el amplificado de *F. nucleatum*. Se realizaron diluciones en serie de estos plásmidos para extrapolar los resultados. La concentración de los plásmidos se midió con el espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (ThermoScientific, Wilmington, DE, USA), y el número de copias se calculó a partir del peso molecular del plásmido. Los resultados se expresaron como abundancia absoluta en copias por mililitro de saliva y gramo de heces.

Se añadieron controles adicionales durante la realización de la PCR para descartar posibles contaminaciones durante la extracción y la amplificación. Todos los amplicones con signos de posible contaminación fueron descartados y repetidos.

4.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa "R" (versión 4.4.0, 11de abril de 2025, Copyright (C) 2025 The R Foundation for Statistical Computing) en la Unidad de Estadística y Bioinformática del VHIR.

La normalidad de las variables cuantitativas se evaluó mediante el test de Shapiro-Wilk y la inspección gráfica de su distribución. Las variables continuas se expresaron como media y desviación estándar, y como mediana y el rango intercuartílico (RIC) si no presentaban una distribución normal. Las variables categóricas se proporcionaron como frecuencias absolutas y relativas, así como el intervalo de confianza exacto al 95%. Para comparar las diferentes categorías de las variables de interés, se utilizó un test de comparación entre grupos. En el caso de las variables cuantitativas, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar más de dos grupos cuando no se cumplían los supuestos de normalidad. Para las variables categóricas, se realizó la prueba chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher cuando las frecuencias esperadas eran inferiores a 5 en algún caso. Todos los análisis fueron de dos colas y la significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

Para las comparaciones múltiples, se aplicó corrección por tasa de descubrimiento falso (FDR, del inglés *False Discovery Rate*), considerándose significativo un valor ajustado $q < 0,1$. La asociación entre variables cuantitativas se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

En el análisis del microbioma, la diversidad alfa se evaluó mediante los índices de Chao1, Shannon y Simpson. La diversidad beta se analizó mediante distancias UniFrac ponderadas y no ponderadas, así como mediante la disimilitud de Bray-Curtis. Las diferencias en la estructura de la comunidad microbiana entre grupos se exploraron utilizando estas métricas

de distancia. En el caso de las distancias UniFrac, se calculó para cada muestra la distancia respecto al grupo de referencia/control, como medida del grado de disbiosis microbiana, y posteriormente las distribuciones de estas distancias se compararon entre grupos mediante el test de Kruskal–Wallis. Por otro lado, las diferencias globales en la composición microbiana basadas en la matriz de disimilitud de Bray–Curtis se evaluaron mediante un análisis de varianza multivariante permutacional (PERMANOVA), utilizando la función adonis del paquete vegan con 999 permutaciones.

Para el análisis de agrupamiento, se construyó un árbol filogenético mediante el método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), basado en la matriz de distancias UniFrac no ponderadas, utilizando la función upgma.tre en QIIME. Asimismo, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) a partir de las matrices de distancia para la reducción de dimensionalidad y visualización de los datos, empleando los paquetes *ade4* y *ggplot2* en R.

Las matrices de abundancia absoluta fueron normalizadas mediante el método *voom* del paquete *limma*, que modela la relación media-varianza y transforma los datos a valores $\log_2$-counts per million ($\log_2$-CPM), ajustados por el tamaño de la biblioteca y la dispersión. Para facilitar la visualización, se calcularon Z-scores por taxón sobre la matriz normalizada, lo que permitió resaltar desviaciones relativas entre muestras y generar representaciones gráficas como *heatmaps*.

La representación gráfica se realizó utilizando los paquetes *ggplot2*, *UpSetR*, *pheatmap* (para *heatmaps*), *corrplot* (para gráficos de correlación) y *VennDiagram* (para diagramas de Venn).

5. RESULTADOS

5.1. Descripción de la población

Reclutamos un total de 126 individuos: 32 pertenecían al grupo de SPS, 30 al grupo serrado, 32 al grupo adenoma y 32 al grupo control. La **tabla 5** resume las características demográficas y clínicas de los individuos.

	SPS (n=32)	Serrado (n=30)	Adenoma (n=32)	Control (n=32)	Total (n=126)	Valor p
Edad, años	61 [58,2-67]	63 [56,8-66]	59,5 [54,8-67]	58,5 [53-64]	61 [55,2-66]	0,28
Sexo, masculino	17 (53,1%)	13 (43,3%)	17 (53,1%)	17 (53,1%)	64 (50,8%)	0,83
Índice masa corporal, kg/m^2	27 [26-32]	27,8 [25-32]	28,3 [25-31]	27 [24-32]	27,7 [25-32]	0,99
Tabaco						**<0,001**
Fumador activo	18 (56,3%)	12 (40,0%)	6 (18,8%)	3 (9,4%)	39 (31,0%)	
Exfumador	3 (9,4%)	7 (23,3%)	10 (31,3%)	18 (56,3%)	38 (30,2%)	
No fumador	11 (34,4%)	11 (36,7%)	16 (50%)	11 (34,4%)	49 (38,9%)	
Tabaco, paq/año	25 [17-45]	34 [17-40]	15 [9-40]	7,3 [4-33]	24 [11-40]	**0,03**
Comorbilidades						
Hipertensión	16 (50,0%)	11 (36,7%)	12 (37,5%)	9 (28,1%)	48 (38,1%)	0,34
Diabetes mellitus	6 (18,8%)	6 (20,0%)	3 (9,4%)	6 (18,8%)	21 (16,7%)	0,64
Sd. intestino irritable	4 (12,5%)	2 (6,7%)	2 (6,3%)	2 (6,3%)	10 (7,9%)	0,83
Consumo de fármacos						
IBP	5 (15,6%)	7 (23,3%)	7 (21,9%)	5 (15,6%)	24 (19%)	0,79
AAS o AINEs	10 (31,3%)	3 (10,0%)	2 (6,3%)	7 (21,9%)	22 (17,5%)	**0,035**
Vitamina D o calcio	6 (18,8%)	5 (16,7%)	4 (12,5%)	7 (21,9%)	22 (17,5%)	0,79
Metformina	6 (18,8%)	4 (13,3%)	3 (9,4%)	5 (15,6%)	18 (14,3%)	0,78
Estatinas	16 (50,0%)	6 (20,0%)	4 (12,5%)	10 (31,3%)	36 (28,6%)	**0,006**
Antecedente personal de cáncer no colorrectal, sí	2 (6,3%)	4 (13,3%)	6 (18,8%)	5 (15,6%)	17 (13,5%)	0,52
Antecedente familiar de primer grado de CCR, sí	6 (18,8%)	1 (3,3%)	3 (9,4%)	3 (9,4%)	13 (10,3%)	0,26
Tipo de nacimiento						0,087
Natural	27 (84,4%)	25 (83,3%)	29 (90,6%)	30 (93,8%)	111 (88,1%)	
Cesárea	4 (12,5%)	5 (16,7%)	1 (3,1%)	0 (0%)	10 (7,9%)	
Desconocido	1 (3,1%)	0 (0%)	2 (6,3%)	2 (6,3%)	5 (4,0%)	
Ejercicio físico recomendado, sí	15 (46,9 %)	10 (33,3%)	20 (62,5%)	13 (40,6%)	58 (46,0%)	0,12

	SPS (n=32)	Serrado (n=30)	Adenoma (n=32)	Control (n=32)	Total (n=126)	Valor p
Salud dental						
Halitosis o mal gusto, sí	9 (28,1%)	9 (30,0%)	6 (18,8%)	5 (15,6%)	29 (23,0%)	0,45
Encías inflamadas, sí	9 (28,1%)	9 (30,0%)	9 (28,1%)	15 (46,9%)	42 (33,3%)	0,31
Encías que retroceden, sí	17 (53,1%)	11 (36,7%)	13 (40,6%)	13 (40,6%)	54 (42,9%)	0,57
Antec. enf periodontal, sí	11 (34,4%)	9 (30,0%)	7 (21,9%)	5 (15,6%)	32 (25,4%)	0,31
Antec. caries, sí	30 (93,8%)	28 (93,3%)	31 (96,9%)	32 (100%)	121 (96,0%)	0,57
Frec. de lavado dental						0,31
≥2 veces/día	18 (56,3%)	18 (60,0%)	21 (65,6%)	23 (71,9%)	80 (63,5%)	
1 vez/día	10 (31,3%)	10 (33,3%)	11 (34,4%)	7 (21,9%)	38 (30,2%)	
Semanalmente	1 (3,1%)	2 (6,7%)	0 (0%)	2 (6,3%)	5 (4,0%)	
Nunca	3 (9,4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (2,4%)	
Evidencia periodontitis, sí	10 (32,2%)	7 (23,3%)	7 (21,9%)	3 (9,4%)	27 (21,6%)	0,16

Tabla 5. Características demográficas y clínicas de los grupos estudiados.

Las variables cuantitativas se proporcionan como mediana y rango intercuartílico; las variables cualitativas como valores absolutos y porcentajes. Los valores en negrita indican significancia estadística. SPS: síndrome de poliposis serrada. IBP: inhibidores de la bomba de protones. AAS: ácido acetilsalicílico. AINEs: antiinflamatorios no esteroideos. CCR: cáncer colorrectal.

No se encontraron diferencias entre los grupos en cuanto a la edad (p=0,28), el sexo (p=0,83), el índice de masa corporal (p=0,99) y las comorbilidades. El grupo SPS presentó un 56,3% de fumadores activos, el grupo serrado un 40,0%, el grupo adenoma un 18,8% y el grupo control un 9,4%, con diferencias estadísticamente significativas entre grupos (p<0,001). La frecuencia de fumadores activos fue significativamente mayor en los grupos SPS y serrado en comparación con los grupos adenoma y control. Asimismo, se observaron diferencias en el número de paquetes/año fumados (p=0,03), siendo más alto en los grupos serrado y SPS. En cuanto al consumo de medicamentos, no se encontraron diferencias en el uso de IBP (p=0,79), vitamina D o calcio (p=0,79) y metformina (p=0,78). El consumo de AAS o AINEs fue del 31,3% en el grupo SPS, del 10,0% en el serrado, del 6,3% en el adenoma y del 21,9% en el control, con diferencias estadísticamente significativas (p=0,035). También se observaron diferencias en el uso de estatinas (p=0,006), siendo del 50,0% en el grupo SPS, del 20,0% en el serrado, del 12,5% en el adenoma y del 31,3% en el grupo control.

Ningún individuo tenía antecedentes de cirrosis hepática o enfermedad inflamatoria intestinal. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los antecedentes familiares de primer grado de CCR (p=0,26), el tipo de nacimiento (p=0,08), el ejercicio físico recomendado (p=0,12) ni en la salud dental.

Las características endoscópicas de la colonoscopia de reclutamiento en los diferentes grupos se presentan en la **tabla 6**.

	SPS (n=32)	Serrado (n=30)	Adenoma (n=32)	Control (n=32)	Total (n=126)	Valor p
Indicación de la colonoscopia						**<0,001**
Cribado poblacional	6 (18,8%)	23 (76,7%)	31 (96,9%)	32 (100%)	92 (73,0%)	
Cribado oportunista	0 (0%)	2 (6,7%)	1 (3,1%)	0 (0%)	3 (2,4%)	
Síntomas	1 (3,1%)	2 (6,7%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (2,4%)	
Seguimiento pólipos	25 (78,1%)	3 (10,0%)	0 (0%)	0 (0%)	28 (22,2%)	
Preparación evacuante						**<0,001**
Moviprep®	17 (53,1%)	13 (43,3%)	15 (46,9%)	1 (3,1%)	46 (37,1%)	
Pleinvue®	3 (9,4%)	14 (46,7%)	17 (53,1%)	31 (96,9%)	65 (52,4%)	
Bohm®	1 (3,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,8%)	
Citrafleet®	8 (25,0%)	3 (10,0%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (8,9%)	
Otros	1 (3,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,8%)	
Desconocida	2 (6,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (1,6%)	
Núm. de pólipos	7,5 [3,3-14,5]	2 [1-3,25]	2 [1-2,75]	0 [0-0]	2 [0-4]	**<0,001**
Núm. de pólipos avanzados	1 [0-3,75]	1 [0-1,25]	1 [1-1]	0 [0-0]	1 [0-1]	**<0,001**
Localización pólipos						**<0,001**
Proximal	6 (18,8%)	15 (50,0%)	11 (34,4%)	0 (0%)	32 (34,0%)	
Distal	1 (3,1%)	3 (10,0%)	11 (34,4%)	0 (0%)	15 (16,0%)	
Pancolónico	25 (78,1%)	12 (40,0%)	10 (31,3%)	0 (0%)	47 (50,0%)	
Núm. pólipos proximales	3 [2-6]	1 [1-2]	1 [0-2]	0 [0-0]	1 [0-2,25]	**<0,001**
Núm. pólipos distales	3 [1-9,75]	0,5 [0-1]	1 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-1,25]	**<0,001**
Núm. adenomas	0 [0-2]	0 [0-1,25]	2 [1-2,75]	0 [0-0]	0 [0-2]	**<0,001**
Núm. adenomas avanzados	0 [0-0]	0 [0-1]	1 [1-1]	0 [0-0]	0 [0-1]	**<0,001**
Núm. adenomas ≥10mm	0 [0-0]	0 [0-1]	0 [0,25-1]	0 [0-0]	0 [0-1]	**<0,001**
Núm. adenomas con displasia de alto grado	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	
Núm. lesiones serradas	5 [3,25-13]	1 [1-2,25]	0 [0-0]	0 [0-0]	3 [1-5]	**<0,001**
Núm. pólipos hiperplásicos	1 [0-4]	0,5 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-2,25]	0,11
Núm. LSS	3,5 [0,25-10,25]	1 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-4]	**<0,001**
Núm. adenomas serrados tradicionales	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	
Núm. lesiones serradas avanzadas	1 [0-3]	0,5 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-1]	**0,038**
Núm. lesiones serradas ≥10mm	1 [0-2,75]	0,5 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-1]	0,06
Núm. lesiones serradas con displasia	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0,49
Núm. lesiones serradas con displasia de alto grado	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-0]	

Tabla 6. Características endoscópicas de la colonoscopia de inclusión.

Las variables cuantitativas se proporcionan como mediana y rango intercuartílico; las variables cualitativas como valores absolutos y porcentajes. Los valores en negrita indican significancia estadística. Núm: número. LSS: lesiones serradas sésiles.

La indicación más frecuente fue el cribado poblacional en los grupos serrado (76,7%), adenoma (96,9%) y control (100%). En el grupo SPS, la mayoría de las colonoscopias se realizaron por seguimiento de pólipos (78,1%), encontrándose diferencias significativas entre los grupos (p<0,001). En cuanto a la preparación evacuante, también se observaron diferencias entre los grupos (p<0,001), ya que en el cribado poblacional de los hospitales participantes se administra mayoritariamente Pleinvue®, mientras que en el seguimiento de pólipos en las consultas de Gastroenterología se pauta habitualmente Moviprep®.

El número total de pólipos, así como los pólipos proximales y distales, fue mayor en el grupo SPS que en el resto de grupos (p<0,001). La localización pancolónica fue más frecuente en el grupo SPS (78,1%) que en el grupo serrado (40,0%) y el grupo adenoma (31,3%) (p<0,001).

El grupo adenoma presentó un mayor número de adenomas de ≥10 mm en comparación con el grupo SPS y serrado (p<0,001). El grupo SPS mostró un mayor número de lesiones serradas (p<0,001) y LSS (p<0,001). Ninguna endoscopia identificó adenomas serrados tradicionales ni lesiones serradas con displasia de alto grado.

A continuación, en la **tabla 7** se describen los hallazgos endoscópicos de las colonoscopias al momento de reclutamiento, junto con las colonoscopias que tuvieran realizadas previamente.

	SPS (n=32)	Serrado (n=30)	Adenoma (n=32)	Control (n=32)	Total (n=126)	Valor p
Adenomas	4,5 [2,25-10,5]	1 [0-3]	2 [1-2,75]	0 [0-0]	1 [0-3,25]	**<0,001**
Adenomas avanzados	1 [0-3]	0 [0-1]	1 [1-1]	0 [0-0]	0 [0-1]	**<0,001**
Lesiones serradas	23,5 [13,25-45,5]	1 [1-3]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-4,25]	**<0,001**
Lesiones serradas avanzadas	6 [3-14,5]	1 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	0 [0-1]	**<0,001**

Tabla 7. Características endoscópicas de las colonoscopias del reclutamiento y las colonoscopias previas de los grupos estudiados.

Las variables cuantitativas se proporcionan como mediana y rango intercuartílico. Los valores en negrita indican significancia estadística.

El grupo de SPS presentó un mayor número de adenomas, lesiones serradas y lesiones serradas avanzadas en comparación con el resto de los grupos (p<0,001).

En la **tabla 8**, se presentan las características clínicas y endoscópicas de las colonoscopias del reclutamiento y previas de los pacientes del grupo SPS.

Tipo de criterio diagnóstico	
Criterio 1	16 (50%)
Criterio 2	7 (21,9%)
Ambos	9 (28,1%)
Antecedentes familiares de SPS	0 (0%)
Edad al diagnóstico de SPS	61 [56-65]
Estudio de panel de genes germinales, sí	3 (10%)
Variante patogénica identificada, sí	0 (0%)
Núm. de colonoscopias totales	4 [2,25-6]
Núm. lesiones serradas	23,5 [13,25-45,5]
Núm. LSS	9 [4,25-22,5]
Núm. pólipos hiperplásicos	8 [1,25-21,75]
Núm. adenomas serrados tradicionales	0 [0-0]
Núm. lesiones serradas avanzadas	6 [3-14,5]
Núm. lesiones serradas ≥10mm	3 [2,25-6]
Núm. lesiones serradas con displasia	2,5 [0-6]
Núm. lesiones serradas con displasia de alto grado	0 [0-0]
Núm. adenomas	4,5 [2,25-10,5]
Núm. adenomas avanzados	1 [0-3]

Tabla 8. Características clínicas y endoscópicas del grupo SPS.

Las variables cuantitativas se proporcionan como mediana y rango intercuartílico; las variables cualitativas como valores absolutos y relativos. SPS: síndrome de poliposis serrada. Núm: número. LSS: lesiones serradas sésiles.

En el grupo SPS, el 50,0% cumplía con el criterio 1 de los criterios diagnósticos modificados de la OMS, el 22,0% con el criterio 2 y el 28,0% con ambos. La edad mediana al diagnóstico fue de 61 años (RIC, 56–65), y no se identificó ninguna variante patogénica germinal. La mediana de colonoscopias realizadas en total fue de 4 (RIC, 2,25–6), con una mediana de 23,5 lesiones serradas (RIC, 13,25–45,5) y 6 lesiones serradas avanzadas (RIC, 3–14,5).

En el grupo SPS, se realizó un análisis de correlación entre los tipos de pólipos acumulados (los incluidos en la colonoscopia de reclutamiento y las colonoscopias previas) y el resto de variables clínicas. Se observó que el número de LSS avanzadas totales se asoció de manera positiva con la presencia de encías inflamadas, con una estimación de β=6,33 (IC 95%: 0,73–11,92; p=0,028). También se observó que el número de LSS avanzadas totales se asoció positivamente a la presencia de retracción gingival, con una estimación de β=5,58 (IC 95%: 0,52–10,64; p=0,032).

A continuación, se muestran los valores de ingesta diaria por grupos de alimentos de los grupos en estudio, **tabla 9**.

	SPS (n=32)	Serrado (n=30)	Adenoma (n=32)	Control (n=32)	Total (n=126)	Valor p
Verduras y hortalizas	149 [83-205]	131 [106-186]	137 [87-203]	129 [83-189]	136 [88-195]	0,89
Frutas	200 [104-214]	100 [43-200]	171 [101-229]	186 [89-203]	171 [100-214]	0,08
Frutos secos	2,9 [0,7-14,3]	2,9 [0-9,3]	2,9 [0,7-8,6]	5,7 [2,9-13,6]	2,8 [0,6-11]	0,22
Cereales y derivados	94 [71-135]	95 [78-142]	112 [85-149]	87 [60-141]	95 [74-140]	0,27
Leche y derivados	215 [91-370]	282 [122-442]	335 [196-403]	244 [124-395]	269 [125-396]	0,26
Carne	102 [68-127]	94 [72-146]	95 [70-132]	118 [66-143]	99 [72-136]	0,97
Carne roja	56 [36-75]	49 [33-104]	60 [43-94]	47 [21-74]	54 [33-80]	0,18
Pescado y marisco	48 [29-64]	45 [26-77]	60 [43-89]	43 [25-63]	46 [31-68]	**0,047**
Huevos	15 [9-24]	24 [16-33]	20 [10-30]	24 [16-30]	16 [16-31]	0,26
Legumbres	14,3 [14,3-28,6]	28,6 [14,3-32,1]	28,6 [10-39]	14,3 [14,3-28,6]	29 [14-29]	0,69
Salsas y condimentos	57 [29-86]	57 [26-86]	57 [29-86]	57 [29-57]	57 [29-86]	0,72
Embutidos y jamón	6,3 [3,6-22]	10,7 [7,2-25]	10,7 [7,2-25]	7,1 [2,1-13,3]	7,1 [3,5-18]	**0,002**
Grasas y aceites	29 [10-43]	29 [15-43]	29 [16-35]	26 [10-43]	29 [13-43]	0,94
Precocinados	4 [0,7-10]	5,3 [5,3-15]	5,3 [2,7-11]	5,3 [0-11]	5,3 [2,7-11]	**0,046**
Bollería	4,3 [0-12,3]	1 [0-9,6]	3 [0-17,1]	1 [0-5,9]	2 [0-10,2]	0,31
Azúcares y dulces	2,1 [0-5,7]	1,5 [0,6-9,9]	2,9 [0,8-7,2]	2,9 [0-5,7]	2,8 [0-5,8]	0,51
Bebidas azucaradas	0 [0-14]	0 [0-28]	0 [0-8]	0 [0-0]	0 [0-8]	0,64
Bebidas bajas en calorías	0 [0-0]	0 [0-10]	0 [0-8]	0 [0-36]	0 [0-8]	0,85
Bebidas alcohólicas	41 [3-150]	57 [0-232]	33 [0-167]	21 [0-63]	32 [0-133]	0,30

Tabla 9. Frecuencia de consumo gramo/día de grupos de alimentos según los grupos estudiados.

Las variables cuantitativas se proporcionan como mediana y rango intercuartílico. Los valores en negrita indican significancia estadística.

No se identificaron diferencias entre los grupos en la ingesta diaria de frutas, verduras y hortalizas, leche y derivados, carne y carne roja. El grupo adenoma mostró un consumo diario significativamente mayor de pescado y marisco en comparación con los demás grupos (p=0,047). Por otro lado, el grupo SPS consumió una menor cantidad de embutidos y jamón en relación con el grupo adenoma y el grupo serrado (p=0,002), así como una menor cantidad de alimentos precocinados en comparación con el resto de grupos (p=0,046). No se observaron diferencias significativas entre los grupos en el consumo de bebidas azucaradas o con alcohol (p=0,64 y p=0,3, respectivamente).

5.2. Diferencias en la composición de la microbiota oral e intestinal entre los grupos mediante secuenciación 16S rRNA

Se realizó secuenciación 16S rRNA en 126 muestras de saliva y 126 muestras de heces. Se obtuvieron un total de 16.213.197 secuencias de alta calidad con un número de pares de bases de 252, empleando Phred score de 20. La media de secuencias por muestra fue de 64.338 (DE 8.611) con un número de lecturas entre 30.392 y 92.744. Debido a la diferente profundidad de secuenciación, hay diferentes números de secuencia entre las muestras. Para eliminar el error experimental y garantizar la comparabilidad entre los datos de la muestra, se procedió a normalizar las secuencias estableciendo un umbral con la muestra con menor número de secuencia (30.392) y, posteriormente, se seleccionó para el análisis el número de secuencias establecido por este umbral.

En la microbiota oral, se identificaron 16 filos, 115 familias, 226 géneros y 245 especies. En la microbiota intestinal, se identificaron 16 filos, 91 familias, 260 géneros y 225 especies (**tabla 10**).

Grupos taxonómicos	Microbiota oral	Microbiota intestinal
Filo	16	16
Clase	25	24
Orden	64	53
Familia	115	91
Género	226	260
Especie	245	225

Tabla 10. Distribución de grupos microbiológicos de la microbiota oral e intestinal según distintos niveles taxonómicos.

A continuación, se muestra la composición de la microbiota oral e intestinal, agrupada por filos, de toda la muestra (**figura 15**). En la microbiota oral, los filos mayoritarios fueron *Bacteroidota* (38%), *Firmicutes* (28,8%), *Proteobacteria* (17,3%) y *Actinobacteriota* (7,3%); y en la intestinal *Bacteroidota* (43,7%), *Firmicutes* (39,2%), *Proteobacteria* (5,6%) y *Actinobacteriota* (6,8%).

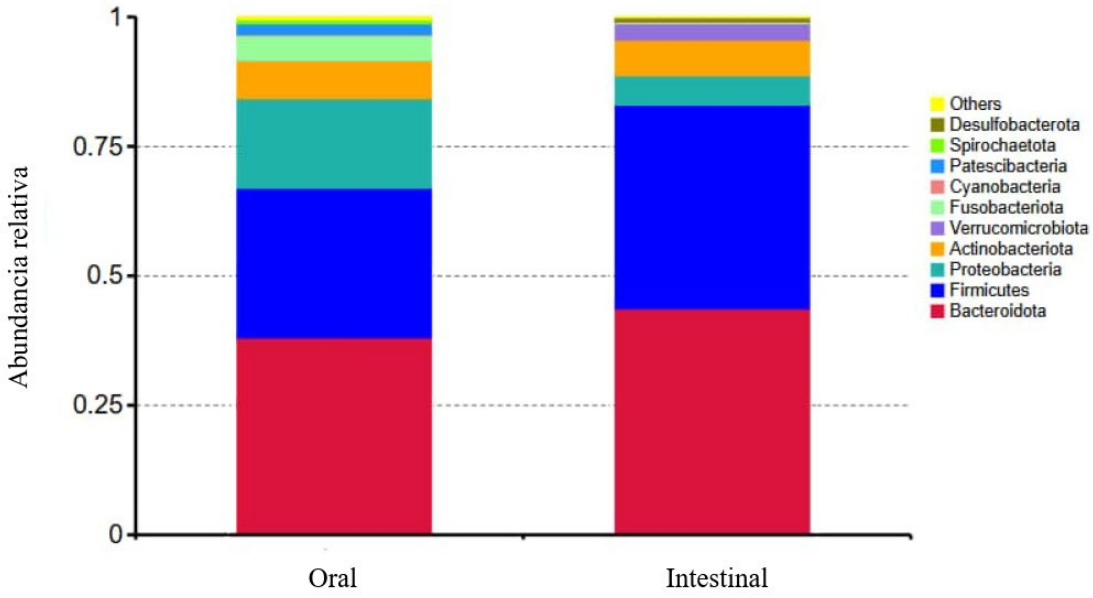


Figura 15. Abundancia relativa de la microbiota oral e intestinal a nivel de filos.

En la microbiota oral, los géneros mayoritarios fueron *Prevotella* (25%), *Veillonella* (12,7%), *Streptococcus* (10,4%), *Porphyromonas* (5,5%) y *Alloprevotella* (5,3%); y en la intestinal *Bacteroides* (15,7%), *Prevotella* (13,7%), *Faecalibacterium* (7,1%), *Bifidobacterium* (3,7%) y *Akkermansia* (2,9%).

5.2.1 Diversidad alfa y beta

5.2.1.1. Microbiota oral

Se evaluó la diversidad alfa (intramuestra) utilizando el índice de Chao1, que mide la riqueza de especies; el índice de Shannon, que combina la riqueza y la equidad en la abundancia de especies; y el índice de Simpson, que analiza la dominancia de las especies. En los tres índices, se observó una diversidad alfa similar entre los grupos ($p>0,05$) (**figura 16**).

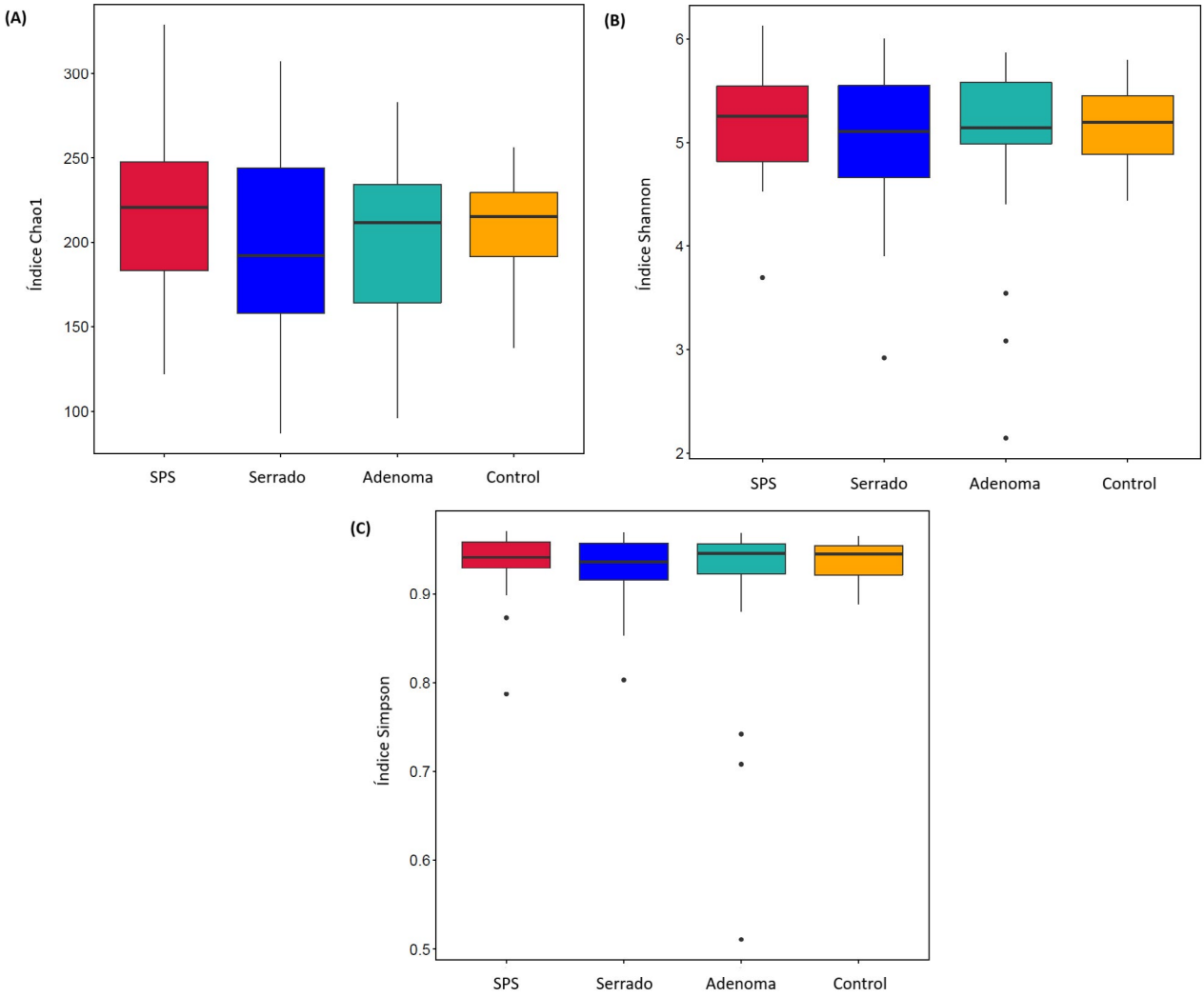
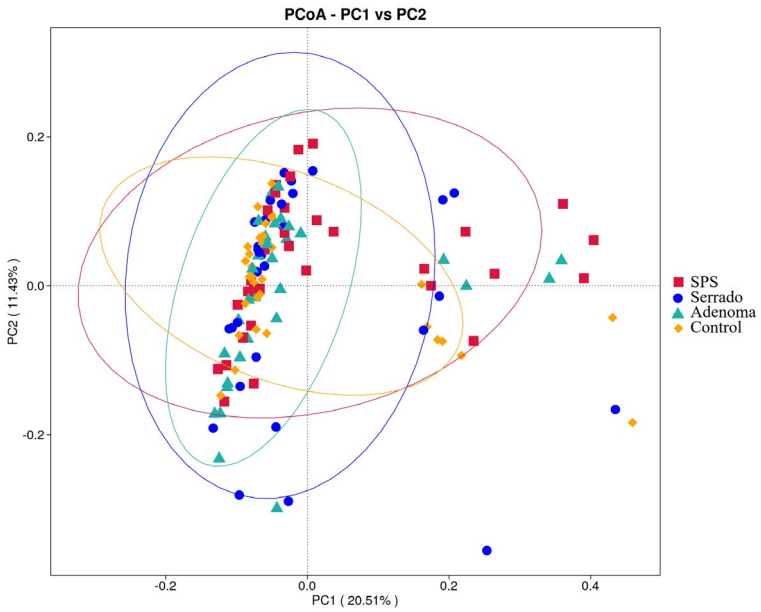


Figura 16. Diversidad alfa en la microbiota oral.

Índice Chao1 (A), índice Shannon (B) e índice Simpson (C) de los diferentes grupos. Utilizando el test Kruskal-Wallis, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Para evaluar la variación global en la composición de la microbiota oral entre los grupos, se analizó la diversidad beta mediante un análisis de Coordenadas Principales (PCoA) basado en las distancias UniFrac no ponderadas y ponderadas (**figura 17**). Estas métricas incorporan la información filogenética de los taxones presentes, permitiendo evaluar diferencias no solo en la composición microbiana sino también en la distancia evolutiva entre las comunidades. El PCoA de las distancias UniFrac no ponderadas refleja diferencias en la composición microbiana entre las muestras, mientras que el de las distancias UniFrac ponderadas considera tanto la composición como las abundancias relativas de los taxones. Como se comentó anteriormente, cada punto del gráfico representa una muestra, y la distancia entre puntos indica su grado de similitud o diferencia en la estructura microbiana.

(A) PCoA basado en distancias UniFrac no ponderadas



(B) PCoA basado en distancias UniFrac ponderadas

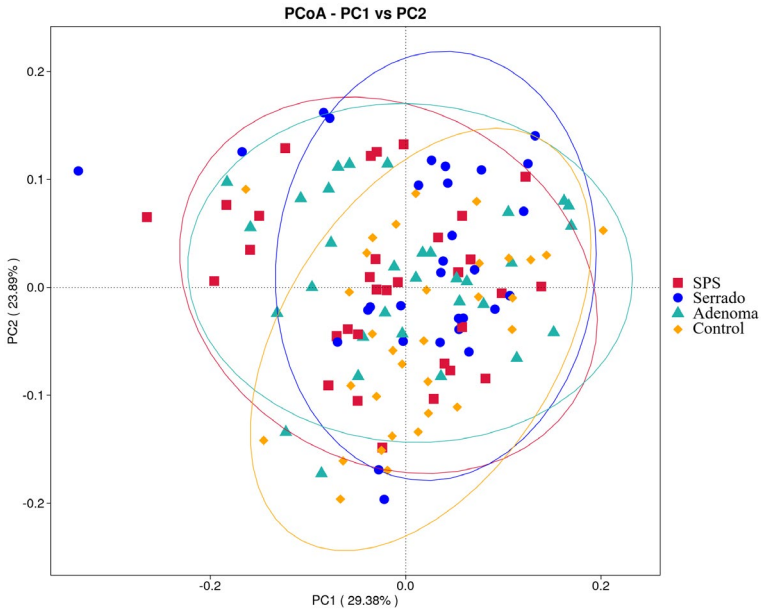


Figura 17. Análisis de coordenadas principales (PCoA) de las distancias Unifrac no ponderadas (A) y ponderadas (B) de la microbiota oral en los diferentes grupos.

La composición microbiana entre grupos se comparó utilizando las distancias UniFrac no ponderada y ponderada. En la UniFrac no ponderada (**figura 18**), el grupo SPS presentó una distancia significativamente mayor en comparación con los grupos adenoma y control ($p<0,001$). De manera similar, el grupo serrado mostró distancias superiores a las observadas en los grupos adenoma y control ($p<0,001$). Por último, el grupo adenoma presentó una distancia significativamente mayor en comparación con el grupo control ($p<0,05$).

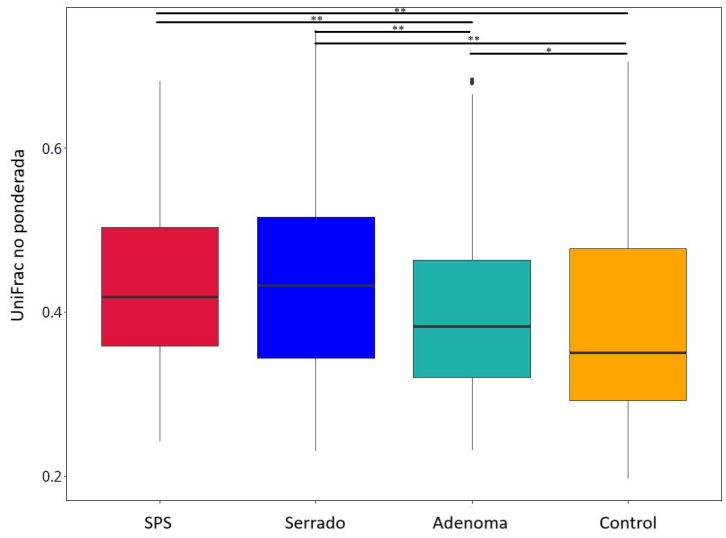


Figura 18. Distancias UniFrac no ponderada de la microbiota oral de los diferentes grupos.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las distancias UniFrac no ponderadas entre el grupo SPS y el grupo adenoma y control; entre el grupo serrado y el grupo adenoma y control; y entre el grupo adenoma y el control. Utilizando el test Kruskal-Wallis; *p<0,05; **p<0,001.

En relación a la UniFrac ponderada (**figura 19**), el grupo SPS mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con el resto de grupos. Por otro lado, el grupo control presentó diferencias en la distancia en relación con los grupos serrado y adenoma (p<0,001).

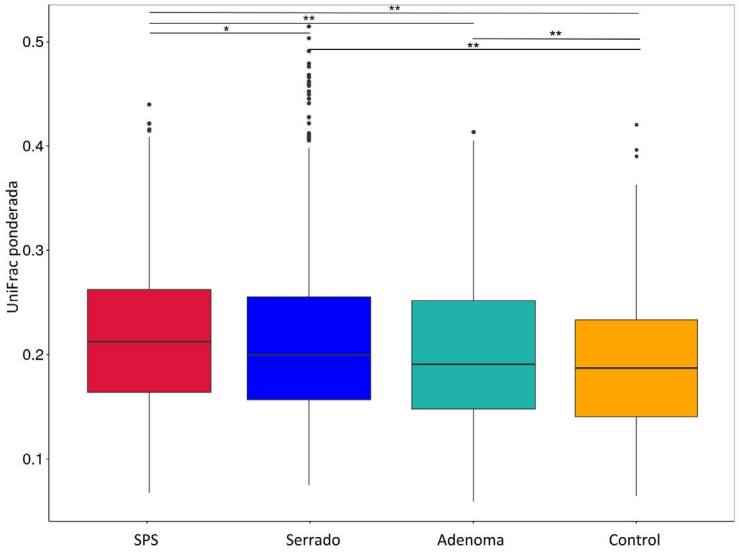


Figura 19. Distancias UniFrac ponderada de la microbiota oral de los diferentes grupos.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las distancias UniFrac ponderadas entre el grupo SPS y el resto de grupos; y entre el grupo control y los grupos serrado y adenoma. Utilizando el test Kruskal-Wallis; *p<0,05; **p<0,001.

Además, se realizó el análisis UPGMA basado en la distancia UniFrac no ponderada para agrupar las muestras según su similitud y visualizar las relaciones filogenéticas entre los grupos (**figura 20**).

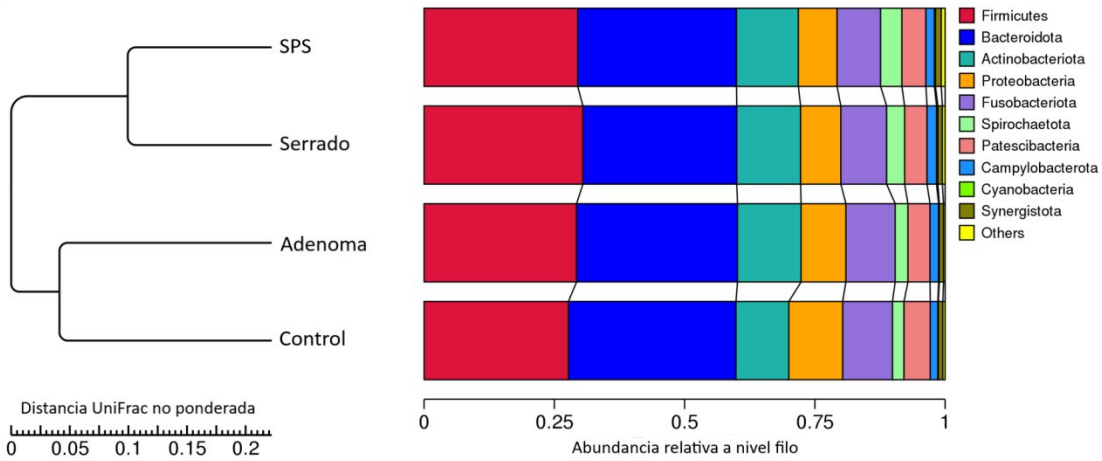


Figura 20. Análisis UPGMA basado en las distancias UniFrac no ponderada de la microbiota oral entre los diferentes grupos, con las abundancias relativas a nivel de filo.

UPGMA: *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean.*

Posteriormente, se aplicó un análisis PERMANOVA para evaluar la diversidad beta de la microbiota oral entre los grupos, utilizando las distancias Bray–Curtis (**tabla 11**). Este análisis permite determinar si la composición microbiana global difiere significativamente entre los grupos en función de las abundancias relativas de los taxones. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en las siguientes comparaciones por pares: SPS vs. control (FDR p=0,001), serrado vs. control (FDR p=0,007) y adenoma vs. control (FDR p=0,001).

Microbiota oral	Valor p corregido (FDR)
SPS-Serrado	0,74
SPS-Adenoma	0,24
SPS-Control	**0,001**
Serrado-Adenoma	0,38
Serrado-Control	**0,007**
Adenoma-Control	**0,001**

Tabla 11. Valores p corregidos por pares obtenidos con el análisis PERMANOVA de microbiota oral.

FDR: Tasa de descubrimiento falso.

5.2.1.2 Microbiota intestinal

La diversidad alfa de la microbiota intestinal se evaluó utilizando el índice de Chao1, el índice de Shannon (**figura 21**) y el índice de Simpson. Según el índice de Chao1, el grupo adenoma presentó una menor riqueza de especies en comparación con el grupo control (p=0,03); sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos en el índice de Shannon (p>0,05).

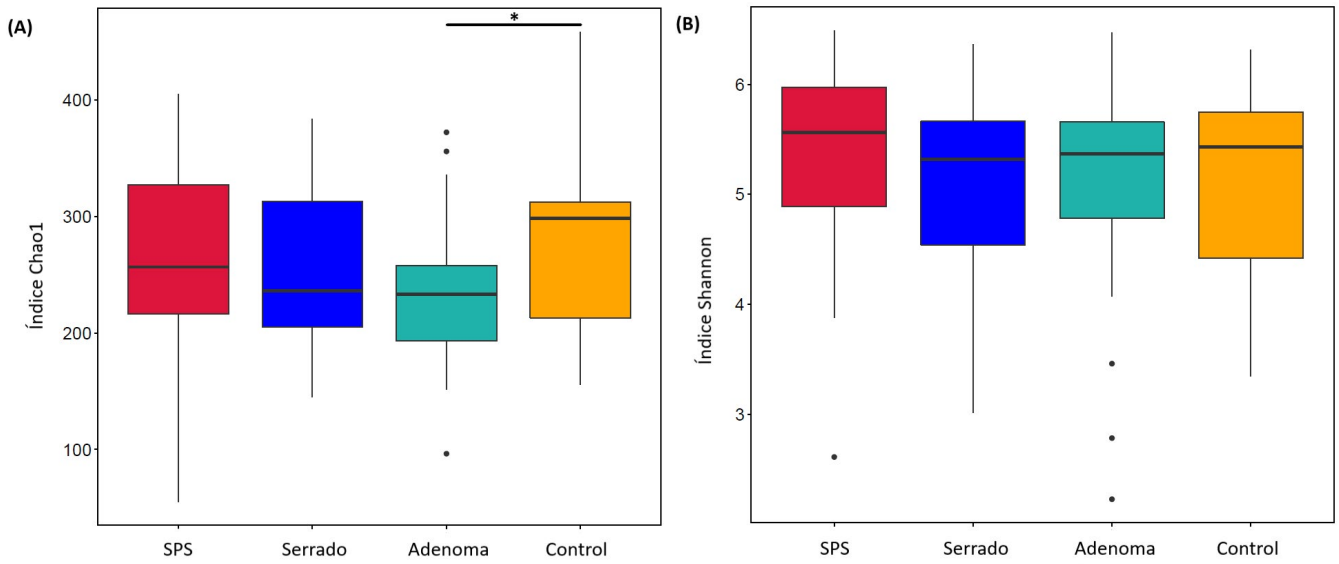


Figura 21. Diversidad alfa en la microbiota intestinal evaluada mediante el índice Chao1 (A) y el índice Shannon (B).

El grupo adenoma mostró una riqueza significativamente menor medida con el índice Chao1, respecto al grupo control. Utilizando el test Kruskal-Wallis; *p<0,05.

El índice de Simpson, que mide la dominancia o uniformidad de las especies, mostró un valor menor en el grupo control en comparación con el grupo SPS, lo que indica una mayor diversidad alfa (p=0,017) (**figura 22**).

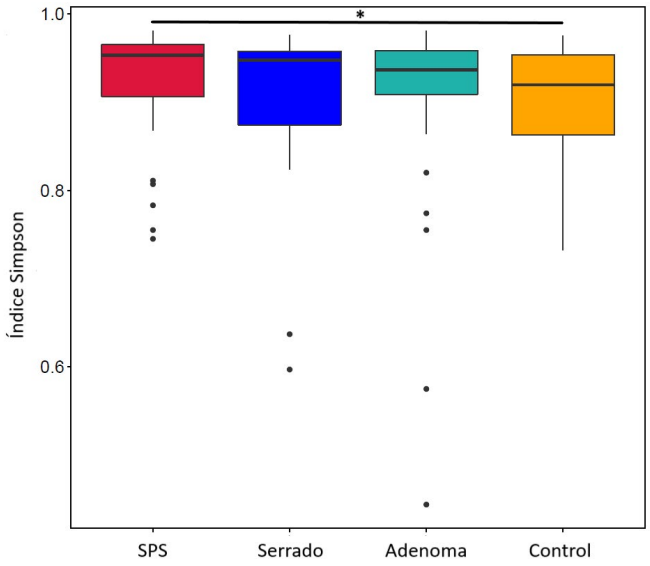
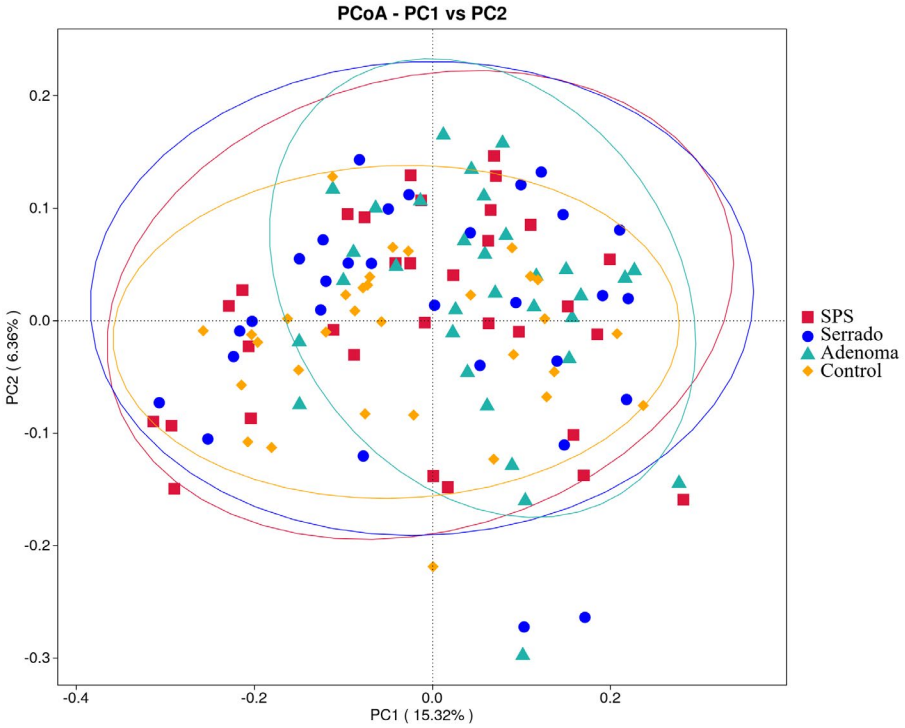


Figura 22. Diversidad alfa de la microbiota intestinal medida mediante el índice de Simpson.

El grupo control muestra un menor índice de Simpson respecto al grupo SPS y, por tanto, una mayor diversidad alfa. Utilizando el test Kruskal-Wallis; *p<0,05.

Se realizó un análisis de Coordenadas Principales (PCoA) basado en UniFrac no ponderado y ponderado para explorar visualmente la similitud y variación en la composición de la microbiota intestinal (**figura 23**).

(A) PCoA basado en distancias UniFrac no ponderadas



(B) PCoA basado en distancias UniFrac ponderadas

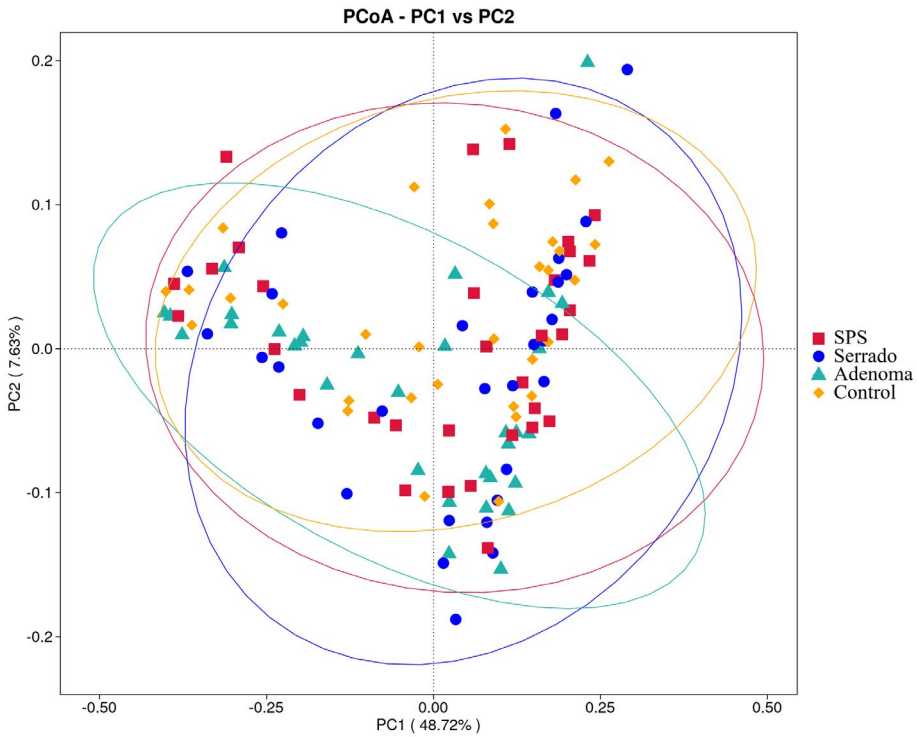


Figura 23. Análisis de coordenadas principales (PCoA) de las distancias Unifrac no ponderadas (A) y ponderadas (B) de la microbiota intestinal en los diferentes grupos.

Se evaluó la heterogeneidad taxonómica entre grupos de muestras de la microbiota intestinal mediante la distancia UniFrac no ponderada (**figura 24**). El grupo SPS mostró diferencias estadísticamente significativas en la distancia UniFrac no ponderada en comparación con los grupos adenoma y control (p<0,001 y p<0,05, respectivamente). Por otro lado, el grupo adenoma presentó una menor distancia UniFrac no ponderada en relación con los grupos serrado y control (p<0,001). Además, se evaluó la distancia UniFrac ponderada (**figura 25**) observando diferencias significativas entre el grupo adenoma y el resto de grupos (p<0,001).

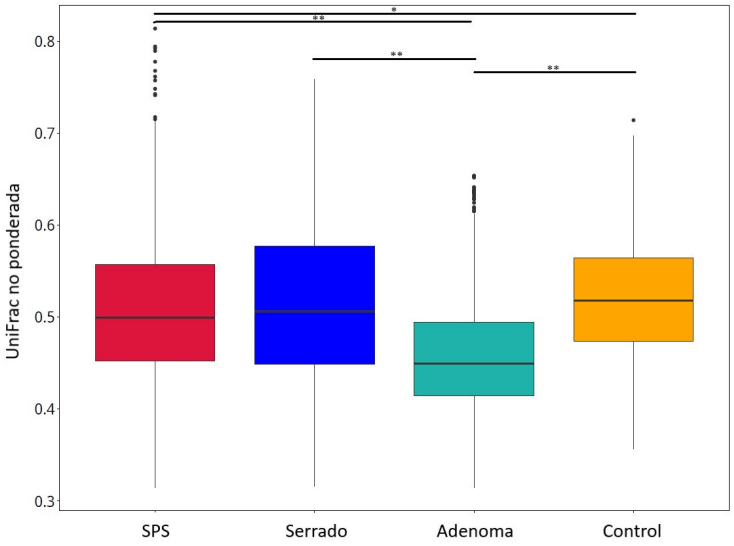


Figura 24. Distancias UniFrac no ponderada de la microbiota intestinal de los diferentes grupos.
Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las distancias UniFrac no ponderadas entre el grupo SPS y el grupo adenoma y control. Utilizando el test Kruskal-Wallis; *p<0,05; **p<0,001.

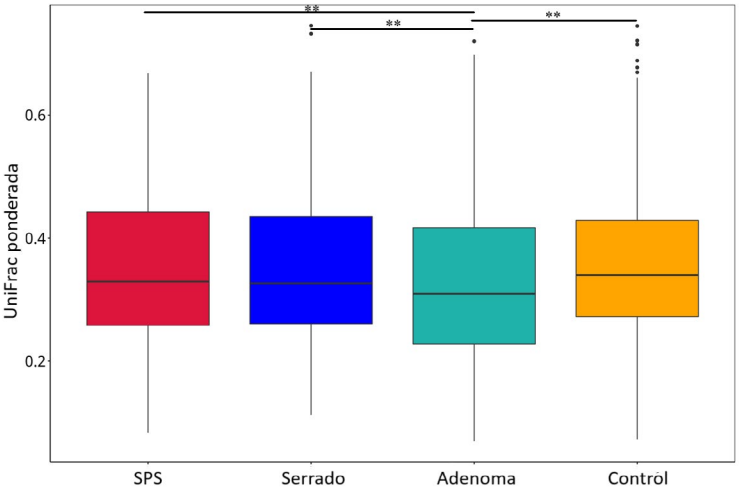


Figura 25. Distancias UniFrac ponderada de la microbiota intestinal de los diferentes grupos.
Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las distancias UniFrac ponderadas entre el grupo adenoma y el resto de grupos. Utilizando el test Kruskal-Wallis; **p<0,001.

En el análisis PERMANOVA basado en las matrices de distancia Bray–Curtis, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

5.2.2 Diferencias en la taxonomía bacteriana entre grupos

5.2.2.1 Microbiota oral

El filo más frecuente en todos los grupos fue *Bacteroidota*, seguido de *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteriota*, como se muestra en la **figura 26**.

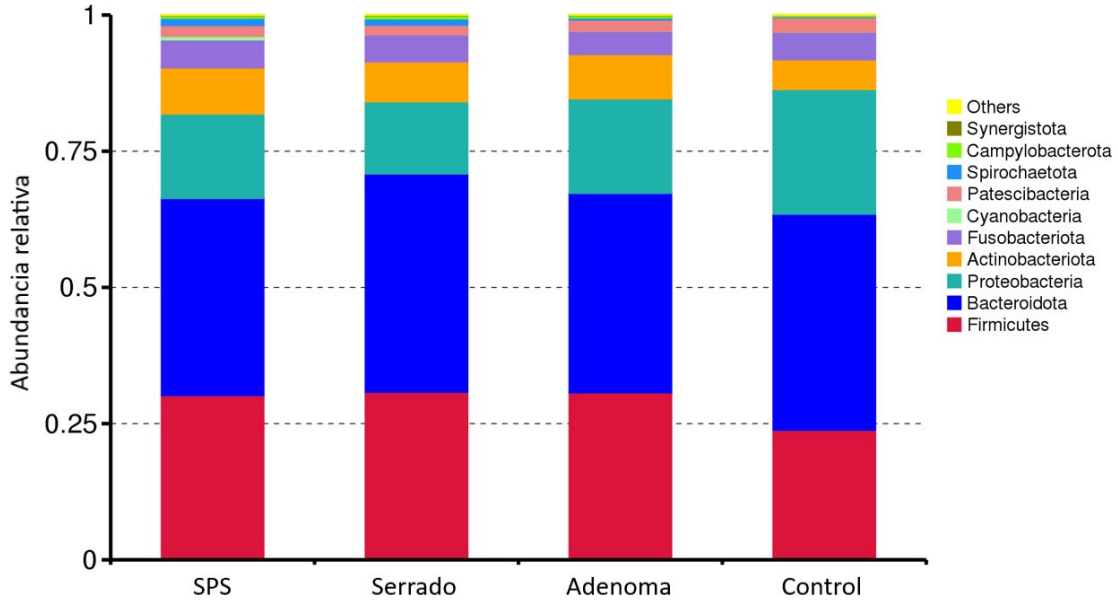


Figura 26. Composición de la microbiota oral a nivel de filos según los grupos.

El grupo SPS mostró una mayor abundancia relativa de los filos *Spirochaetota* y *Desulfobacterota* en comparación con el grupo control (FDR p=0,001 y p=0,016, respectivamente). Asimismo, el grupo SPS presentó una mayor abundancia relativa de *Desulfobacterota* en comparación con el grupo serrado (FDR p=0,085). Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la abundancia relativa de los filos al comparar el grupo SPS con el grupo adenoma.

Los órdenes *Clostridia vadin BB60*, *Spirochaetale*, *Desulfobulbales*, *Mycoplasmatales* y *Bifidobacteriales* fueron más abundantes en el grupo SPS frente el grupo control (FDR p=0,01, p=0,01, p=0,09, p=0,08, y p=0,08, respectivamente). El orden *Absconditabacteriales* presentó una mayor abundancia en el grupo control frente al grupo SPS y al adenoma (FDR p=0,08, p=0,01, respectivamente). La familia *Rikenellaceae* fue más abundante en el grupo SPS frente al grupo control (FDR p=0,053) y la familia *Cardiobacteriaceae* y *Burkholderiaceae* fueron menos abundantes en el grupo SPS que en el control (FDR p=0,06 y p=0,08, respectivamente).

Los géneros *Filifactor*, *Treponema* y *Anaeroglobus* mostraron una mayor abundancia relativa en el grupo SPS en comparación con el grupo control (FDR p=0,03, p=0,048 y p=0,07, respectivamente). Por otro lado, el género *Cardiobacterium* presentó una menor abundancia en el grupo SPS frente al grupo control (FDR p=0,09). No se observaron diferencias en la abundancia relativa de los géneros entre los demás grupos.

En relación con las especies, *Treponema denticola* y *Prevotella dentalis* fueron más abundantes en el grupo SPS y serrado en comparación con el grupo control (FDR p<0,1). *Streptococcus anginosus* presentó una mayor abundancia en el grupo SPS y adenoma frente al grupo control (FDR p=0,07 y p=0,06, respectivamente).

Asimismo, las especies *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* mostraron un aumento en el grupo SPS frente al grupo control (FDR p=0,09 y p=0,07, respectivamente) (**figura 27**). También *Porphyromonas gingivalis* estaba aumentada en el grupo SPS frente al grupo adenoma (p=0,004; FDR p=0,24), sin embargo, no se alcanzó la significación estadística con la p ajustada. Por otro lado, *Capnocytophaga gingivalis* y *Fusobacterium periodonticum* fueron más abundantes en el grupo control frente al grupo SPS (FDR p=0,004 y p=0,09, respectivamente). *Leptotrichia goodfellowii* mostró un aumento en el grupo control frente al grupo SPS y serrado (FDR p=0,001 y p=0,08, respectivamente). La especie *Peptoanaerobacter stomatis* se mostró aumentada en el grupo SPS frente al grupo serrado y adenoma (p=0,03, FDR p=1 en ambos), pero no alcanzó significación estadística con la p ajustada. Frente al grupo control, la diferencia no fue significativa (p=0,09; FDR p=0,28). Las especies *Treponema socranskii* y *Anaeroglobus geminatus* fueron más abundantes en el grupo SPS en comparación con el grupo control (FDR p=0,04 y p=0,09, respectivamente).

Capnocytophaga sputigena presentó una menor abundancia en el grupo serrado y adenoma frente al grupo control (FDR p=0,08 y 0,04, respectivamente). *Capnocytophaga gingivalis* fue más abundante en el grupo control en comparación con el grupo adenoma (FDR p=0,04). *Treponema amylovorum* presentó una mayor abundancia en el grupo serrado en comparación con el grupo adenoma (FDR p=0,008).

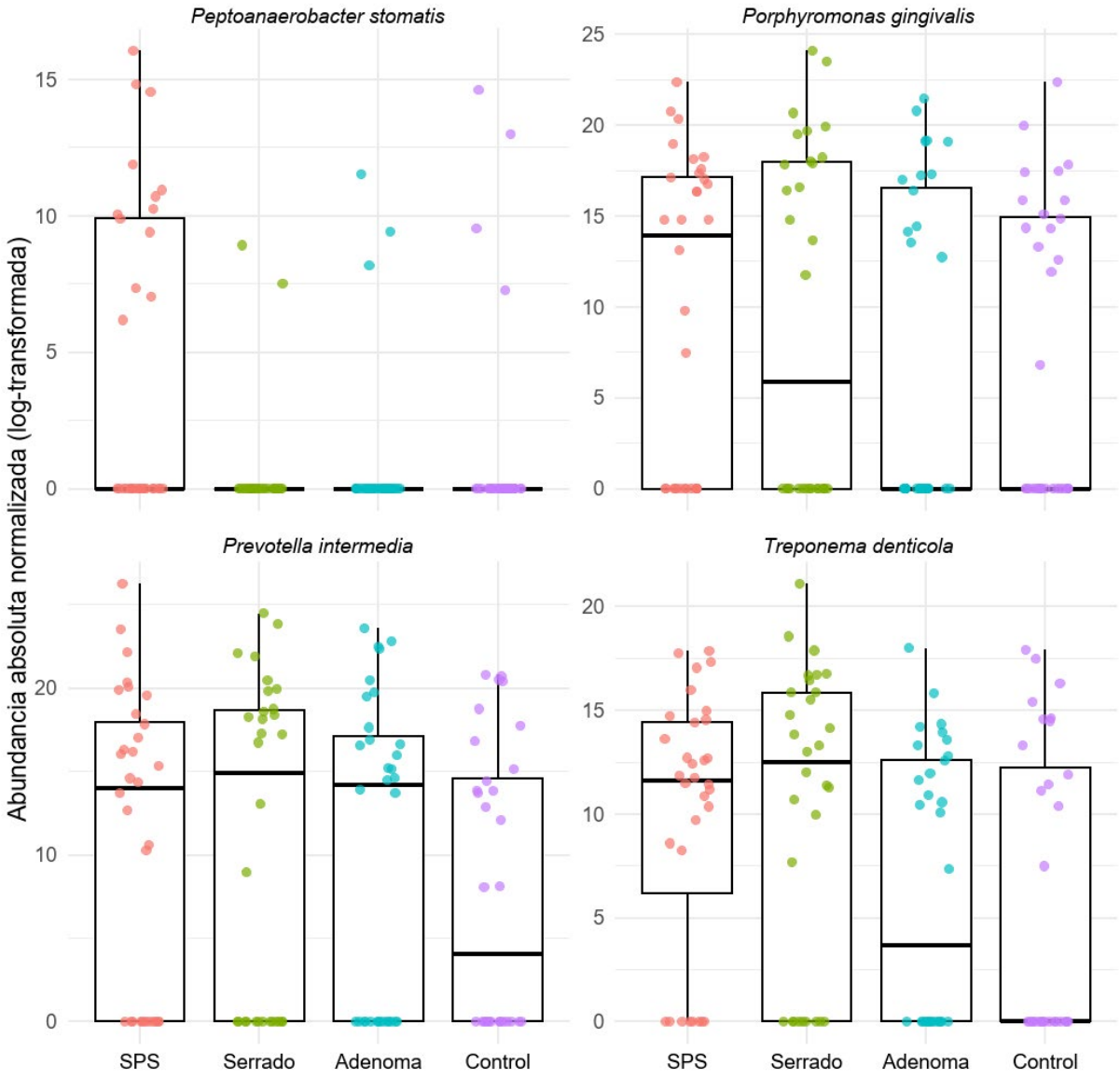


Figura 27. *Boxplot* (diagrama de cajas) de la abundancia absoluta normalizada de especies microbianas seleccionadas en los cuatro grupos del estudio.

Cada diagrama de caja representa la distribución de la abundancia microbiana por grupo, con las muestras individuales mostradas como puntos dispersos. Las escalas del eje vertical están ajustadas de forma independiente en cada gráfico para reflejar la variación en la abundancia entre las especies. En algunas especies se observaron distribuciones bimodales, posiblemente relacionadas con el límite de detección de la técnica y la presencia de taxones de baja abundancia.

En la **figura 28**, se muestra el *heatmap* (mapa de calor) de agrupamiento con las abundancias absolutas normalizadas (valores Z) de las principales especies orales entre los grupos.

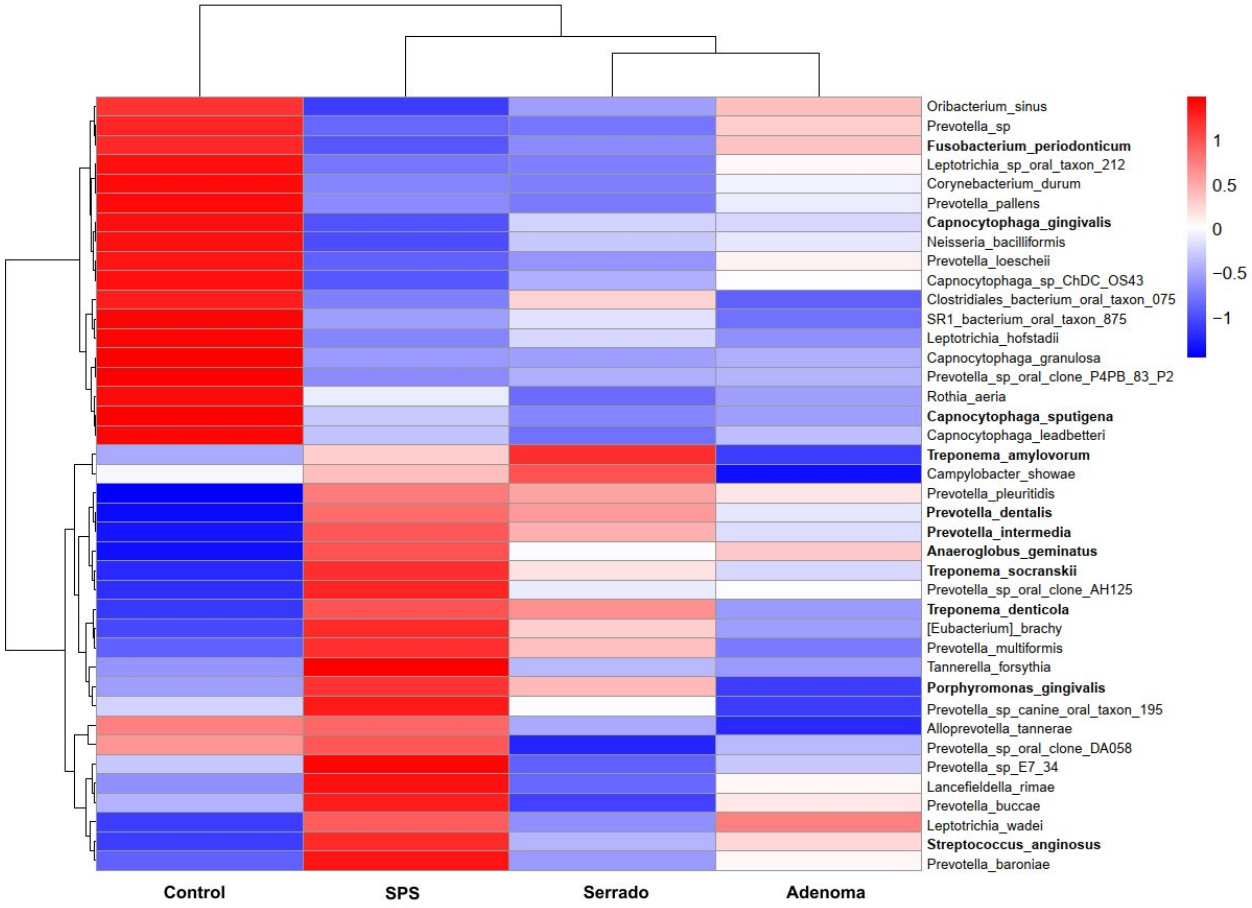


Figura 28. *Heatmap* que muestra los valores Z de las abundancias absolutas de especies orales entre grupos.

Las especies fueron seleccionadas a partir del análisis de abundancia diferencial, incluyendo solo los taxones con valor p <0,05. La escala de colores refleja los valores Z, desde azul (abundancia por debajo del promedio) al rojo (abundancia por encima del promedio), siendo el blanco indicativo de niveles promedio. Se utilizó el método de Ward para realizar el agrupamiento y revelar patrones a nivel de grupo. Las especies con diferencias estadísticamente significativas entre grupos (FDR <0,1) se han resaltado en negrita.

A continuación, se detallan las VSAs compartidas y exclusivas de cada grupo (**figura 29**). Los cuatro grupos comparten 528 VSAs orales. El grupo SPS es el que presenta el mayor número de VSAs únicas, con 514, seguido por el grupo adenoma con 408, el grupo control con 383 y el grupo serrado con 320.

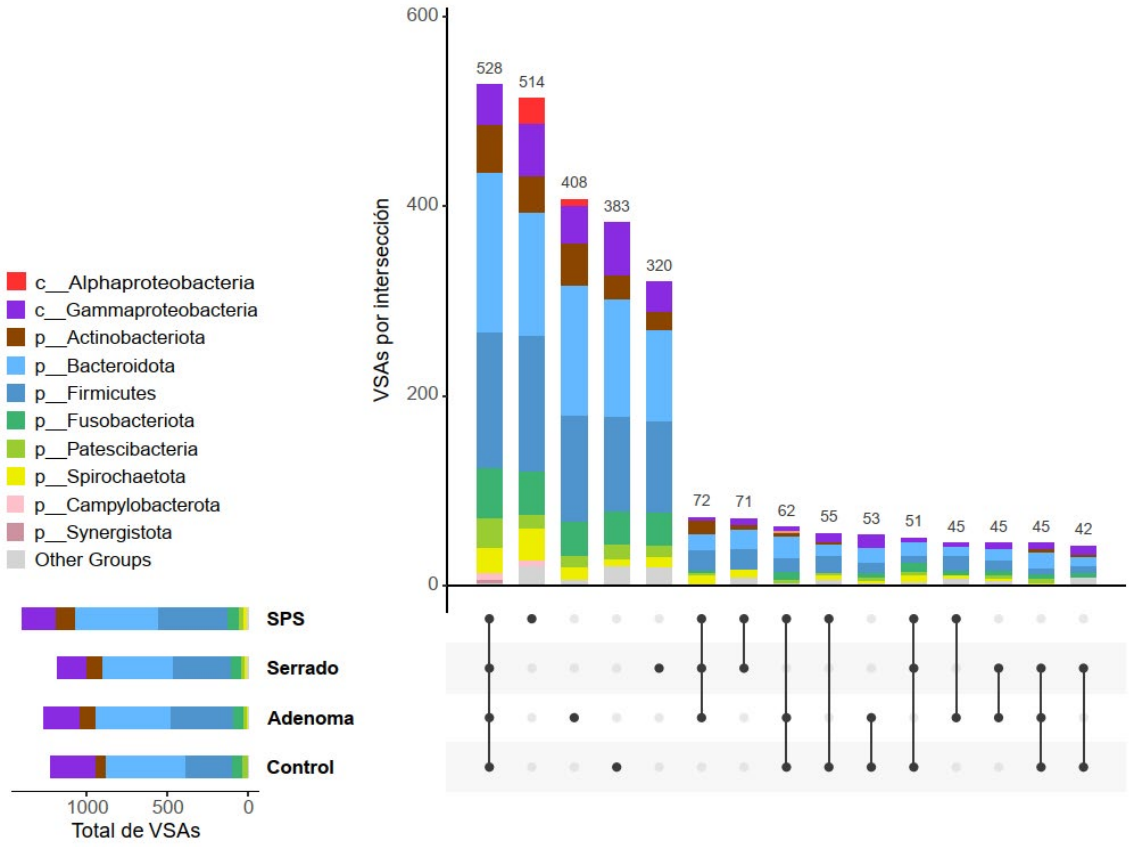


Figura 29. Diagrama de barras que muestra las VSAs de la microbiota oral compartidas (representadas por puntos unidos por líneas) y no compartidas en cada grupo.

Las VSAs se han clasificado según su filo o clase.

5.2.2.2 Microbiota intestinal

En la microbiota intestinal, los filos más frecuentes en todos los grupos fueron *Bacteroidota* y *Firmicutes* (**figura 30**). En los grupos SPS y serrado, el tercer filo más abundante fue *Actinobacteriota*, mientras que en los grupos adenoma y control fue *Proteobacteria*.

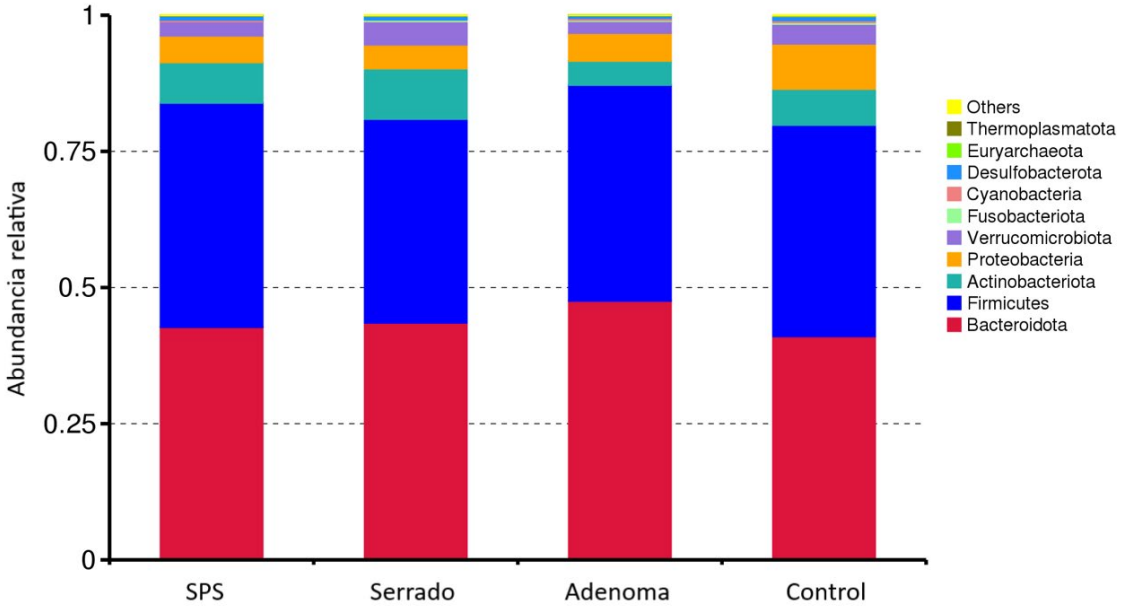


Figura 30. Composición de la microbiota intestinal a nivel de filos según los grupos.

El grupo SPS mostró una mayor abundancia de los filos *Thermoplasmatota* y *Euryarchaeota* en comparación con el grupo adenoma (FDR p=0,019 y p=0,006, respectivamente); no obstante, ambos filos presentaron una muy baja abundancia relativa. Por su parte, el grupo control exhibió una mayor abundancia del filo *Euryarchaeota* frente al grupo adenoma (FDR p=0,07).

Las clases *Thermoplasmata* y *Methanobacteria* fueron más abundantes en el grupo SPS que en el grupo adenoma (FDR p=0,049 en ambos grupos).

El género *Megasphaera* fue más abundante en el grupo serrado que en el SPS (FDR p=0,004). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las abundancias relativas de géneros entre los demás grupos.

La arquea metanógena *Methanobrevibacter smithii* presentó una mayor abundancia en el grupo SPS, serrado y control frente al grupo adenoma (FDR p=0,04, p=0,04 y p=0,08, respectivamente). *Roseburia intestinalis* se encontró disminuida en el grupo SPS y el serrado en comparación con el grupo adenoma (FDR p=0,01, ambos). *Clostridiales bacterium*,

Mordavella sp Marseille-P3756 y *Alistipes indistinctus* mostraron una mayor abundancia en el grupo serrado frente al grupo adenoma (FDR p=0,04, p=0,04 y p=0,08, respectivamente). *Roseburia inulinivorans* se encontró aumentada en el grupo adenoma en comparación con el grupo serrado (FDR p=0,08).

A continuación, se muestra el *heatmap* de agrupamiento con las abundancias absolutas normalizadas (valores Z) de las principales especies intestinales por grupos (**figura 31**).

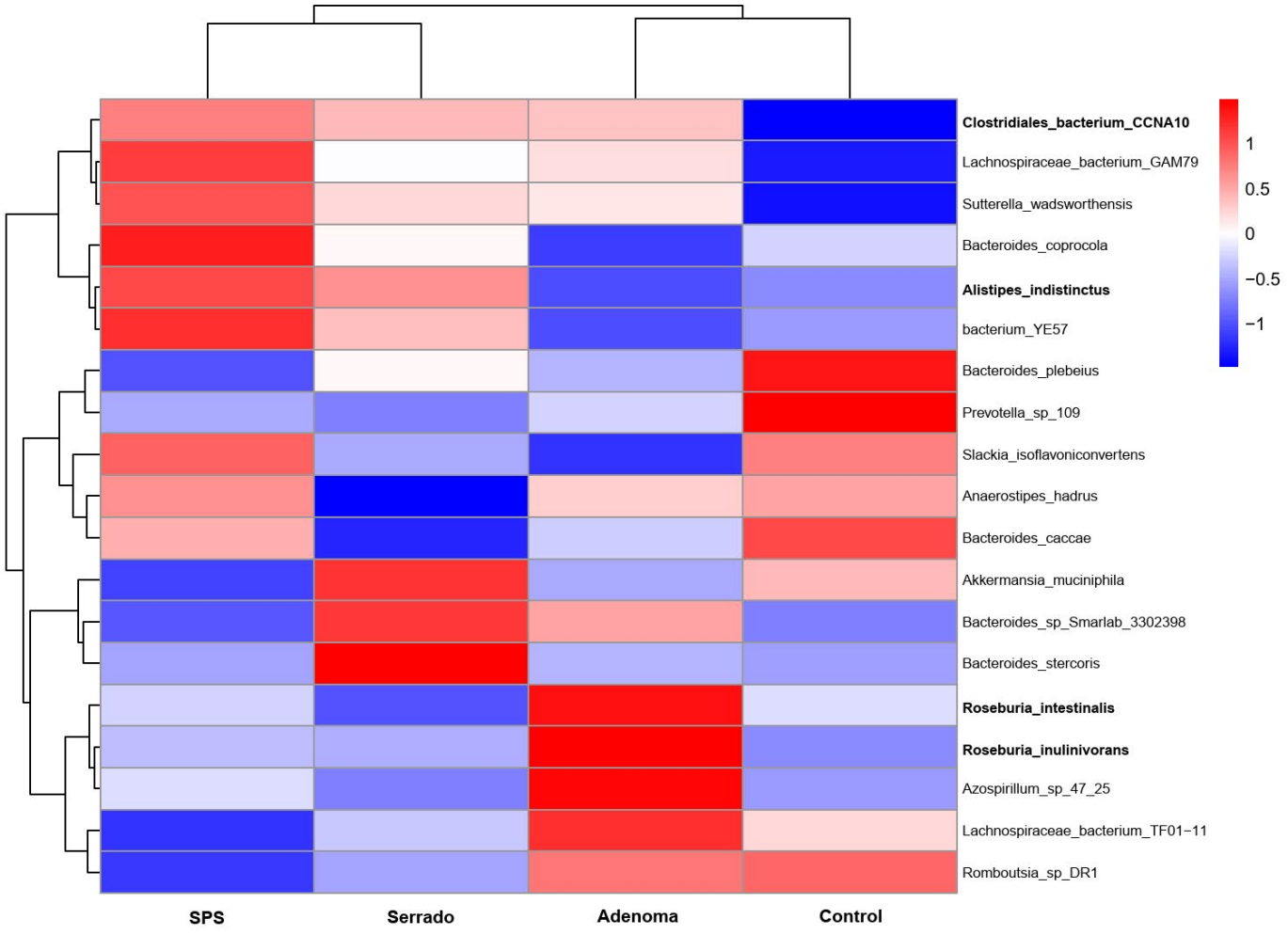


Figura 31. *Heatmap* que muestra los valores Z de las abundancias absolutas de especies intestinales entre grupos.

Las especies fueron seleccionadas a partir del análisis de abundancia diferencial, incluyendo solo los taxones con valor p <0,1. La escala de colores refleja los valores Z, desde azul (abundancia por debajo del promedio) al rojo (abundancia por encima del promedio), siendo el blanco indicativo de niveles promedio. Se utilizó el método de Ward para realizar el agrupamiento y revelar patrones a nivel de grupo. Las especies con diferencias estadísticamente significativas entre grupos (FDR <0,1) se han resaltado en negrita.

La **figura 32** muestra las VSAs intestinales compartidas y exclusivas de cada grupo. Los cuatro grupos comparten 808 VSAs. El grupo control es el que presenta el mayor número de VSAs únicas, con 1270, seguido por el grupo SPS con 935, el grupo serrado con 756 y el grupo adenoma con 625.

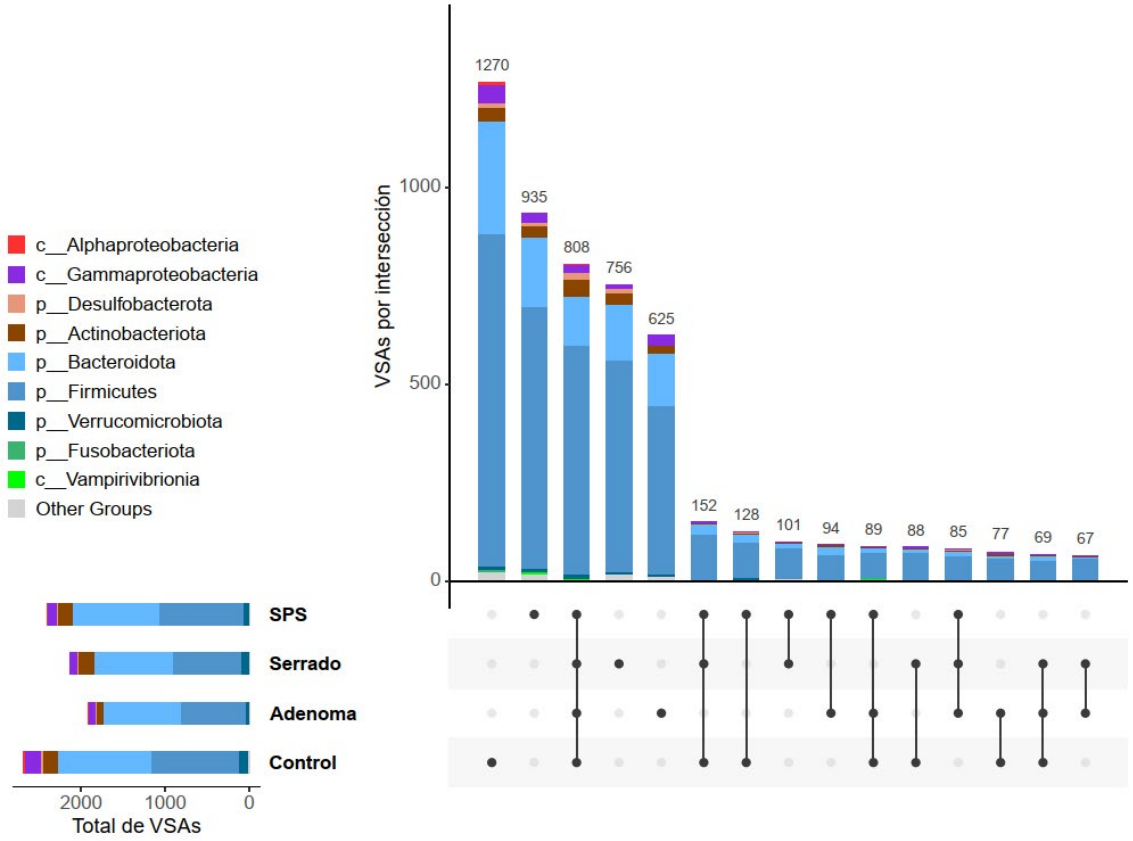


Figura 32. Diagrama de barras que muestra las VSAs de la microbiota intestinal compartidas (representadas por puntos unidos por líneas) y no compartidas en cada grupo.

Las VSAs se han clasificado según su filo o clase.

5.2.3 Asociación entre las variables clínicas y la microbiota

Se realizó un análisis de correlación de Spearman entre las variables clínicas y la abundancia relativa de las principales especies de la microbiota oral e intestinal de todos los participantes.

Se observó que las bacterias orales asociadas al grupo SPS presentaron correlaciones positivas con la presencia de lesiones serradas (**figura 33**). Las lesiones serradas acumuladas, es decir, el total de lesiones serradas de todas las colonoscopias previas y la de la inclusión, se asociaron de forma positiva pero débil con *Treponema denticola* (r_s=0,3, p=0,0006), *Treponema socranskii* (r_s=0,24, p=0,005) y *Porphyromonas gingivalis* (r_s=0,25, p=0,004), y de manera negativa con *Fusobacterium periodonticum* (r_s=-0,17, p=0,046) y *Capnocytophaga gingivalis* (r_s=-0,21, p=0,02). Los adenomas acumulados mostraron correlaciones negativas con *Capnocytophaga gingivalis* (r_s=-0,33, p=0,0002) y *Capnocytophaga sputigena* (r_s=-0,32, p=0,0002).

En la colonoscopia de inclusión, el número total de pólipos se asoció positivamente con *Treponema socranskii* (r_s=0,31, p=0,0004) y, negativamente con *Corynebacterium durum* (r_s=-0,33, p=0,0002), *Capnocytophaga gingivalis* (r_s=-0,31, p=0,0003) y *Capnocytophaga sputigena* (r_s=-0,31, p=0,0004). Las lesiones serradas detectadas en esta colonoscopia se correlacionaron positivamente con *Streptococcus anginosus* (r_s=0,30, p=0,018), mientras que los adenomas se asociaron de forma negativa con *Capnocytophaga sputigena* (r_s=-0,32, p=0,0003).

No se identificaron correlaciones relevantes entre la edad, el consumo de tabaco o los hábitos dietéticos y la abundancia de bacterias orales.

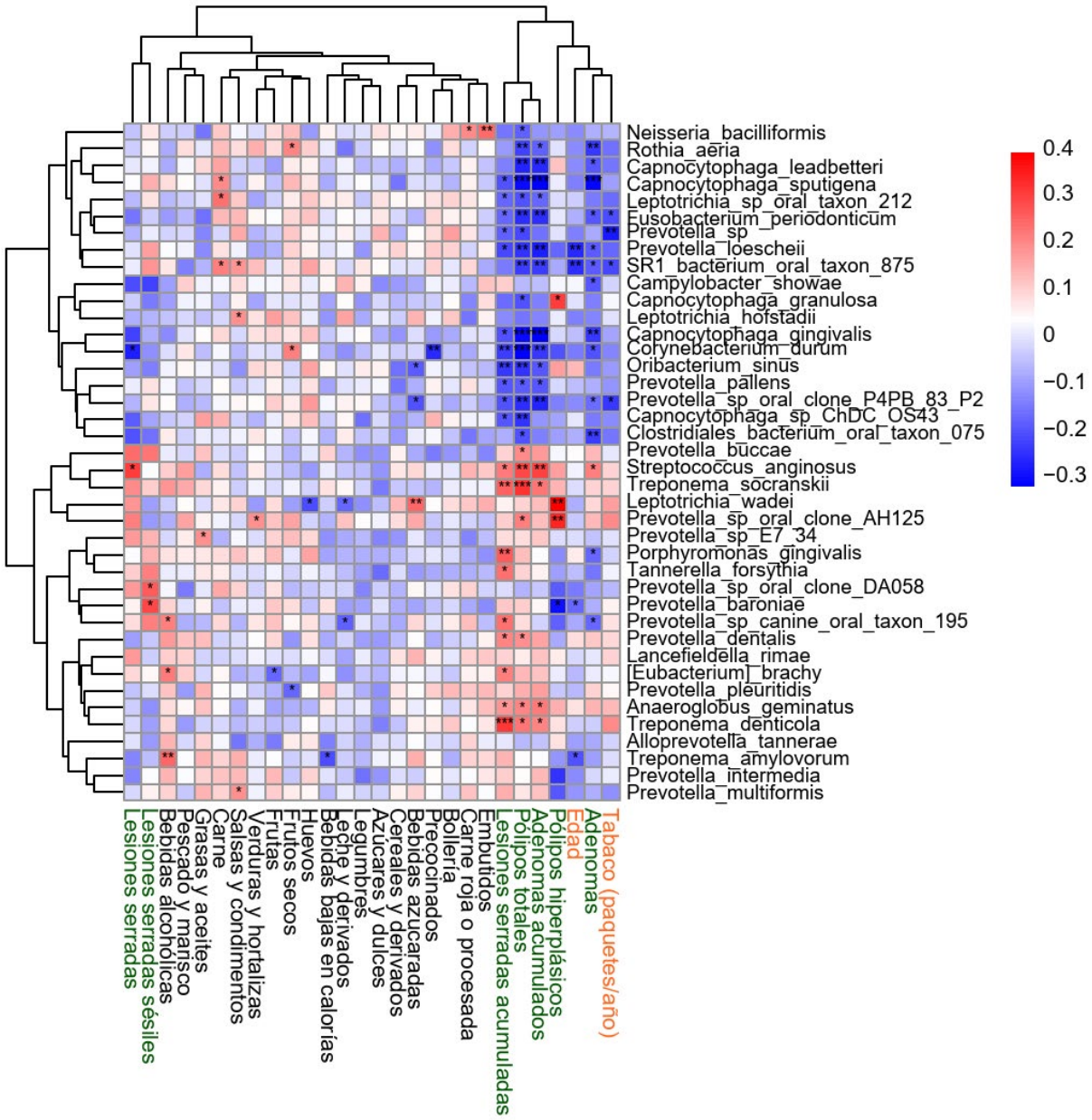


Figura 33. *Heatmap* de correlación de Spearman entre variables clínicas numéricas y las especies de la microbiota oral en todos los participantes.

Las variables clínicas de color naranja corresponden a las epidemiológicas, las verdes a los hallazgos endoscópicos y las negras a los hábitos dietéticos. Las especies fueron preseleccionadas a partir del análisis de abundancia diferencial, reteniendo únicamente aquellas con un valor p <0,05. Los valores de correlación están codificados por colores: azul indica correlaciones negativas, rojo correlaciones positivas, y blanco ausencia de asociación. La significancia estadística se indica mediante asteriscos: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Solo se incluyeron variables clínicas numéricas con datos disponibles en el conjunto de datos fenotípicos fusionado.

A nivel de microbiota intestinal, las lesiones serradas acumuladas se correlacionaron de forma débil y positiva con *Alistipes indistinctus* (r_s=0,21, p=0,016) y negativamente con *Roseburia intestinalis* (r_s=-0,19, p=0,02) (**figura 34**).

En la colonoscopia de inclusión, el número total de pólipos se asoció positivamente a *Lachnospiraceae bacterium GAM79* (r_s=0,23, p=0,0007) y negativamente a *Bacteroides plebeius* (r_s=-0,27, p=0,0017). Las lesiones serradas y las LSS se asociaron negativamente a *Bacteroides sp Smarlab 3302398* (r_s=-0,30, p=0,014 y r_s=-0,27, p=0,029, respectivamente).

Los adenomas en la colonoscopia de inclusión y los adenomas acumulados se asociaron de forma negativa a *Bacteroides plebeius* (r_s=-0,21, p=0,017 y r_s=-0,21, p=0,018, respectivamente).

En relación con las variables dietéticas, se observó una correlación positiva pero débil entre el consumo de embutidos y la especie *Bacteroides stercoris* (r_s=0,29, p=0,0008); y entre la ingesta de bollería y *Anaerostipes hadrus* (r_s=0,25, p=0,006) y *Bacteroides caccae* (r_s=0,24, p=0,007).

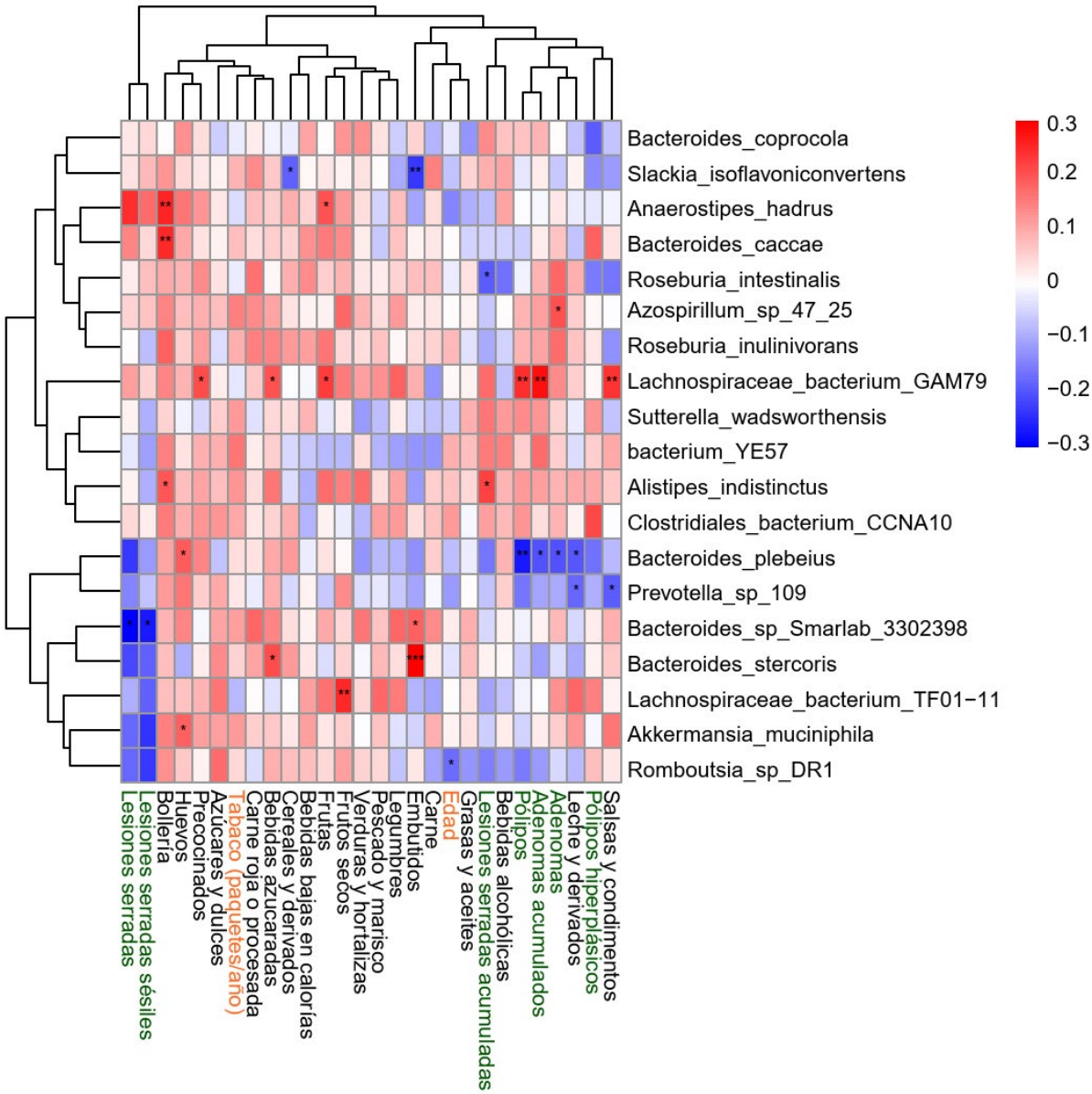


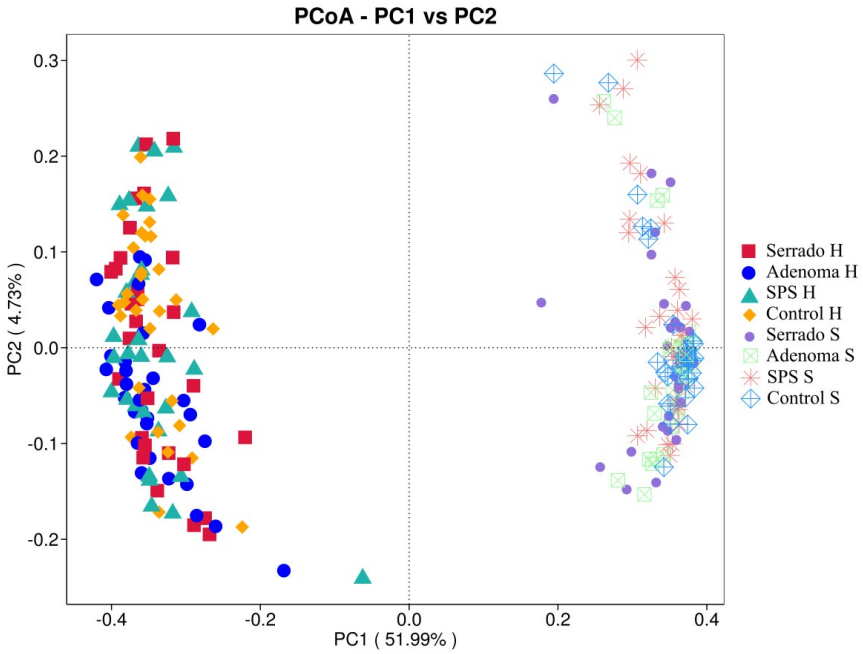
Figura 34. *Heatmap* de correlación de Spearman entre variables clínicas numéricas y las especies de la microbiota intestinal en todos los participantes.

Las variables clínicas de color naranja corresponden a las epidemiológicas, las verdes a los hallazgos endoscópicos y las negras a los hábitos dietéticos. Las especies fueron preseleccionadas a partir del análisis de abundancia diferencial, reteniendo únicamente aquellas con un valor p <0,05. Los valores de correlación están codificados por colores: azul indica correlaciones negativas, rojo correlaciones positivas, y blanco ausencia de asociación. La significancia estadística se indica mediante asteriscos: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Solo se incluyeron variables clínicas numéricas con datos disponibles en el conjunto de datos fenotípicos fusionado.

5.2.4 Comparación de microbiota oral e intestinal

Como era de esperar, el análisis de coordenadas principales (PCoA) evidenció dos grupos distintos, conformados por muestras de saliva y heces (**figura 35**).

(A) PCoA basado en distancias UniFrac no ponderadas de microbiota oral e intestinal de los grupos



(B) PCoA basado en distancias UniFrac ponderadas de microbiota oral e intestinal de los grupos

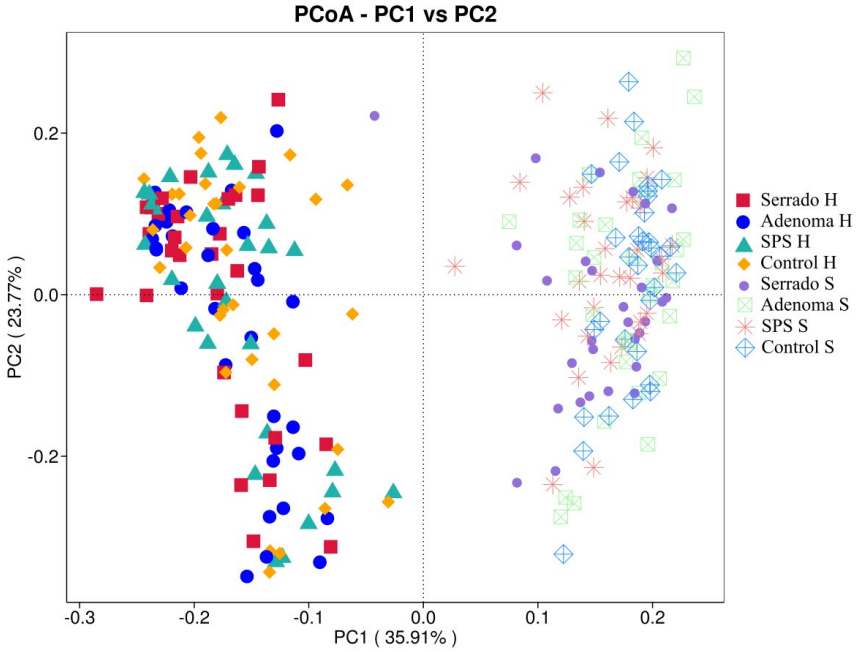


Figura 35. Análisis de coordenadas principales (PCoA) de las distancias Unifrac no ponderadas (A) y ponderadas (B) de la microbiota oral e intestinal asociado con los diferentes grupos.

H: heces; S: saliva.

5.2.4.1 Oralización de la microbiota intestinal

Valoramos la oralización de la microbiota intestinal en los diferentes grupos, es decir, el número de VSAs que se encontraban tanto en saliva como en heces en cada grupo. En la **figura 36**, se muestran los diagramas de Venn con el número de VSAs diferentes y comunes entre microbiota oral e intestinal de cada grupo. El porcentaje de VSAs de la microbiota fecal que también se encontraba en saliva fue de 3,58% en el grupo SPS, 3,75% en el grupo serrado, 4,30% en el grupo adenoma y 2,78% en el grupo control.

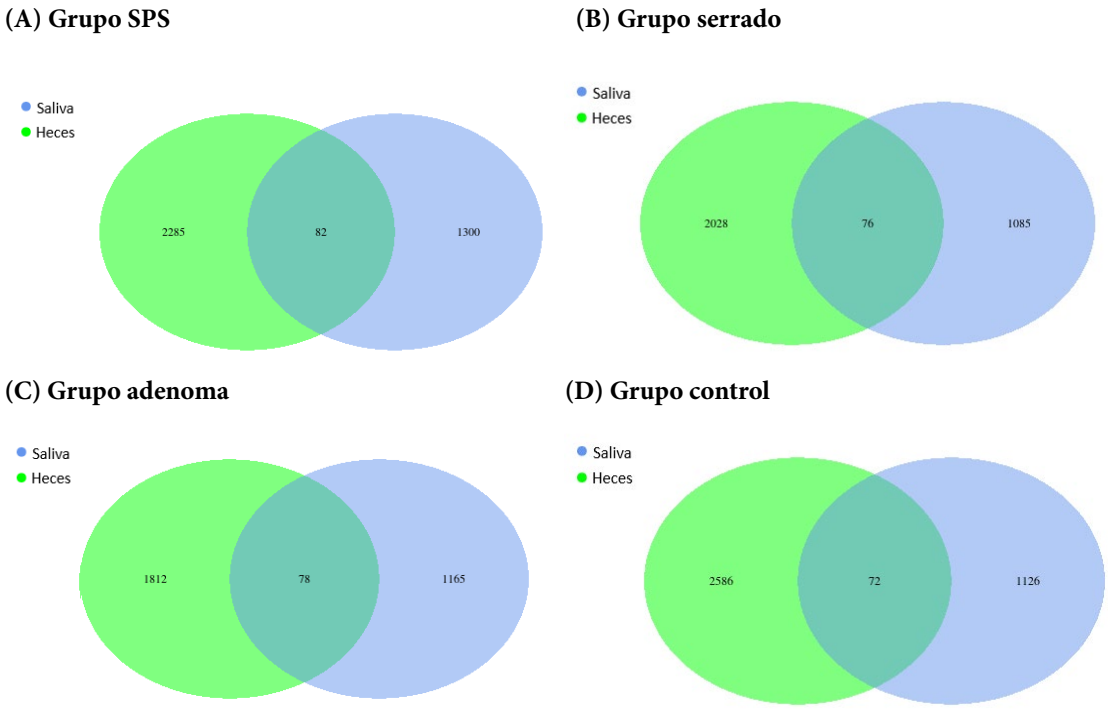


Figura 36. Diagramas de Venn con VSAs identificadas en saliva y heces en los grupos.

En la **figura 37** se muestra la abundancia relativa de las 22 principales especies compartidas entre la cavidad oral y el intestino. Las abundancias muestran una clara variabilidad, reflejando la adaptación de una misma especie a diferentes nichos según el lugar de colonización.

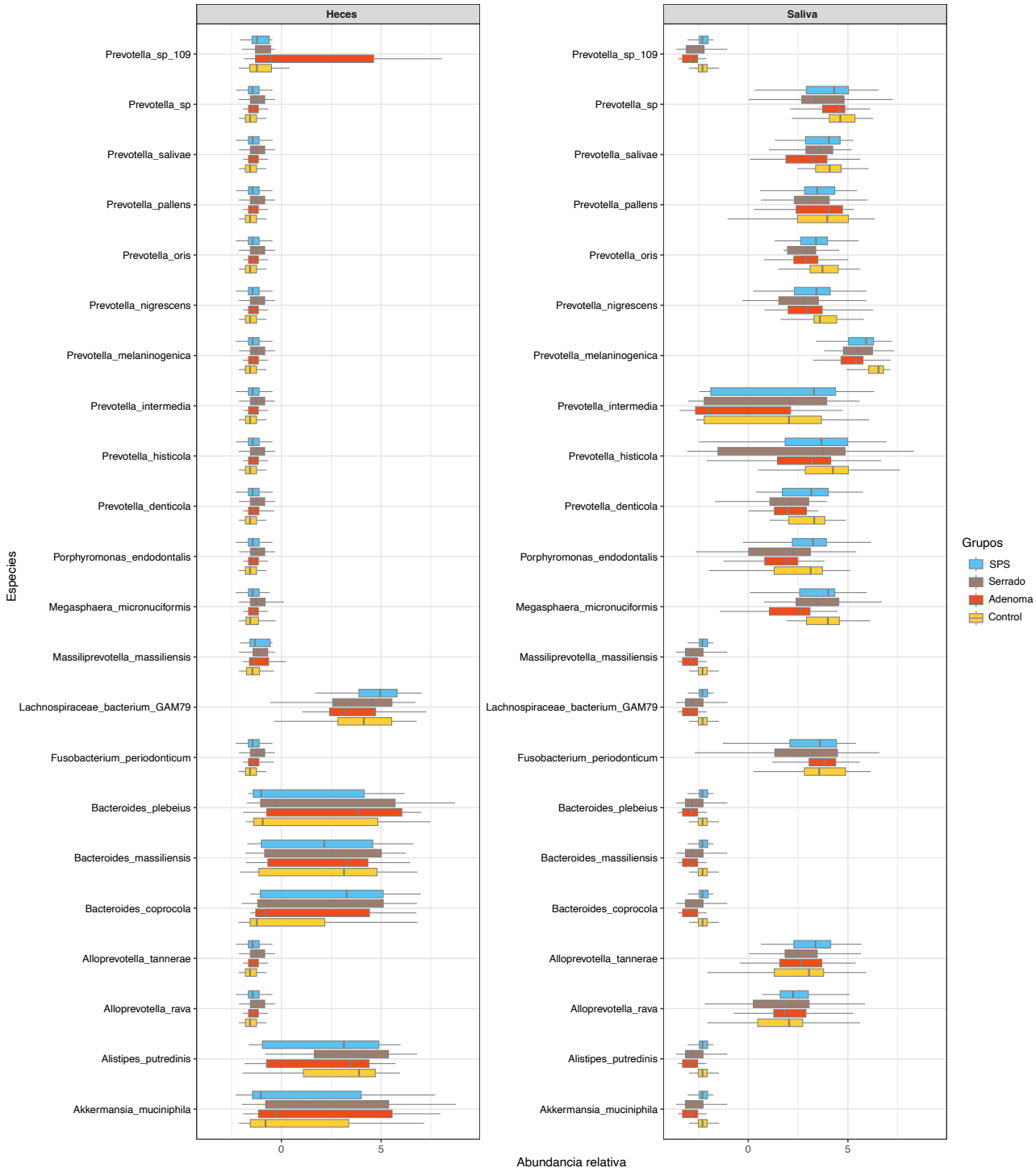
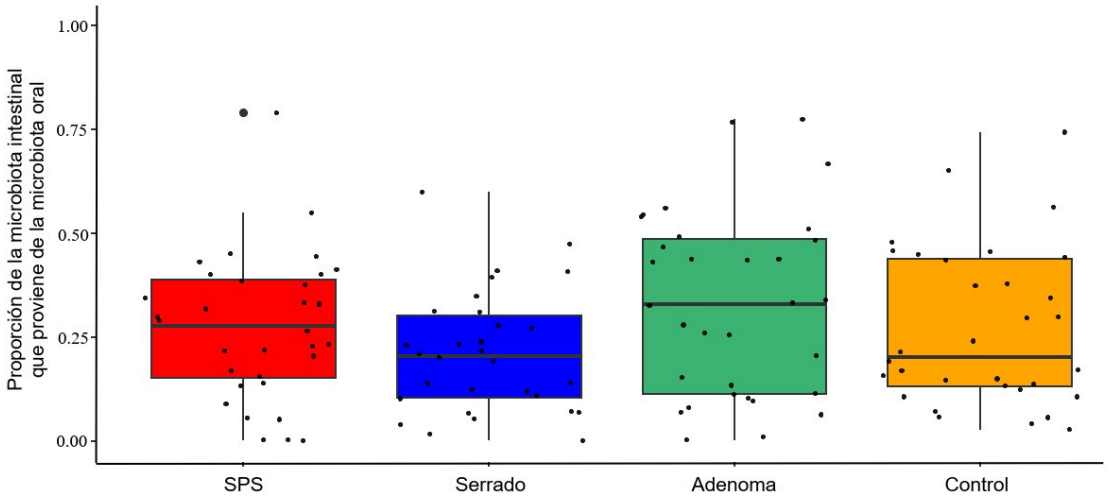


Figura 37. Abundancias relativas de las 22 especies principales compartidas entre la microbiota intestinal y oral según el grupo al que pertenecen.

Se utilizó el método de rastreo rápido de fuentes microbianas por expectativa-maximización (FEAST, por sus siglas en inglés, *Fast Expectaction–Maximization Microbial Source Tracking*) [309] para examinar la homología de géneros y especies homólogas. Los resultados mostraron que no hubo diferencias en la proporción de microbiota intestinal, tanto a nivel de género como de especies, proveniente de la microbiota oral entre los grupos (**figura 38**).

(A)



(B)

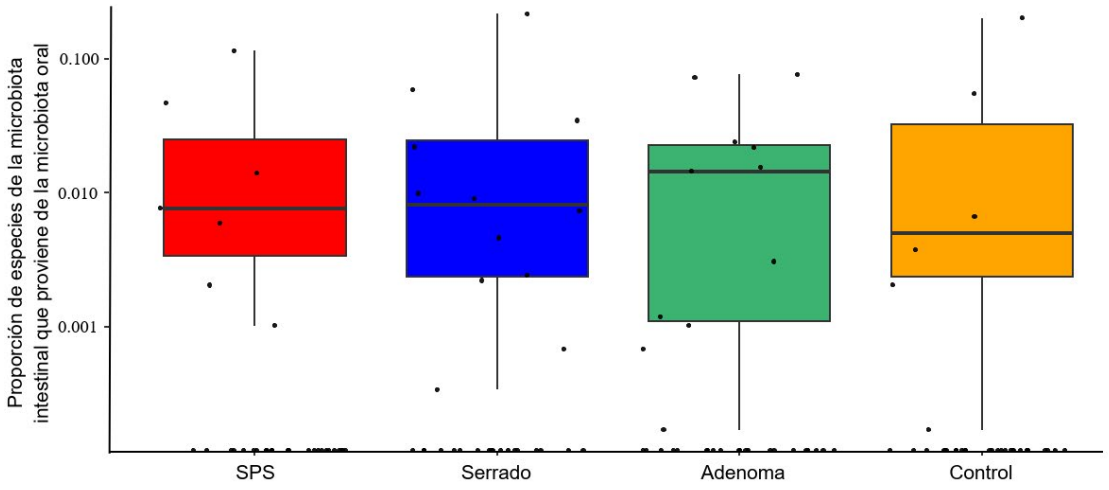


Figura 38. *Boxplot* de la proporción de géneros (A) y especies (B) de microbiota intestinal compartido con la microbiota oral.

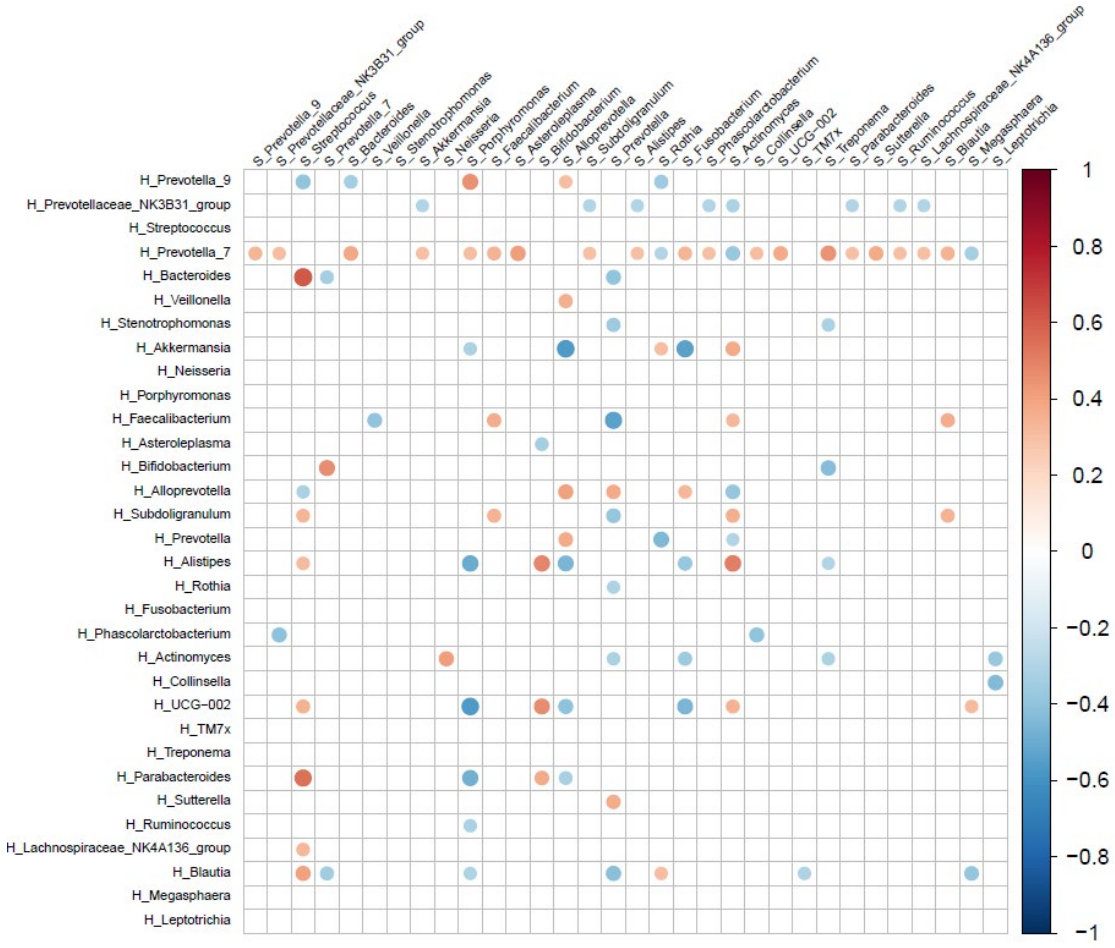
No se observaron diferencias estadísticamente significativas, mediante test Kruskall-Wallis (p>0,05). El *boxplot* del análisis FEAST en especies en escala log10.

5.2.4.2 Correlación entre la microbiota oral e intestinal

Se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman para comparar la abundancia relativa de los géneros y especies orales frente a las intestinales en el grupo SPS (**figura 39**). Se aplicó un filtro para conservar únicamente las características con al menos un 0,5% de prevalencia en todas las muestras.

En el grupo SPS, el género oral *Streptococcus* mostró una correlación positiva con *Bacteroides* intestinal (r_s=0,61, p=0,0001) y con *Parabacteroides* intestinal (r_s=0,54, p=0,001). *Porphyromonas* oral presentó una correlación negativa con *UCG-002* intestinal (r_s=-0,56, p=0,0007). Además, *Prevotella* oral se correlacionó negativamente con *Faecalibacterium* intestinal (r_s=-0,53, p=0,001), y *Alloprevotella* y *Fusobacterium* orales se correlacionaron negativamente con *Akkermansia* intestinal (r_s=-0,56, p=0,0007; r_s=-0,53, p=0,001, respectivamente). La especie oral *Porphyromonas gingivalis* mostró una correlación positiva con *Prevotella sp-109* intestinal (r_s=0,44, p=0,01) y una correlación negativa con *Bacteroides stercoris* intestinal (r_s=-0,47, p=0,006). *Porphyromonas endodontalis* oral presentó una correlación positiva con *Roseburia inulinivorans* intestinal (r_s=0,53, p=0,001) y *Prevotella salivae* oral se correlacionó negativamente con *Prevotella sp-109* intestinal (r_s=-0,51, p=0,002).

(A) Gráfico de correlación de géneros oral-intestinal



(B) Gráfico de correlación de especies oral-intestinal

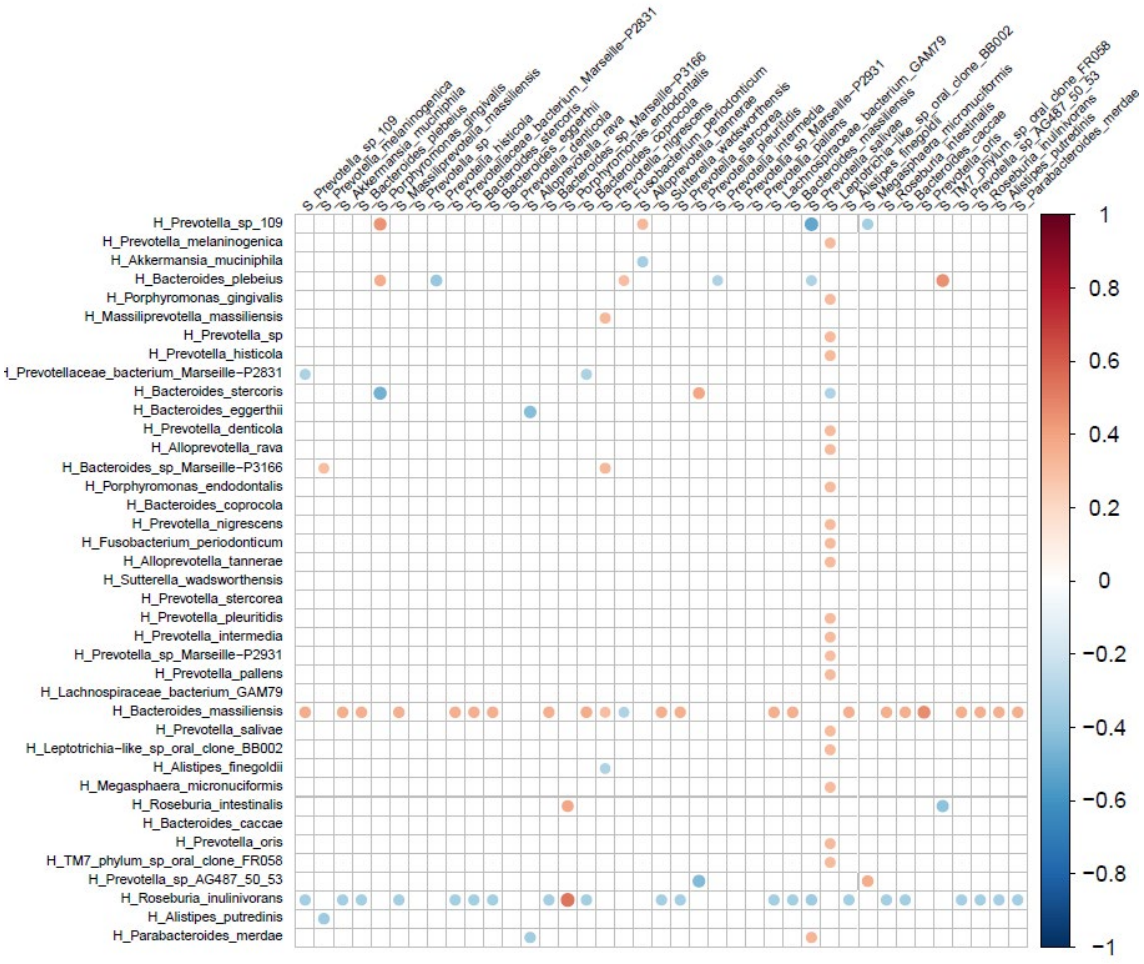


Figura 39. Gráfico de correlación de los principales géneros (A) y especies (B) detectados en muestras orales e intestinales en pacientes con SPS, utilizando la correlación de Spearman.

Solo se muestran las correlaciones con un valor p corregido menor a 0,1. Los valores de correlación están codificados por colores: rojo indica correlaciones positivas y azul correlaciones negativas.

5.3. Abundancia de *Fusobacterium nucleatum* en saliva y heces calculado mediante qPCR

La secuenciación del amplicón del gen 16S rRNA cuantifica la abundancia relativa de taxones bacterianos. Sin embargo, la variación en la carga bacteriana total entre muestras restringe la capacidad de esta técnica de reflejar concentraciones absolutas de especies bacterianas individuales [310]. Por este motivo, determinamos la abundancia absoluta de *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) tanto en muestras de saliva como en heces mediante qPCR.

Se detectó *F. nucleatum* en saliva en todos los pacientes. La mediana de la abundancia absoluta de *F. nucleatum* fue de 8,42 x 10^6 copias/ml en el grupo SPS (RIC, 1,29 x 10^6 – 1,41 x 10^7), 7,98 x 10^6 copias/ml en el grupo serrado (RIC, 1,19 x 10^6 – 2,50 x 10^7), 1,19 x 10^7 copias/ml en el grupo adenoma (RIC, 3,75 x 10^6 – 2,03 x 10^7) y 1,32 x 10^7 copias/ml en el grupo control (RIC, 3,53 x 10^6 – 3,14 x 10^7). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (**figura 40**).

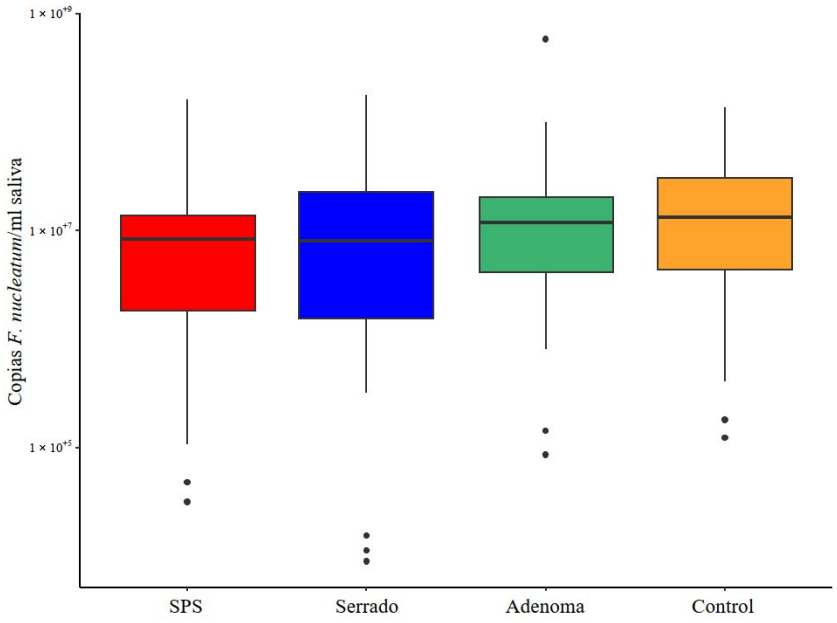


Figura 40. Abundancia absoluta de *Fusobacterium nucleatum* por qPCR en muestras de saliva.

En las muestras de heces, se detectó *F. nucleatum* en el 84,3% de los individuos del grupo SPS, 90% del grupo serrado, 87,5% del grupo adenoma y 81,3% del grupo control, sin observar diferencias estadísticamente significativas (**tabla 12**).

F. nucleatum en heces	Positivo	Negativo	Total
SPS	84,3% (27)	15,6% (5)	32
Serrado	90% (27)	10% (3)	30
Adenoma	87,5% (28)	12,5% (4)	32
Control	81,3% (26)	18,8% (6)	32

Tabla 12. Detección de *Fusobacterium nucleatum* en muestras de heces entre los diferentes grupos.

La mediana de abundancia absoluta de *F. nucleatum* fue de 1,18 x 10^5 copias/g en el grupo SPS (RIC, 4,59 x 10^4 – 4,01 x 10^5), 8,46 x 10^4 copias/g en el grupo serrado (RIC, 3,99 x 10^4 – 4,72 x 10^5), 2,22 x 10^5 copias/g en el grupo adenoma (RIC, 4,50 x 10^4 – 1,33 x 10^6) y 1,50 x 10^5 copias/g en el grupo control (RIC, 3,23 x 10^4 – 8,71 x 10^5) (**figura 41**), sin observar diferencias estadísticamente significativas.

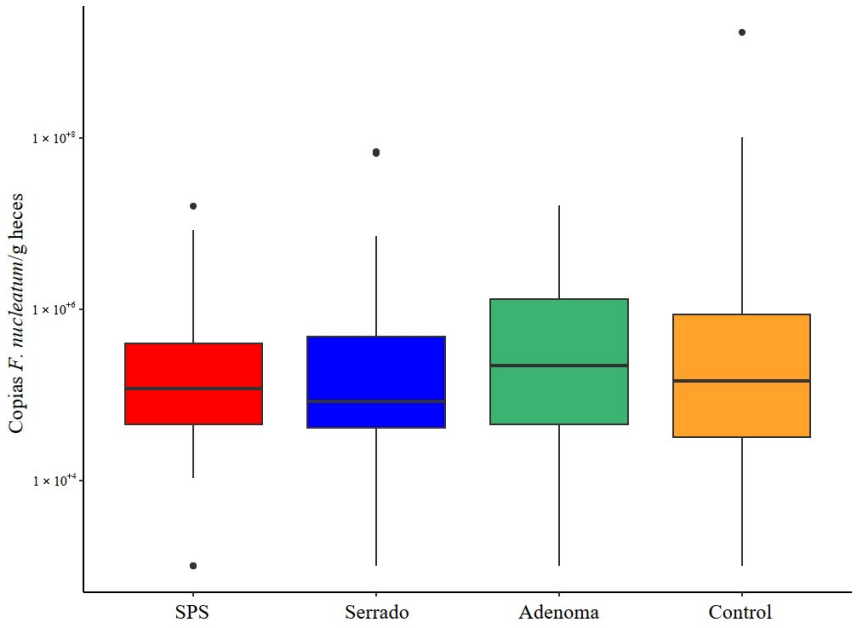


Figura 41. Abundancia absoluta de *Fusobacterium nucleatum* por qPCR en muestras de heces.

El análisis de la correlación de Spearman no evidenció una correlación significativa entre las abundancias absolutas de *F. nucleatum* en heces y saliva.

6. DISCUSIÓN

El SPS es el síndrome de poliposis colorrectal más frecuente; sin embargo su etiopatogenia no ha sido completamente esclarecida. Planteamos que la microbiota oral e intestinal de estos pacientes podría desempeñar un papel en dicho proceso. En este contexto, estudios previos han analizado la microbiota en pacientes con CCR y pólipos; no obstante, pocos han diferenciado según las distintas vías de carcinogénesis o los tipos de lesiones preneoplásicas, y la mayoría se han realizado en poblaciones no europeas. Este trabajo representa la primera muestra de individuos con SPS en la que se ha recopilado de manera integrada información sobre datos demográficos, hallazgos endoscópicos, hábitos dietéticos y consumo de fármacos, combinados con el estudio metagenómico de microbiota oral e intestinal.

El objetivo principal de esta tesis fue caracterizar la microbiota oral e intestinal de individuos con SPS y compararla con la de individuos con lesiones serradas, adenomas y con la de controles sin pólipos. Analizar tanto la microbiota oral como la intestinal permite identificar posibles interacciones y correlaciones entre ambas comunidades microbianas, lo que facilita una mejor comprensión de su papel en la fisiopatología del SPS. Al estudiar simultáneamente ambos ecosistemas, es posible detectar patrones de transmisión bacteriana, evaluar la influencia de la microbiota oral en la intestinal y explorar su contribución conjunta en la carcinogénesis colorrectal. Además, este enfoque permite determinar si la microbiota oral podría servir como un biomarcador diagnóstico no invasivo para identificar alteraciones microbianas asociadas al SPS y su posible progresión a CCR.

La inclusión de individuos con lesiones precursoras resulta clave para evaluar el papel de la microbiota en las fases iniciales de la progresión neoplásica. La mayoría de los trabajos previos han comparado la microbiota de individuos sanos con la de pacientes con CCR, lo que dificulta determinar si los cambios observados son una consecuencia del tumor o si desempeñan un papel en la carcinogénesis. Las diferencias encontradas podrían estar más relacionadas con el ambiente generado por el tumor que con la implicación directa del microbioma en el desarrollo del CCR.

Diseñamos el estudio seleccionando a los participantes entre 30 y 90 días después de la realización de una colonoscopia. Este enfoque permitió minimizar la influencia de la preparación intestinal sobre la microbiota, ya que se ha demostrado que los cambios inducidos por la limpieza colónica son reversibles en un periodo de 30-60 días. Además, seleccionar individuos con lesiones serradas antes de la colonoscopia resulta complicado debido a su baja incidencia. La diferenciación entre lesiones serradas y adenomas fue esencial, dado que presentan características biológicas y clínicas distintas. Estudios previos han identificado firmas taxonómicas y funcionales microbianas específicas para cada tipo de pólipo [275]. No obstante, permitimos que el grupo de lesiones serradas incluyera pacientes con adenomas debido a la alta prevalencia de la coexistencia de ambos tipos de lesiones, mientras que en el grupo de adenomas se excluyó la presencia de lesiones serradas. Esta decisión facilitó la comparación entre grupos y permitió obtener datos más representativos de la realidad clínica. Además, en

la cohorte más grande publicada hasta la fecha sobre adenomas, lesiones serradas y microbiota, se observó que las comunidades microbianas promedio de los sujetos con ambos tipos de pólipos (adenomas y serrados) eran significativamente diferentes de las de los sujetos con solo adenomas (p=0,02), pero no mostraban una diferencia significativa con respecto a los que solo presentaban lesiones serradas (p=0,3) [275]. Esto sugiere que la variación en el microbioma de los pacientes con ambos tipos de pólipos es más similar al de aquellos con lesiones serradas exclusivamente. Por otro lado, hasta el 51,1% de los CCR en individuos con SPS se originan por la vía adenoma-carcinoma [93], y el 75% de los pacientes con SPS presentan al menos un adenoma, lo que refuerza la necesidad de considerar ambos tipos de pólipos en el análisis.

Planteamos la hipótesis de que los pacientes con SPS presentan una disbiosis oral e intestinal específica, con una composición distinta a la de individuos con pólipos que no cumplen los criterios diagnósticos de SPS y a la de individuos sin pólipos. Asimismo, esta disbiosis oral podría influir en la modulación de la microbiota intestinal de los pacientes con SPS, contribuyendo así a las etapas iniciales de la carcinogénesis.

Nuestros resultados apoyan esta hipótesis. La disbiosis se define como una alteración en la composición o función de la microbiota debido a un desequilibrio entre microorganismos simbióticos y oportunistas. Esta puede manifestarse mediante la pérdida de microorganismos beneficiosos, la expansión de microorganismos patógenos y/o una disminución de la diversidad microbiana. En nuestro estudio, observamos que los individuos con SPS no presentaron una reducción significativa en la diversidad alfa de la microbiota oral, pero sí mostraron diferencias en la composición microbiana en comparación con el resto de grupos, evidenciadas mediante análisis de distancias UniFrac ponderadas y no ponderadas. Además, en el grupo SPS se identificó un incremento en la abundancia de bacterias orales asociadas al CCR, como *Treponema denticola* (*T. denticola*), *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Estos hallazgos sugieren una posible disbiosis oral que podría estar relacionada con el mayor riesgo de CCR en estos pacientes. En la microbiota intestinal, identificamos una menor diversidad alfa, medida por el índice de Simpson, del grupo SPS frente a los individuos sin pólipos. También, encontramos diferencias en la composición bacteriana entre el grupo SPS y los grupos adenoma y control mediante análisis de distancias UniFrac no ponderada. En relación a la taxonomía de la microbiota intestinal, se observaron pocas diferencias entre los individuos con SPS y el resto de grupos y de escasa relevancia.

A nivel clínico, encontramos una mayor prevalencia de tabaquismo en los pacientes con SPS y en aquellos con lesiones serradas, en comparación con los grupos adenoma y control. En nuestra muestra, el 56,3% de los individuos con SPS y el 40,0% de los del grupo serrado eran fumadores activos, frente al 18,8% en el grupo adenoma y el 9,4% en el grupo control. Estos resultados concuerdan con estudios previos que han descrito una asociación significativa entre el tabaquismo y el desarrollo de lesiones serradas [17], así como una mayor proporción de fumadores activos en pacientes con SPS, que oscila entre el 42% y el 47% en distintas cohortes [92,311]. También se

observó un mayor consumo de estatinas y de AINEs o AAS en este grupo, lo que podría tener implicaciones en la modulación de la microbiota. En nuestra muestra, el 31,3% de los individuos con SPS consumían AINEs o AAS, en comparación con el 10,0% del grupo serrado, el 6,3% del grupo adenoma y el 21,9% del grupo control. Este hallazgo podría explicarse por un sesgo de indicación, ya que las personas con factores de riesgo cardiovascular tienen una mayor probabilidad de recibir AAS como parte de su tratamiento habitual. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos en la prevalencia de HTA y diabetes mellitus. Cabe señalar que en este estudio la indicación concreta del uso de AAS no fue registrada, por lo que no es posible discernir si su consumo correspondía exclusivamente a la prevención cardiovascular o a otras causas, como antecedentes de accidente vascular cerebral o infarto de miocardio. Otra posible explicación es el papel de los AINEs y el AAS en la quimioprevención del CCR y la reducción del riesgo de pólipos colorrectales, lo cual ha sido ampliamente estudiado en la literatura [17,312]. Su uso frecuente en la población general podría estar ejerciendo un efecto protector, reduciendo la aparición de adenomas y lesiones serradas, lo que explicaría su menor prevalencia en estos grupos en comparación con los controles y los pacientes con SPS. No obstante, este efecto protector no parecería influir en los individuos con SPS. En cuanto a los hábitos dietéticos, el grupo SPS reportó un menor consumo de embutidos y jamón en comparación con los grupos de adenomas y de lesiones serradas. Múltiples estudios han confirmado la asociación positiva entre el consumo de carne procesada y el riesgo de desarrollar tanto adenomas como lesiones serradas [313,314]. Sin embargo, en nuestra cohorte, los individuos con SPS no parecieron verse influenciados por este efecto, lo que sugiere que el consumo de carne procesada podría no desempeñar el mismo papel en la formación de pólipos en este síndrome. Este hallazgo, descrito por primera vez en pacientes con SPS, debe interpretarse con cautela, ya que se trata de una muestra de tamaño reducido y requiere ser confirmado en estudios con mayor número de participantes y cuyo objetivo principal sea el análisis de los hábitos dietéticos.

Centrando de nuevo la atención en la microbiota, como se mencionó previamente, no se observaron diferencias en la diversidad alfa de la microbiota oral entre los grupos. Existen pocos estudios que hayan evaluado la diversidad alfa a nivel oral en individuos con pólipos, y ninguno de ellos ha analizado un grupo con lesiones serradas. De los tres estudios realizados, dos encontraron una menor diversidad alfa en el grupo de pólipos (sin diferenciar el tipo histológico) en comparación con los individuos sin pólipos [181–183]. En cuanto a la microbiota intestinal, se observó una disminución de la diversidad alfa en el grupo con adenomas en comparación con el grupo control, medida con el índice Chao1, en concordancia con estudios previos [216,272]. Además, el grupo con SPS presentó una menor diversidad alfa en comparación con el grupo control, medida con el índice de Simpson. Este índice evalúa la dominancia de las especies y es más sensible a la pérdida de especies comunes. Sin embargo, esta diferencia no se reprodujo con los índices de Chao1 y Shannon, que reflejan la riqueza y la uniformidad en la distribución de las abundancias de las especies. Esta discrepancia podría indicar que la alteración de la microbiota intestinal en el SPS se relaciona más con cambios en la dominancia de ciertas especies que con una pérdida general de riqueza o uniformidad.

Nuestros resultados mostraron diferencias en la composición de la microbiota oral entre el grupo SPS y los demás grupos, y en la microbiota intestinal entre el grupo SPS y los grupos adenoma y sin pólipos, evidenciadas mediante las distancias UniFrac ponderadas y no ponderadas. No obstante, utilizando la matriz de distancia Bray-Curtis, solo se observaron diferencias en la microbiota oral entre el grupo SPS y el grupo control. Esta aparente discrepancia puede atribuirse a las diferencias conceptuales entre ambas métricas y enfoques estadísticos. Mientras que UniFrac incorpora información filogenética de los taxones —considerando en su versión ponderada también sus abundancias relativas—, la distancia Bray-Curtis evalúa únicamente diferencias en abundancia sin tener en cuenta la relación evolutiva entre los taxones. De este modo, es posible que los grupos difieran en la presencia de linajes filogenéticamente distintos o en taxones de baja abundancia, lo que se refleja en UniFrac, pero mantengan una estructura global de abundancias similar cuando se ignora la filogenia, lo que podría limitar la detección de estas diferencias basado en Bray-Curtis.

Las únicas diferencias significativas en la composición bacteriana entre los grupos SPS y serrado se observaron en la microbiota oral al evaluar la distancia UniFrac ponderada, pero no la no ponderada. Es previsible que la microbiota, tanto oral como intestinal, de estos dos grupos sea más similar. Por un lado, aunque un criterio de exclusión para el grupo serrado fue no presentar cinco o más lesiones serradas metacrónicas o sincrónicas, es posible que algunos individuos de este grupo cumplan con los criterios de SPS en el futuro. Por otro lado, ambos grupos comparten factores de riesgo similares, como el tabaquismo, lo que podría contribuir a la semejanza en la composición de su microbiota.

Un hallazgo relevante fue la ausencia de evidencia que sugiera una mayor transmisión de bacterias de la microbiota oral a la intestinal en pacientes con SPS en comparación con otros grupos. Este resultado podría explicarse por la metodología utilizada, ya que la microbiota intestinal se estudió en muestras fecales y no en la mucosa colorrectal, donde la interacción con el epitelio podría ser más significativa. Los pacientes con SPS presentan lesiones serradas, típicamente localizadas en el colon proximal y productoras de moco, lo que podría favorecer la formación de biopelículas. Como se mencionó previamente, las biopelículas se detectan mayoritariamente en el CCR proximal y constituyen estructuras que crean entornos procancerígenos en fases iniciales de la carcinogénesis. Estas biopelículas albergan bacterias orales, incluyendo comensales y patógenos periodontales como *F. nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis* [143,249]. Estos taxones orales pueden colonizar la mucosa colónica y formar redes de coabundancia bacteriana similares a la que se encuentran en la cavidad oral. En este estudio, no fue posible evaluar directamente si existe una transmisión entre la microbiota oral y la microbiota de la mucosa colorrectal o de las biopelículas. Aún así, se observaron correlaciones moderadas entre la microbiota oral e intestinal en individuos con SPS, particularmente con especies como *Porphyromonas gingivalis*, que mostró asociaciones con *Prevotella sp-109* y *Bacteroides stercoris* en el intestino. Estas correlaciones no se detectaron en los otros grupos, lo que sugiere una posible interacción específica entre el microbioma oral e intestinal en estos pacientes.

En cuanto a la taxonomía oral, el filo *Spirochaetota* mostró una mayor abundancia en los individuos con SPS en comparación con los controles sanos. Este filo no se ha observado aumentado en individuos con CCR o pólipos; sin embargo, se ha encontrado hasta 143 veces más abundante en la saliva de pacientes con periodontitis severa en comparación con controles sanos, y su presencia disminuyó significativamente tras el tratamiento [315,316]. Los géneros *Filifactor*, *Treponema* y *Anaeroglobus* también presentaron una mayor abundancia en la microbiota oral de los pacientes con SPS en comparación con los individuos sin pólipos. Aunque estos tres géneros no han sido relacionados directamente con el CCR, sí se han asociado con la enfermedad periodontal. En particular, el género *Anaeroglobus* se ha vinculado a la periodontitis, especialmente en pacientes fumadores [317].

A nivel de especies, *T. denticola* fue más abundante en la microbiota oral de los individuos con SPS en comparación con aquellos sin pólipos. Esta bacteria, perteneciente al filo *Spirochaetota*, es un patógeno oral relacionado con la enfermedad periodontal y la formación de biopelículas, las cuales facilitan la invasión de la capa mucosa. Asimismo, se ha descrito una asociación entre *T. denticola* y el CCR del subtipo CMS1, vinculado a la vía serrada [246,250]. Además, *T. denticola* parece potenciar la virulencia de *Porphyromonas gingivalis*, con la que mantiene interacciones nutricionales [318,319]. Las especies *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* presentaron una mayor abundancia oral en individuos con SPS en comparación con el grupo control. *Porphyromonas gingivalis* es un bacilo gramnegativo ampliamente reconocido como un agente etiológico de la enfermedad periodontal [320]. Se ha asociado con diversos cánceres digestivos, incluidos el esofágico, gástrico y pancreático [158,170,321,322]. Además, se ha encontrado aumentado tanto a nivel oral como en la microbiota intestinal, en la mucosa y en muestras fecales, en individuos con CCR en comparación con controles sanos, especialmente en el subtipo CMS1 [166,170,246]. Esta bacteria ha sido implicada en procesos oncogénicos a través de distintos mecanismos, incluyendo su capacidad para adherirse e invadir células del huésped, así como la activación de la proliferación celular mediante la vía de señalización MAPK/ERK mediada por gingipaínas [323]. Por su parte, *Prevotella intermedia* ha sido detectada en mayor abundancia a nivel oral en pacientes con CCR comparada con controles sanos [143,144,165,166,168–170]. Esta especie se ha asociado con la enfermedad periodontal y otros procesos de inflamación crónica debido a su capacidad para inducir la producción de mediadores inflamatorios, como interleucina-1β, interleucina-6 y metaloproteinasas de matriz [171]. Además, se ha vinculado con la carcinogénesis, ya que puede suprimir las funciones inmunológicas del huésped y favorecer la transformación maligna de las células epiteliales [160]. Otra bacteria oral que se encontró aumentada en el grupo SPS en comparación con el grupo control fue *Streptococcus anginosus*. Aunque esta especie es considerada un comensal habitual de la cavidad oral y no se incluye entre los periodontopatógenos clásicos, se ha detectado con mayor frecuencia en la saliva de pacientes con periodontitis en comparación con individuos sanos, y sus niveles disminuyen tras el tratamiento periodontal [324]. Además, un estudio ha reportado un incremento de esta bacteria en la cavidad oral de individuos con CCR en comparación con sujetos sanos [164], e incluso se han documentado casos de CCR en pacientes con bacteriemia por

Streptococcus anginosus [325]. *Treponema socranskii* y *Anaeroglobus geminatus*, dos bacterias asociadas a la enfermedad periodontal [326–329], también mostraron una mayor abundancia en el grupo SPS frente al grupo control. Sin embargo, hasta la fecha no se han vinculado con lesiones preneoplásicas ni con CCR. *Peptoanaerobacter stomatis* mostró una mayor abundancia oral en grupo SPS en comparación con los grupos de lesiones serradas y adenomas, con una p sin corregir significativa ($p<0,05$). Sin embargo, estas diferencias no se confirmaron tras la corrección por FDR. Esta bacteria ha sido asociada al CCR del subtipo CMS1 [59,246], así como a la recurrencia de adenomas de extensión lateral tras su resección, y con niveles aumentados de interleucina-6, una citocina inflamatoria clave en el microambiente tumoral del CCR [215]. Por otro lado, *Capnocytophaga gingivalis* mostró una menor abundancia en los individuos con SPS en comparación con el grupo control. Esta bacteria ha sido relacionada con el carcinoma oral [330]. Finalmente, *Fusobacterium periodonticum* presentó una mayor abundancia en el grupo control frente al grupo SPS. Aunque esta especie se ha asociado con la enfermedad periodontal [331], también se ha descrito aumentada en controles sanos en comparación con individuos con CCR, lo que sugiere que podría ejercer un efecto protector frente al desarrollo de CCR [166,168].

A nivel intestinal, el grupo SPS presentó una mayor abundancia de los filos de arqueas *Thermoplasmatota* y *Euryarchaeota*, así como de la especie metanogénica *Methanobrevibacter smithii*, en comparación con el grupo adenoma. Aunque *Euryarchaeota* es el filo de arqueas más común en la microbiota intestinal, su abundancia relativa es muy baja en el contexto global del microbioma intestinal [332]. Tanto *Euryarchaeota* como *Methanobrevibacter smithii* participan en procesos de metanogénesis y, en estudios previos, se ha descrito una menor abundancia de arqueas metanogénicas en individuos con CCR y adenomas en comparación con aquellos con lesiones serradas o sin pólipos [275,332]. El proceso de metanogénesis llevado a cabo por estas arqueas depende principalmente del hidrógeno. La reducción de hidrógeno durante la metanogénesis intestinal disminuye la producción de sulfuro de hidrógeno por bacterias reductoras de sulfato, lo que a su vez reduce el daño potencial a las células epiteliales del colon [333]. Por otro lado, la especie *Roseburia intestinalis* mostró una menor abundancia en el grupo SPS y en el grupo serrado en comparación con el grupo adenoma. Esta bacteria, productora de butirato, posee propiedades antiinflamatorias y moduladoras del sistema inmunológico, y su reducción se ha observado en la microbiota intestinal de pacientes con CCR o adenomas en comparación con controles sanos [216,334]. Se considera que dicha disminución podría favorecer un entorno protumorigénico. Hasta la fecha, *Roseburia intestinalis* no se ha asociado específicamente con lesiones serradas.

Observamos una mayor diferencia taxonómica en la microbiota oral que en la intestinal en los pacientes con SPS en comparación con el resto de grupos. Además, la mayoría de las bacterias orales aumentadas en el grupo SPS están asociadas con la enfermedad periodontal. En cuanto a los antecedentes clínicos, el 34,4% de los individuos con SPS refirió haber presentado enfermedad periodontal a lo largo de su vida, frente al 30,0% en el grupo serrado, el 21,9% en

el grupo adenoma y el 15,6% en el grupo control; sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significación estadística. No obstante, en los individuos con SPS se observó una correlación entre el número de LSS avanzadas y la presencia de signos indirectos de enfermedad periodontal. En particular, aquellos con encías inflamadas o retracción gingival presentaban, en promedio, entre 5 y 6 LSS avanzadas más que quienes no mostraban dichos signos. Cabe destacar que el tabaquismo, un factor asociado al SPS, constituye asimismo un factor de riesgo bien establecido para la progresión de la enfermedad periodontal [335]. Estos hallazgos sugieren que tanto el tabaquismo como la enfermedad periodontal podrían contribuir a la patogenia del síndrome a través de la disbiosis oral.

La enfermedad periodontal es una afección común con una prevalencia estimada entre el 45 y 50% de la población [336]. En sus etapas iniciales, se manifiesta como gingivitis, y si no se trata adecuadamente, puede progresar a periodontitis, una inflamación avanzada que afecta los tejidos de soporte de los dientes. Este proceso ocurre como consecuencia de una disbiosis microbiana y, con el tiempo, puede provocar la destrucción del aparato periodontal y la eventual pérdida de piezas dentales. En las últimas décadas, ha habido un creciente interés en la relación entre la salud bucal y el riesgo de cáncer. Aunque los mecanismos exactos aún no se comprenden completamente, se ha sugerido que la disbiosis del microbioma oral podría desempeñar un papel clave en esta conexión. Se ha planteado la hipótesis de que un desequilibrio en la microbiota oral puede desencadenar inflamación tanto local como sistémica debido a una disfunción en la regulación del sistema inmunológico. Además, la alteración de la comunidad microbiana periodontal podría influir en la microbiota intestinal, generando un entorno inflamatorio que favorecería el desarrollo de colitis y ciertos tipos de cáncer gastrointestinal. Si bien la relación entre la inflamación y la tumorogénesis en el CCR está bien establecida, la evidencia epidemiológica sobre la asociación entre la enfermedad periodontal y la neoplasia colorrectal sigue siendo limitada e inconsistente [337–339]. En un estudio se encontró que el riesgo de desarrollar lesiones serradas y adenomas fue un 17 % y un 11 % mayor, respectivamente, en individuos con enfermedad periodontal en comparación con aquellos sin la enfermedad [340]. Asimismo, aquellos que habían perdido cuatro o más dientes presentaron un 20% más de riesgo de desarrollar lesiones serradas. Estos hallazgos sugieren que los antecedentes de enfermedad periodontal, y posiblemente una mayor pérdida dental, podrían incrementar de manera moderada el riesgo de desarrollar lesiones precursoras de CCR, lo que podría estar relacionado con la microbiota oral.

En el estudio de la microbiota asociada a la enfermedad periodontal, se utiliza una clasificación por complejos de colores para agrupar las especies bacterianas según su papel en la salud y la progresión de la enfermedad periodontal [331]. El complejo rojo se considera el grupo bacteriano más relevante en la progresión de la enfermedad periodontal e incluye especies como *Porphyromonas gingivalis*, *T. denticola* y *Tannerella forsythia* (anteriormente conocida como *Bacteroides forsythias*). Por su parte, el complejo naranja se considera un precursor del complejo rojo en términos de colonización y proliferación, e incluye especies

como *F. nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Parvimonas micra* [331]. Con los avances en las técnicas de identificación taxonómica basadas en biología molecular, se han añadido nuevas especies bacterianas a la lista de posibles patógenos asociados con la periodontitis, como *Treponema socranskii*, *Porphyromonas endodontalis* y *Peptoanaerobacter stomatis* [341,342].

El factor de riesgo más fuertemente asociado con el SPS es el tabaquismo, y en nuestra población se confirmó que la proporción de fumadores activos era mayor en este grupo en comparación con aquellos con adenomas y sin pólipos. El humo del tabaco contiene compuestos tóxicos, como las N-nitrosaminas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos, que bloquean la reparación del ADN, alteran la respuesta inmunitaria oral y pueden iniciar la tumorogénesis [343]. Asimismo, se ha demostrado que el tabaquismo altera el equilibrio de la microbiota oral, provocando la pérdida de especies orales beneficiosas e incrementando la densidad local de patógenos bacterianos [344]. Esta alteración se ha relacionado con el desarrollo de diversas enfermedades, incluidos ciertos tipos de cáncer y la enfermedad periodontal, ambas condiciones íntimamente vinculadas al tabaco. En la enfermedad periodontal, la microflora subgingival de los fumadores presenta una mayor concentración de patógenos y una menor capacidad de recuperación en comparación con la de los no fumadores, lo que complica su tratamiento [344]. Además, se ha evidenciado que los componentes del tabaco potencian la virulencia de ciertos patógenos periodontales, especialmente *Porphyromonas gingivalis* [345]. En presencia de nicotina y otros derivados del tabaco, las proteínas asociadas al estrés oxidativo en *Porphyromonas gingivalis* se expresan en niveles más altos, favoreciendo su adaptación y supervivencia en ambientes con baja disponibilidad de oxígeno y dentro de biopelículas [346]. Estas biopelículas poseen características proinflamatorias y contribuyen a la colonización de otros patógenos orales [347–349]. Una revisión sistemática identificó que los taxones bacterianos más destacados y enriquecidos en fumadores incluyen los filos *Fusobacteria* y *Actinobacteria*, mientras que a nivel de género se observaron aumentos de *Streptococcus*, *Prevotella* y *Veillonella* [345]. Sin embargo, a pesar de que el grupo SPS presentaban mayor proporción de fumadores, en nuestro estudio no pudimos confirmar estas diferencias taxonómicas respecto al resto de grupos.

En nuestra muestra, no se detectaron diferencias en la abundancia de *F. nucleatum* entre los grupos, ni en saliva ni en heces. La ausencia de diferencias entre individuos con lesiones serradas, adenomas y sin pólipos es consistente con otras cohortes [275,350] y podría sugerir que el papel de *F. nucleatum* es más relevante en etapas más avanzadas del CCR. Otra posible explicación radica en la metodología empleada para estudiar la microbiota intestinal, ya que en nuestro estudio se analizaron muestras fecales. Se ha observado un aumento de *F. nucleatum* en lesiones preneoplásicas, especialmente en lesiones serradas, cuando se ha estudiado mediante FISH en tejido colónico. Sin embargo, los estudios que han evaluado la presencia de *F. nucleatum* en individuos con lesiones preneoplásicas colorrectales utilizando muestras fecales han reportado resultados contradictorios. Asimismo, mediante secuenciación por amplicones, no pudimos detectar la presencia de *F. nucleatum* ni otras bacterias intestinales típicamente

asociadas al CCR como *Bacteroides fragilis* enterotoxigénica y *Escherichia coli* productora de colibactina (Clb+). En estudios previos sobre lesiones preneoplásicas en muestras fecales, la prevalencia de estas bacterias ha sido baja [275].

Al inicio de nuestro estudio no se había explorado la microbiota oral e intestinal de los individuos con SPS. Recientemente, se ha publicado un pequeño estudio con 11 individuos que describe únicamente la microbiota intestinal [351]. Los resultados se compararon con individuos con dos o menos pólipos adenomatosos o serrados, con individuos con poliposis adenomatosa con variante patogénica germinal en *APC*, *MUTYH* o *GREM1* y con individuos con poliposis adenomatosa en quienes el estudio genético no evidenció variantes patogénicas germinales. No se observaron diferencias en la diversidad alfa ni beta entre los individuos con SPS y los que no presentaban poliposis. El grupo SPS sí presentó una mayor riqueza en la microbiota estudiada mediante biopsias frente al grupo de poliposis adenomatosa con estudio genético negativo. En relación a la abundancia taxonómica, no se observaron diferencias entre los grupos. La discrepancia con nuestros hallazgos podría explicarse por la distinta caracterización de los grupos de comparación, ya que en el grupo sin poliposis se incluyeron individuos con pólipos adenomatosos y serrados, y no se realizó una comparación con individuos sin pólipos. Además, se trata de un estudio con un tamaño muestral reducido, lo que limita su capacidad para detectar diferencias significativas.

Existen algunas **limitaciones** en nuestro estudio:

- En primer lugar, el diseño transversal del estudio impide establecer relaciones de causalidad entre los cambios de la microbiota y el desarrollo del SPS.

- En segundo lugar, al tratarse de un estudio piloto, el tamaño de la muestra podría no ser suficiente para detectar diferencias sutiles en la composición microbiana. Además, debido a su naturaleza exploratoria, es necesario validar estos resultados en cohortes más amplias.

- Tercero, en este estudio la microbiota intestinal se evaluó a partir de muestras fecales debido a su facilidad de obtención y su carácter no invasivo. Se ha demostrado que la composición de los microorganismos adheridos a la mucosa intestinal difiere de la de aquellos presentes en el lumen y, por ende, en las heces [352–354]. Mientras que los microbios luminales reflejan una visión general del ecosistema intestinal, no proporcionan información detallada sobre la interacción microbiana en la mucosa, donde los microorganismos pueden influir más directamente en la progresión del CCR. Estudios previos han señalado que las comunidades microbianas en contacto con el epitelio intestinal tienen un mayor potencial para modular procesos inflamatorios y neoplásicos. Por lo tanto, el análisis de muestras de tejido podría aportar información más relevante para comprender los mecanismos biológicos subyacentes al SPS.

  Además, se ha reportado que las muestras fecales tienen menor sensibilidad para detectar alteraciones microbianas asociadas a pólipos colorrectales, ya que estos presentan una

disbiosis menos pronunciada en comparación con el CCR. En este sentido, estudios como el de Peters *et al.* han mostrado que los cambios en la microbiota fecal son más evidentes en adenomas avanzados que en los no avanzados [272]. Asimismo, la menor sensibilidad de las muestras fecales para detectar asociaciones microbianas es más marcada en adenomas proximales que en los distales. Esto podría influir en la interpretación de los resultados en pacientes con SPS, dado que las LSS se desarrollan predominantemente en el colon proximal. No obstante, el uso de muestras de mucosa tampoco está exento de limitaciones. La preparación intestinal para la colonoscopia implica una dieta restringida en fibra y el uso de laxantes, lo que puede alterar la estructura y composición del microbioma colónico [277]. Se ha demostrado que una dieta baja en fibra puede modificar la organización de la microbiota intestinal en modelos animales y que los cambios dietéticos pueden alterar la composición microbiana en tan solo 24 horas. Además, el lavado intestinal con agua durante la colonoscopia podría eliminar parcialmente las comunidades microbianas adheridas a la mucosa, afectando la fiabilidad de los análisis.

En el futuro, el estudio de la composición microbiana en muestras de intestino delgado distal y colon proximal, mediante el uso de cápsulas especiales diseñadas para la recolección de muestras en distintos niveles del tracto digestivo, podría proporcionar información de gran interés [355,356].

- Cuarto, si bien la secuenciación de amplicones del 16S rRNA empleada en este trabajo permite identificar la presencia de bacterias en una muestra, presenta la limitación de no ofrecer información detallada sobre las funciones metabólicas específicas de cepas o especies individuales. En contraste, la secuenciación metagenómica tipo *shotgun* posibilita un perfil funcional más completo del microbioma y ha permitido identificar biomarcadores metabólicos en estudios recientes sobre CCR que no se detectan con 16S rRNA. No obstante, consideramos que, a pesar de sus limitaciones, el uso de secuenciación de amplicones del 16S rRNA en este estudio permite caracterizar la microbiota con suficiente detalle y obtener una visión integral de las diferencias en la microbiota oral e intestinal en individuos con SPS.

- Quinto, la evaluación de la salud periodontal se basó en un cuestionario no validado y en la exploración oral de signos de enfermedad periodontal, efectuada por un gastroenterólogo en lugar de un odontólogo, lo que podría limitar la precisión de los hallazgos.

- Finalmente, la composición demográfica de la muestra, mayoritariamente de individuos de ascendencia europea, limita la generalización de los hallazgos a otras poblaciones. Estudios previos han demostrado que la microbiota puede variar en función de los factores genéticos y ambientales, por lo que futuras investigaciones deberían incluir poblaciones más diversas para validar estos resultados en diferentes grupos étnicos.

7. CONCLUSIONES

1. Los pacientes con síndrome de poliposis serrada presentan una posible disbiosis, más evidente a nivel oral que intestinal, caracterizada por diferencias en la composición microbiana que los distinguen de individuos sin pólipos y de aquellos con lesiones serradas y adenomas.
2. La microbiota oral de los pacientes con SPS muestra un aumento de bacterias asociadas a la enfermedad periodontal y previamente relacionadas con el CCR, como *Treponema denticola, Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Estos hallazgos, junto con la alta prevalencia de tabaquismo en este grupo, sugieren que la enfermedad periodontal y el tabaquismo podrían contribuir a la patogenia del SPS a través de la disbiosis oral.
3. Las alteraciones en la microbiota intestinal de los pacientes con SPS son más sutiles y menos consistentes que las observadas a nivel oral, con diferencias limitadas en diversidad y composición bacteriana, lo que sugiere un papel potencialmente secundario de este ecosistema en la disbiosis asociada al síndrome. No obstante, estos resultados deben interpretarse teniendo en cuenta que la evaluación se realizó a partir de muestras fecales, que podrían no reflejar completamente la microbiota asociada a la mucosa colónica.
4. No se observó una mayor transmisión directa de bacterias orales hacia la microbiota intestinal en pacientes con SPS; sin embargo, se identificaron correlaciones específicas entre especies orales e intestinales, lo que sugiere posibles interacciones indirectas entre ambos ecosistemas microbianos.
5. En conjunto, estos resultados apoyan la hipótesis de que la disbiosis oral, potencialmente modulada por factores como el tabaquismo y la enfermedad periodontal, podría desempeñar un papel en las fases iniciales de la carcinogénesis en el SPS.

.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudio constituye una prueba de concepto sobre el potencial papel de la microbiota, especialmente la oral, en la etiopatogenia del SPS. Nuestros hallazgos sugieren que el tabaquismo y la enfermedad periodontal podrían contribuir a la carcinogénesis serrada a través de su impacto sobre la microbiota oral, la cual podría, además, representar un biomarcador no invasivo con potencial utilidad diagnóstica en este contexto.

La validación de estos resultados en cohortes independientes de mayor tamaño será un paso fundamental para confirmar la reproducibilidad de los hallazgos y caracterizar con mayor precisión las alteraciones microbianas asociadas al SPS. Asimismo, será necesario profundizar en la caracterización clínica de estos pacientes mediante la evaluación sistemática de la enfermedad periodontal, idealmente mediante exploración odontológica estandarizada y el uso de escalas validadas, con el fin de establecer asociaciones más robustas entre el estado periodontal y la microbiota oral.

Futuros estudios deberían incorporar el análisis de la microbiota asociada a la mucosa colorrectal, especialmente en el colon proximal, donde se desarrollan predominantemente las lesiones serradas. Esto permitiría identificar con mayor precisión las comunidades microbianas en contacto directo con el epitelio y su posible implicación en la formación de biopelículas y en los procesos iniciales de la carcinogénesis. Además, el estudio de la microbiota mucosa podría ayudar a confirmar si determinadas bacterias patogénicas orales son capaces de colonizar de forma estable la mucosa colónica en pacientes con SPS y esclarecer si existe una mayor transmisión oral-intestinal de estos microorganismos en comparación con otros grupos. En este sentido, el uso de tecnologías emergentes, como cápsulas endoscópicas para la recogida segmentaria de muestras intestinales, podría proporcionar información más detallada sobre la distribución espacial del microbioma a lo largo del tracto digestivo.

Además, la aplicación de técnicas de secuenciación metagenómica tipo *shotgun* y estudios metabolómicos permitirá avanzar en la caracterización funcional del microbioma, identificando rutas metabólicas, metabolitos y mecanismos moleculares implicados en la interacción huésped-microbiota. Este enfoque podría facilitar la identificación de biomarcadores funcionales asociados al SPS y aportar información clave sobre los mecanismos biológicos subyacentes que no pueden ser captados mediante secuenciación de amplicones del 16S rRNA.

Desde una perspectiva clínica, será de gran interés evaluar si la modulación de la microbiota oral e intestinal mediante intervenciones dietéticas, prebióticos o probióticos puede influir en la evolución del SPS. Asimismo, el tratamiento de la enfermedad periodontal podría representar una estrategia preventiva potencial frente al desarrollo de lesiones serradas, si bien esta hipótesis deberá ser confirmada en estudios prospectivos específicos. Del mismo modo, dado que el tabaquismo constituye el principal factor de riesgo modificable asociado al SPS, sería relevante investigar si la abstinencia tabáquica es capaz de revertir parcialmente las alteraciones de la microbiota oral e intestinal observadas en estos pacientes y si ello podría

influir en la aparición o progresión de nuevas lesiones serradas. En la actualidad, la principal intervención disponible en el SPS continúa siendo la vigilancia endoscópica con resección de las lesiones colorrectales, por lo que identificar estrategias preventivas complementarias dirigidas a factores modificables y al microbioma podría tener un importante impacto clínico.

Por otro lado, dado que los familiares de primer grado de los pacientes con SPS presentan un mayor riesgo de CCR y que hasta la fecha no se ha identificado una causa genética que explique la mayoría de los casos, futuros estudios deberían evaluar la composición de la microbiota oral e intestinal en estos familiares. Este enfoque permitiría determinar si existen firmas microbianas compartidas con los pacientes con SPS y explorar si la disbiosis oral observada podría estar relacionada con la agregación familiar del riesgo.

Finalmente, los estudios longitudinales serán fundamentales para determinar la secuencia temporal de los cambios en la microbiota y esclarecer si las alteraciones observadas preceden al desarrollo del SPS o si, por el contrario, constituyen una consecuencia del mismo. Este tipo de estudios permitirá, además, evaluar el valor predictivo de la microbiota como herramienta de estratificación del riesgo, así como su posible integración en programas de cribado y seguimiento personalizados en pacientes con riesgo elevado de desarrollar CCR.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2024;74(3):229-63.

2. Estimaciones de la incidencia del cáncer en España, 2025. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), 2025.

3. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N Engl J Med 2000;343(2):78-85.

4. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2019;16(12):713-32.

5. Binefa G, Rodríguez-Moranta F, Teule A, Medina-Hayas M. Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. World J Gastroenterol 2014;20(22):6786-808.

6. Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, et al. Colorectal cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin 2020;70(3):145-64.

7. Cubiella J, Marzo-Castillejo M, Mascort-Roca JJ, Amador-Romero FJ, Bellas-Beceiro B, Clofent-Vilaplana J, et al. Clinical practice guideline. Diagnosis and prevention of colorectal cancer. 2018 Update. Gastroenterol Hepatol 2018;41(9):585-96.

8. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Eheman C, Zauber AG, Anderson RN, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. Cancer 2010;116(3):544-73.

9. Bufill JA. Colorectal cancer: evidence for distinct genetic categories based on proximal or distal tumor location. Ann Intern Med 1990;113(10):779-88.

10. Bosman F, Carneiro F, Hruban R, Theise N. Digestive System Tumours. WHO classification of tumours of the digestive system. 5th edition. 2019.

11. Zhao M, Jacobs JP. Fecal matters: Microbial signatures distinguish clinically relevant subtypes of precancerous colorectal polyps. Cell Host Microbe 2023;31(5):692-4.

12. Galuppini F, Fassan M, Mastracci L, Gafà R, Lo Mele M, Lazzi S, et al. The histomorphological and molecular landscape of colorectal adenomas and serrated lesions. Pathologica 2021;113(3):218-29.

13. Strum WB. Colorectal Adenomas. N Engl J Med 2016;374(11):1065-75.

14. East JE, Atkin WS, Bateman AC, Clark SK, Dolwani S, Ket SN, et al. British Society of Gastroenterology position statement on serrated polyps in the colon and rectum. Gut 2017;66(7):1181-96.

15. Lane N. The precursor tissue of ordinary large bowel cancer. Cancer Res 1976;36(7 PT 2):2669-72.

16. Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. Histopathology 2013;62(3):367-86.

17. Bailie L, Loughrey MB, Coleman HG. Lifestyle Risk Factors for Serrated Colorectal Polyps: A Systematic Review and Meta-analysis. Gastroenterology 2017;152(1):92-104.

18. He X, Wu K, Ogino S, Giovannucci EL, Chan AT, Song M. Association Between Risk Factors for Colorectal Cancer and Risk of Serrated Polyps and Conventional Adenomas. Gastroenterology 2018;155(2):355-373.e18.

19. Davenport JR, Su T, Zhao Z, Coleman HG, Smalley WE, Ness RM, et al. Modifiable lifestyle factors associated with risk of sessile serrated polyps, conventional adenomas and hyperplastic polyps. Gut 2018;67(3):456-65.

20. Crockett SD, Nagtegaal ID. Terminology, Molecular Features, Epidemiology, and Management of Serrated Colorectal Neoplasia. Gastroenterology 2019;157(4):949-966. e4.

21. Hasegawa S, Mitsuyama K, Kawano H, Arita K, Maeyama Y, Akagi Y, et al. Endoscopic discrimination of sessile serrated adenomas from other serrated lesions. Oncol Lett 2011;2(5):785-9.

22. Kim KM, Lee EJ, Ha S, Kang SY, Jang KT, Park CK, et al. Molecular features of colorectal hyperplastic polyps and sessile serrated adenoma/polyps from Korea. Am J Surg Pathol 2011;35(9):1274-86.

23. Bateman AC, Shepherd NA. UK guidance for the pathological reporting of serrated lesions of the colorectum. J Clin Pathol 2015;68(8):585-91.

24. Meester RGS, van Herk MMAGC, Lansdorp-Vogelaar I, Ladabaum U. Prevalence and Clinical Features of Sessile Serrated Polyps: A Systematic Review. Gastroenterology 2020;159(1):105-118.e25.

25. Yang JF, Tang SJ, Lash RH, Wu R, Yang Q. Anatomic distribution of sessile serrated adenoma/polyp with and without cytologic dysplasia. Arch Pathol Lab Med 2015;139(3):388-93.

26. Abdeljawad K, Vemulapalli KC, Kahi CJ, Cummings OW, Snover DC, Rex DK. Sessile serrated polyp prevalence determined by a colonoscopist with a high lesion detection rate and an experienced pathologist. Gastrointest Endosc 2015;81(3):517-24.

27. Satorres C, García-Campos M, Bustamante-Balén M. Molecular Features of the Serrated Pathway to Colorectal Cancer: Current Knowledge and Future Directions. Gut Liver 2021;15(1):31-43.

28. Ibáñez-Sanz G, Sanz-Pamplona R, Garcia M, On Behalf Of The Msic-Sc Research Group null. Future Prospects of Colorectal Cancer Screening: Characterizing Interval Cancers. Cancers 2021;13(6):1328.

29. Herreros de Tejada A, González-Lois C, Santiago J. Serrated lesions and serrated polyposis syndrome. Rev Esp Enferm Dig 2017;109(7):516-26.

30. Kim YH, Kakar S, Cun L, Deng G, Kim YS. Distinct CpG island methylation profiles and BRAF mutation status in serrated and adenomatous colorectal polyps. Int J Cancer 2008;123(11):2587-93.

31. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96(15):8681-6.

32. Mangas-Sanjuan C, Jover R, Cubiella J, Marzo-Castillejo M, Balaguer F, Bessa X, et al.

Endoscopic surveillance after colonic polyps and colorrectal cancer resection. 2018 update. Gastroenterol Hepatol 2019;42(3):188-201.

33. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. Histopathology 2020;76(2):182-8.

34. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. Gastroenterology 2010;138(6):2059-72.

35. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990;61(5):759-67.

36. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. J Med Genet 2012;49(3):151-7.

37. Taieb J, Svrcek M, Cohen R, Basile D, Tougeron D, Phelip JM. Deficient mismatch repair/microsatellite unstable colorectal cancer: Diagnosis, prognosis and treatment. Eur J Cancer Oxf Engl 1990 2022;175:136-57.

38. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. N Engl J Med 2015;372(26):2509-20.

39. Dang Q, Zuo L, Hu X, Zhou Z, Chen S, Liu S, et al. Molecular subtypes of colorectal cancer in the era of precision oncotherapy: Current inspirations and future challenges. Cancer Med 2024;13(14):e70041.

40. Juo YY, Johnston FM, Zhang DY, Juo HH, Wang H, Pappou EP, et al. Prognostic value of CpG island methylator phenotype among colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2014;25(12):2314-27.

41. Ogino S, Odze RD, Kawasaki T, Brahmandam M, Kirkner GJ, Laird PW, et al. Correlation of pathologic features with CpG island methylator phenotype (CIMP) by quantitative DNA methylation analysis in colorectal carcinoma. Am J Surg Pathol 2006;30(9):1175-83.

42. Weisenberger DJ, Liang G, Lenz HJ. DNA methylation aberrancies delineate clinically distinct subsets of colorectal cancer and provide novel targets for epigenetic therapies. Oncogene 2018;37(5):566-77.

43. Zhang B, Yao K, Zhou E, Zhang L, Cheng C. Chr20q Amplification Defines a Distinct Molecular Subtype of Microsatellite Stable Colorectal Cancer. Cancer Res 2021;81(8):1977-87.

44. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. Lancet Lond Engl 2019;394(10207):1467-80.

45. Gharib E, Robichaud GA. From Crypts to Cancer: A Holistic Perspective on Colorectal Carcinogenesis and Therapeutic Strategies. Int J Mol Sci 2024;25(17):9463.

46. 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.

47. O'Brien MJ, Zhao Q, Yang S. Colorectal serrated pathway cancers and precursors. Histopathology 2015;66(1):49-65.

48. Noffsinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. Annu Rev Pathol 2009;4:343-64.

49. Kang X, Zhang R, Kwong TN, Lui RN, Wu WK, Sung JJ, et al. Serrated neoplasia in the colorectum: gut microbiota and molecular pathways. Gut Microbes 2021;13(1):1-12.

50. Budinska E, Popovici V, Tejpar S, D'Ario G, Lapique N, Sikora KO, et al. Gene expression patterns unveil a new level of molecular heterogeneity in colorectal cancer. J Pathol 2013;231(1):63-76.

51. Roepman P, Schlicker A, Tabernero J, Majewski I, Tian S, Moreno V, et al. Colorectal cancer intrinsic subtypes predict chemotherapy benefit, deficient mismatch repair and epithelial-to-mesenchymal transition. Int J Cancer 2014;134(3):552-62.

52. Schlicker A, Beran G, Chresta CM, McWalter G, Pritchard A, Weston S, et al. Subtypes of primary colorectal tumors correlate with response to targeted treatment in colorectal cell lines. BMC Med Genomics 2012;5:66.

53. Sadanandam A, Lyssiotis CA, Homicsko K, Collisson EA, Gibb WJ, Wullschleger S, et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. Nat Med 2013;19(5):619-25.

54. De Sousa E Melo F, Wang X, Jansen M, Fessler E, Trinh A, de Rooij LPMH, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. Nat Med 2013;19(5):614-8.

55. Marisa L, de Reyniès A, Duval A, Selves J, Gaub MP, Vescovo L, et al. Gene expression classification of colon cancer into molecular subtypes: characterization, validation, and prognostic value. PLoS Med 2013;10(5):e1001453.

56. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. Nature 2012;487(7407):330-7.

57. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nat Med 2015;21(11):1350-6.

58. Fessler E, Drost J, van Hooff SR, Linnekamp JF, Wang X, Jansen M, et al. TGFβ signaling directs serrated adenomas to the mesenchymal colorectal cancer subtype. EMBO Mol Med 2016;8(7):745-60.

59. Chang K, Willis JA, Reumers J, Taggart MW, San Lucas FA, Thirumurthi S, et al. Colorectal premalignancy is associated with consensus molecular subtypes 1 and 2. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2018;29(10):2061-7.

60. Fessler E, Medema JP. Colorectal Cancer Subtypes: Developmental Origin and Microenvironmental Regulation. Trends Cancer 2016;2(9):505-18.

61. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes. J Natl Compr Cancer Netw JNCCN 2017;15(3):411-9.

62. Cardoso R, Guo F, Heisser T, Hackl M, Ihle P, De Schutter H, et al. Colorectal cancer incidence, mortality, and stage distribution in European countries in the colorectal cancer screening era: an international population-based study. Lancet Oncol 2021;22(7):1002-13.

63. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. N Engl J Med 1993;329(27):1977-81.

64. Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Hankey BF, et al. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. N Engl J Med 2012;366(8):687-96.

65. Cortés Ugalde F, Artal Moneva F, Garcés Tapia A, Izcara Domingo J, Lacasa Serrano E, Zubiri Sáenz F. [Colorectal cancer: detection using the guaiac test at a primary care center]. Med Clin (Barc) 1992;98(9):325-8.

66. Red de Programas de Cribado de Cáncer [Internet]. Red de Programas de Cribado de Cáncer; 2024 [consultado 12 Dic 2024]. Disponible en: https://cribadocancer.es/.

67. Muller C, Yamada A, Ikegami S, Haider H, Komaki Y, Komaki F, et al. Risk of Colorectal Cancer in Serrated Polyposis Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc 2022;20(3):622-630.e7.

68. IJspeert JEG, Bevan R, Senore C, Kaminski MF, Kuipers EJ, Mroz A, et al. Detection rate of serrated polyps and serrated polyposis syndrome in colorectal cancer screening cohorts: a European overview. Gut 2017;66(7):1225-32.

69. van Herwaarden YJ, Pape S, Vink-Börger E, Dura P, Nagengast FM, Epping LSM, et al. Reasons why the diagnosis of serrated polyposis syndrome is missed. Eur J Gastroenterol Hepatol 2019;31(3):340-4.

70. Rivero-Sanchez L, Lopez-Ceron M, Carballal S, Moreira L, Bessa X, Serradesanferm A, et al. Reassessment colonoscopy to diagnose serrated polyposis syndrome in a colorectal cancer screening population. Endoscopy 2017;49(1):44-53.

71. Dierick NR, Nicholson BD, Fanshawe TR, Sundaralingam P, Kostalas SN. Serrated polyposis syndrome: defining the epidemiology and predicting the risk of dysplasia. BMC Gastroenterol 2024;24(1):167.

72. IJspeert JEG, Rana S a. Q, Atkinson NSS, van Herwaarden YJ, Bastiaansen B a. J, van Leerdam ME, et al. Clinical risk factors of colorectal cancer in patients with serrated polyposis syndrome: a multicentre cohort analysis. Gut 2017;66(2):278-84.

73. Carballal S, Rodríguez-Alcalde D, Moreira L, Hernández L, Rodríguez L, Rodríguez-Moranta F, et al. Colorectal cancer risk factors in patients with serrated polyposis syndrome: a large multicentre study. Gut 2016;65(11):1829-37.

74. Kalady MF, Jarrar A, Leach B, LaGuardia L, O'Malley M, Eng C, et al. Defining phenotypes and cancer risk in hyperplastic polyposis syndrome. Dis Colon Rectum 2011;54(2):164-70.

75. Boparai KS, Mathus-Vliegen EMH, Koornstra JJ, Nagengast FM, Leerdam M van, Noesel CJM van, et al. Increased colorectal cancer risk during follow-up in patients with hyperplastic polyposis syndrome: a multicentre cohort study. Gut 2010;59(8):1094-100.

76. Dekker E, Bleijenberg A, Balaguer F, Dekker E, IJspeert JEG, Bleijenberg AGC, et al. Update on the World Health Organization Criteria for Diagnosis of Serrated Polyposis Syndrome. Gastroenterology 2020;158(6):1520-3.

77. Snover D, Ahnen D, Burt R, Odze RD. Serrated Polyps of the Colon and Rectum and Serrated Polyposis. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System. 4th ed. Lyon, France: IARC; 2010.

78. IJspeert JEG, Bossuyt PM, Kuipers EJ, Stegeman I, Wijkerslooth TR de, Stoop EM, et al. Smoking status informs about the risk of advanced serrated polyps in a screening population. Endosc Int Open 2015;04:E73-8.

79. Figueiredo JC, Crockett SD, Snover DC, Morris CB, McKeown-Eyssen G, Sandler RS, et al. Smoking-associated risks of conventional adenomas and serrated polyps in the colorectum. Cancer Causes Control 2015;26(3):377-86.

80. Carballal S, Balaguer F, IJspeert JEG. Serrated polyposis syndrome; epidemiology and management. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2022;58-59:101791.

81. Buchanan DD, Sweet K, Drini M, Jenkins MA, Win AK, English DR, et al. Risk Factors for Colorectal Cancer in Patients with Multiple Serrated Polyps: A Cross-Sectional Case Series from Genetics Clinics. PloS One 2010;5(7):e11636.

82. Biller LH, Ukaegbu C, Dhingra TG, Burke CA, Chertock Y, Chittenden A, et al. A Multi-Institutional Cohort of Therapy-Associated Polyposis in Childhood and Young Adulthood Cancer Survivors. Cancer Prev Res Phila Pa 2020;13(3):291-8.

83. Rigter LS, Spaander MCW, Aleman BMP, Bisseling TM, Moons LM, Cats A, et al. High prevalence of advanced colorectal neoplasia and serrated polyposis syndrome in Hodgkin lymphoma survivors. Cancer 2019;125(6):990-9.

84. Valle L, Vilar E, Tavtigian SV, Stoffel EM. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. J Pathol 2019;247(5):574-88.

85. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW, et al. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. Am J Gastroenterol 2015;110(2):223-62; quiz 263.

86. Gala MK, Mizukami Y, Le LP, Moriichi K, Austin T, Yamamoto M, et al. Germline mutations in oncogene-induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. Gastroenterology 2014;146(2):520-9.

87. Yan HHN, Lai JCW, Ho SL, Leung WK, Law WL, Lee JFY, et al. RNF43 germline and somatic mutation in serrated neoplasia pathway and its association with BRAF mutation. Gut 2017;66(9):1645-56.

88. Carballal S, Balaguer F, Bujanda L, Capellá G, González Santiago S, Jover R, et al. Use of multi-gene panels in patients at high risk of hereditary digestive cancer: position statement of AEG, SEOM, AEGH and IMPaCT-GENÓMICA consortium. Gastroenterol Hepatol 2024;47(3):293-318.

89. Rubio CA, Stemme S, Jaramillo E, Lindblom A. Hyperplastic polyposis coli syndrome and colorectal carcinoma. Endoscopy 2006;38(3):266-70.

90. Egoavil C, Juárez M, Guarinos C, Rodríguez-Soler M, Hernández-Illán E, Alenda C, et al. Increased Risk of Colorectal Cancer in Patients With Multiple Serrated Polyps and Their First-Degree Relatives. Gastroenterology 2017;153(1):106-112.e2.

91. Rodríguez-Alcalde D, Carballal S, Moreira L, Hernández L, Rodríguez-Alonso L, Rodríguez-Moranta F, et al. High incidence of advanced colorectal neoplasia during endoscopic surveillance in serrated polyposis syndrome. Endoscopy 2019;51(2):142-51.

92. Guarinos C, Sánchez-Fortún C, Rodríguez-Soler M, Pérez-Carbonell L, Egoavil C, Juárez M, et al. Clinical subtypes and molecular characteristics of serrated polyposis syndrome. Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc 2013;11(6):705-11; quiz e46.

93. van Toledo DEFWM, IJspeert JEG, Boersma H, Musler AR, Bleijenberg AGC, Dekker E, et al. Polyps and Colorectal Cancer in Serrated Polyposis Syndrome: Contribution of the Classical Adenoma-Carcinoma and Serrated Neoplasia Pathways. Clin Transl Gastroenterol 2023;14(8):e00611.

94. Hazewinkel Y, Koornstra JJ, Boparai KS, van Os TAM, Tytgat KMAJ, Van Eeden S, et al. Yield of screening colonoscopy in first-degree relatives of patients with serrated polyposis syndrome. J Clin Gastroenterol 2015;49(5):407-12.

95. Oquiñena S, Guerra A, Pueyo A, Eguaras J, Montes M, Razquin S, et al. Serrated polyposis: prospective study of first-degree relatives. Eur J Gastroenterol Hepatol 2013;25(1):28-32.

96. van Leerdam ME, Roos VH, van Hooft JE, Dekker E, Jover R, Kaminski MF, et al. Endoscopic management of polyposis syndromes: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. Endoscopy 2019;51(9):877-95.

97. MacPhail ME, Thygesen SB, Patel N, Broadley HM, Rex DK. Endoscopic control of polyp burden and expansion of surveillance intervals in serrated polyposis syndrome. Gastrointest Endosc 2019;90(1):96-100.

98. del Campo-Moreno R, Alarcón-Cavero T, D'Auria G, Delgado-Palacio S, Ferrer-Martínez M. Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica 2018;36(4):241-5.

99. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol 2016;14(8):e1002533.

100. Chikina A, Matic Vignjevic D. At the right time in the right place: How do luminal gradients position the microbiota along the gut? Cells Dev 2021;168:203712.

101. Requena T, Velasco M. Microbioma humano en la salud y la enfermedad. Rev Clínica Esp 2021;221(4):233-40.

102. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. Nat Rev Microbiol 2016;14(1):20-32.

103. Rojo D, Méndez-García C, Raczkowska BA, Bargiela R, Moya A, Ferrer M, et al. Exploring the human microbiome from multiple perspectives: factors altering its composition and function. FEMS Microbiol Rev 2017;41(4):453-78.

104. Metchnikoff, E. & Mitchell, P. C. The prolongation of life; optimistic studies (W. Heinemann, London; G. P. Putnam's Sons, New York, 1907).

105. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. Cell Microbiol 2014;16(7):1024-33.

106. Rapozo DCM, Bernardazzi C, de Souza HSP. Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony. World J Gastroenterol 2017;23(12):2124-40.

107. Caruso R, Lo BC, Núñez G. Host-microbiota interactions in inflammatory bowel disease. Nat Rev Immunol 2020;20(7):411-26.

108. Huycke MM, Gaskins HR. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. Exp Biol Med Maywood NJ 2004;229(7):586-97.

109. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102(31):11070-5.

110. Scott FW. Food-induced type 1 diabetes in the BB rat. Diabetes Metab Rev 1996;12(4):341-59.

111. Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012;9(6):312-22.

112. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005;308(5728):1635-8.

113. Tringe SG, Hugenholtz P. A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. Curr Opin Microbiol 2008;11(5):442-6.

114. Zhang J, Ding X, Guan R, Zhu C, Xu C, Zhu B, et al. Evaluation of different 16S rRNA gene V regions for exploring bacterial diversity in a eutrophic freshwater lake. Sci Total Environ 2018;618:1254-67.

115. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A 1977;74(12):5463-7.

116. Rogers YH, Venter JC. Genomics: massively parallel sequencing. Nature 2005;437(7057):326-7.

117. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N, Rojas M, Brodie EL, Keller K, et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. Appl Environ Microbiol 2006;72(7):5069-72.

118. Cole JR, Wang Q, Cardenas E, Fish J, Chai B, Farris RJ, et al. The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. Nucleic Acids Res 2009;37:D141-145.

119. Pruesse E, Quast C, Knittel K, Fuchs BM, Ludwig W, Peplies J, et al. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. Nucleic Acids Res 2007;35(21):7188-96.

120. Schloss PD. The effects of alignment quality, distance calculation method, sequence filtering, and region on the analysis of 16S rRNA gene-based studies. PLoS Comput Biol 2010;6(7):e1000844.

121. Morgan XC, Huttenhower C. Chapter 12: Human microbiome analysis. PLoS Comput Biol 2012;8(12):e1002808.

122. Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. ISME J 2017;11(12):2639-43.

123. Chao A, Chazdon RL, Colwell RK, Shen TJ. Abundance-based similarity indices and their estimation when there are unseen species in samples. Biometrics 2006;62(2):361-71.

124. Shannon CE. A Mathematical Theory of Communication. Bell Syst Tech J 1948;27(3):379-423.

125. Simpson EH. Measurement of Diversity. Nature 1949;163(4148):688-688.

126. Bray JR, Curtis JT. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. Ecol Monogr 1957;27(4):325-49.

127. Lozupone C, Knight R. UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. Appl Environ Microbiol 2005;71(12):8228-35.

128. Hamady M, Lozupone C, Knight R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. ISME J 2010;4(1):17-27.

129. Lozupone CA, Knight R. Global patterns in bacterial diversity. Proc Natl Acad Sci U S A 2007;104(27):11436-40.

130. Herramientas para el estudio de la microbiota y aplicaciones terapéuticas basadas en su modulación [Internet]. [citado 2024 may 20];Available from: https://docta.ucm.es/bitstreams/a7e14136-3b11-4b60-bc6b-06be09097a8d/download

131. De Vos WM. Mining the microbes--the human microbiome as model. Microb Biotechnol 2009;2(2):153-4.

132. Zhang X, Li L, Butcher J, Stintzi A, Figeys D. Advancing functional and translational microbiome research using meta-omics approaches. Microbiome 2019;7(1):154.

133. Navas-Molina JA, Peralta-Sánchez JM, González A, McMurdie PJ, Vázquez-Baeza Y, Xu Z, et al. Advancing our understanding of the human microbiome using QIIME. Methods Enzymol 2013;531:371-444.

134. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat Methods 2016;13(7):581-3.

135. Dong X, Kleiner M, Sharp CE, Thorson E, Li C, Liu D, et al. Fast and Simple Analysis of MiSeq Amplicon Sequencing Data with MetaAmp. Front Microbiol 2017;8:1461.

136. Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. Br Dent J 2016;221(10):657-66.

137. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. Periodontol 2000 2021;87(1):107-31.

138. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. J Am Dent Assoc 1939 2008;139 Suppl:18S-24S.

139. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The human oral microbiome. J Bacteriol 2010;192(19):5002-17.

140. Park SY, Hwang BO, Lim M, Ok SH, Lee SK, Chun KS, et al. Oral-Gut Microbiome Axis in Gastrointestinal Disease and Cancer. Cancers 2021;13(9):2124.

141. Camañes-Gonzalvo S, Montiel-Company JM, Lobo-de-Mena M, Safont-Aguilera MJ, Fernández-Diaz A, López-Roldán A, et al. Relationship between oral microbiota and colorectal cancer: A systematic review. J Periodontal Res 2024;59(6):1071-82.

142. Yamamura K, Baba Y, Miyake K, Nakamura K, Shigaki H, Mima K, et al. Fusobacterium nucleatum in gastroenterological cancer: Evaluation of measurement methods using quantitative polymerase chain reaction and a literature review. Oncol Lett 2017;14(6):6373-8.

143. Flemer B, Warren RD, Barrett MP, Cisek K, Das A, Jeffery IB, et al. The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive. Gut 2018;67(8):1454-63.

144. Yang Y, Cai Q, Shu XO, Steinwandel MD, Blot WJ, Zheng W, et al. Prospective study of oral microbiome and colorectal cancer risk in low-income and African American populations. Int J Cancer 2019;144(10):2381-9.

145. Jo R, Nishimoto Y, Umezawa K, Yama K, Aita Y, Ichiba Y, et al. Comparison of oral microbiome profiles in stimulated and unstimulated saliva, tongue, and mouth-rinsed water. Sci Rep 2019;9(1):16124.

146. Kawasaki M, Ikeda Y, Ikeda E, Takahashi M, Tanaka D, Nakajima Y, et al. Oral infectious bacteria in dental plaque and saliva as risk factors in patients with esophageal cancer. Cancer 2021;127(4):512-9.

147. Hu S, Png E, Gowans M, Ong DEH, de Sessions PF, Song J, et al. Ectopic gut colonization: a metagenomic study of the oral and gut microbiome in Crohn's disease. Gut Pathog 2021;13:13.

148. Read E, Curtis MA, Neves JF. The role of oral bacteria in inflammatory bowel disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2021;18(10):731-42.

149. Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. Nature 2014;513(7516):59-64.

150. Farin W, Oñate FP, Plassais J, Bonny C, Beglinger C, Woelnerhanssen B, et al. Impact of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy on gut microbiota: a metagenomic comparative analysis. Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg 2020;16(7):852-62.

151. Schmidt TS, Hayward MR, Coelho LP, Li SS, Costea PI, Voigt AY, et al. Extensive transmission of microbes along the gastrointestinal tract. eLife 2019;8:e42693.

152. Flynn KJ, Baxter NT, Schloss PD. Metabolic and Community Synergy of Oral Bacteria in Colorectal Cancer. mSphere 2016;1(3):e00102-16.

153. Howden CW, Hunt RH. Relationship between gastric secretion and infection. Gut 1987;28(1):96-107.

154. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, Bajaj JS. Bile acids and the gut microbiome. Curr Opin Gastroenterol 2014;30(3):332-8.

155. Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, Fu J, Mujagic Z, Vork L, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. Gut 2016;65(5):740-8.

156. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. Adv Exp Med Biol 1999;473:11-30.

157. DeDecker L, Coppedge B, Avelar-Barragan J, Karnes W, Whiteson K. Microbiome distinctions between the CRC carcinogenic pathways. Gut Microbes 2021;13(1):1854641.

158. Baima G, Ribaldone DG, Romano F, Aimetti M, Romandini M. The Gum-Gut Axis: Periodontitis and the Risk of Gastrointestinal Cancers. Cancers 2023;15(18):4594.

159. Lourenço TGB, de Oliveira AM, Tsute Chen G, Colombo APV. Oral-gut bacterial profiles discriminate between periodontal health and diseases. J Periodontal Res 2022;57(6):1227-37.

160. Reitano E, de'Angelis N, Gavriilidis P, Gaiani F, Memeo R, Inchingolo R, et al. Oral Bacterial Microbiota in Digestive Cancer Patients: A Systematic Review. Microorganisms 2021;9(12):2585.

161. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S, Romano A, Lombardi T, Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. Int J Mol Sci 2022;23(9):5142.

162. Zaura E, Brandt BW, Teixeira de Mattos MJ, Buijs MJ, Caspers MPM, Rashid MU, et al. Same Exposure but Two Radically Different Responses to Antibiotics: Resilience of the Salivary Microbiome versus Long-Term Microbial Shifts in Feces. mBio 2015;6(6):e01693-01615.

163. Kato I, Vasquez AA, Moyerbrailean G, Land S, Sun J, Lin HS, et al. Oral microbiome and history of smoking and colorectal cancer. J Epidemiol Res 2016;2(2):92-101.

164. Uchino Y, Goto Y, Konishi Y, Tanabe K, Toda H, Wada M, et al. Colorectal Cancer Patients Have Four Specific Bacterial Species in Oral and Gut Microbiota in Common-A Metagenomic Comparison with Healthy Subjects. Cancers 2021;13(13):3332.

165. Guven DC, Dizdar O, Alp A, Akdoğan Kittana FN, Karakoc D, Hamaloglu E, et al. Analysis of Fusobacterium nucleatum and Streptococcus gallolyticus in saliva of colorectal cancer patients. Biomark Med 2019;13(9):725-35.

166. Wang Y, Zhang Y, Qian Y, Xie YH, Jiang SS, Kang ZR, et al. Alterations in the oral and gut microbiome of colorectal cancer patients and association with host clinical factors. Int J Cancer 2021;149(4):925-35.

167. Zhang C, Hu A, Li J, Zhang F, Zhong P, Li Y, et al. Combined Non-Invasive Prediction and New Biomarkers of Oral and Fecal Microbiota in Patients With Gastric and Colorectal Cancer. Front Cell Infect Microbiol 2022;12:830684.

168. Han S, Yang X, Qi Q, Pan Y, Chen Y, Shen J, et al. Potential screening and early diagnosis method for cancer: Tongue diagnosis. Int J Oncol 2016;48(6):2257-64.

169. Zhang S, Kong C, Yang Y, Cai S, Li X, Cai G, et al. Human oral microbiome dysbiosis as a novel non-invasive biomarker in detection of colorectal cancer. Theranostics 2020;10(25):11595-606.

170. Kageyama S, Takeshita T, Takeuchi K, Asakawa M, Matsumi R, Furuta M, et al. Characteristics of the Salivary Microbiota in Patients With Various Digestive Tract Cancers. Front Microbiol 2019;10:1780.

171. Cardoso EM, Reis C, Manzanares-Céspedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. Postgrad Med 2018;130(1):98-104.

172. Moritani K, Takeshita T, Shibata Y, Ninomiya T, Kiyohara Y, Yamashita Y. Acetaldehyde production by major oral microbes. Oral Dis 2015;21(6):748-54.

173. Rezasoltani S, Aghdaei HA, Jasemi S, Gazouli M, Dovrolis N, Sadeghi A, et al. Oral Microbiota as Novel Biomarkers for Colorectal Cancer Screening. Cancers 2022;15(1):192.

174. Idrissi Janati A, Karp I, Von Renteln D, Bouin M, Liu Y, Tran SD, et al. Investigation of Fusobacterium Nucleatum in saliva and colorectal mucosa: a pilot study. Sci Rep 2022;12(1):5622.

175. Komiya Y, Shimomura Y, Higurashi T, Sugi Y, Arimoto J, Umezawa S, et al. Patients with colorectal cancer have identical strains of Fusobacterium nucleatum in their colorectal cancer and oral cavity. Gut 2019;68(7):1335-7.

176. Khan ST, Ahamed M, Musarrat J, Al-Khedhairy AA. Anti-biofilm and antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against the oral opportunistic pathogens Rothia dentocariosa and Rothia mucilaginosa. Eur J Oral Sci 2014;122(6):397-403.

177. Zhang F, He S, Jin J, Dong G, Wu H. Exploring salivary microbiota in AIDS patients with different periodontal statuses using 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing. Front Cell Infect Microbiol 2015;5:55.

178. Frank SA. Genetic predisposition to cancer - insights from population genetics. Nat Rev Genet 2004;5(10):764-72.

179. Gupta VK, Paul S, Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. Front Microbiol 2017;8:1162.

180. Wang Y, Wan X, Wu X, Zhang C, Liu J, Hou S. Eubacterium rectale contributes to colorectal cancer initiation via promoting colitis. Gut Pathog 2021;13(1):2.

181. Chen Q, Huang X, Zhang H, Jiang X, Zeng X, Li W, et al. Characterization of tongue coating microbiome from patients with colorectal cancer. J Oral Microbiol 2024;16(1):2344278.

182. Zhang L, Feng Z, Li Y, Lv C, Li C, Hu Y, et al. Salivary and fecal microbiota: potential new biomarkers for early screening of colorectal polyps. Front Microbiol 2023;14:1182346.

183. Russo E, Gloria LD, Nannini G, Meoni G, Niccolai E, Ringressi MN, et al. From adenoma to CRC stages: the oral-gut microbiome axis as a source of potential microbial and metabolic biomarkers of malignancy. Neoplasia N Y N 2023;40:100901.

184. Baxter NT, Ruffin MT, Rogers MAM, Schloss PD. Microbiota-based model improves the sensitivity of fecal immunochemical test for detecting colonic lesions. Genome Med 2016;8(1):37.

185. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. Mol Syst Biol 2014;10(11):766.

186. Liang Q, Chiu J, Chen Y, Huang Y, Higashimori A, Fang J, et al. Fecal Bacteria Act as Novel Biomarkers for Noninvasive Diagnosis of Colorectal Cancer. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2017;23(8):2061-70.

187. Shah MS, DeSantis TZ, Weinmaier T, McMurdie PJ, Cope JL, Altrichter A, et al. Leveraging sequence-based faecal microbial community survey data to identify a composite biomarker for colorectal cancer. Gut 2018;67(5):882-91.

188. Etienne-Mesmin L, Meslier V, Uriot O, Fournier E, Deschamps C, Denis S, et al. In Vitro Modelling of Oral Microbial Invasion in the Human Colon. Microbiol Spectr 11(2):e04344-22.

189. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, Kurilshikov A, Korem T, Zeevi D, et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. Nature 2018;555(7695):210-5.

190. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. Science 2009;326(5960):1694-7.

191. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. Science 2016;352(6285):560-4.

192. van de Pol JAA, van Best N, Mbakwa CA, Thijs C, Savelkoul PH, Arts ICW, et al. Gut Colonization by Methanogenic Archaea Is Associated with Organic Dairy Consumption in Children. Front Microbiol 2017;8:355.

193. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 2010;464(7285):59-65.

194. Mukherjee PK, Sendid B, Hoarau G, Colombel JF, Poulain D, Ghannoum MA. Mycobiota in gastrointestinal diseases. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2015;12(2):77-87.

195. Carding SR, Davis N, Hoyles L. Review article: the human intestinal virome in health and disease. Aliment Pharmacol Ther 2017;46(9):800-15.

196. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. Nature 2007;449(7164):804-10.

197. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. Proc Natl Acad Sci U S A 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4586-91.

198. Jalanka J, Salonen A, Salojärvi J, Ritari J, Immonen O, Marciani L, et al. Effects of bowel cleansing on the intestinal microbiota. Gut 2015;64(10):1562-8.

199. Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, Kashani A, Allin KH, Nielsen T, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. Nat Microbiol 2018;3(11):1255-65.

200. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. Nat Rev Microbiol 2021;19(1):55-71.

201. Lynch SV, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. N Engl J Med 2016;375(24):2369-79.

202. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? Gut 2020;69(12):2232-43.

203. Macia L, Tan J, Vieira AT, Leach K, Stanley D, Luong S, et al. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. Nat Commun 2015;6:6734.

204. Bishai JD, Palm NW. Small Molecule Metabolites at the Host-Microbiota Interface. J Immunol Baltim Md 1950 2021;207(7):1725-33.

205. Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. Mil Med Res 2017;4:14.

206. Johnson KVA, Foster KR. Why does the microbiome affect behaviour? Nat Rev Microbiol 2018;16(10):647-55.

207. Ahern PP, Maloy KJ. Understanding immune-microbiota interactions in the intestine. Immunology 2020;159(1):4-14.

208. Ivanov II, Frutos R de L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, et al. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. Cell Host Microbe 2008;4(4):337-49.

209. Marchesi JR. Human distal gut microbiome. Environ Microbiol 2011;13(12):3088-102.

210. Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans ADL, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. Appl Environ Microbiol 2002;68(7):3401-7.

211. Eklöf V, Löfgren-Burström A, Zingmark C, Edin S, Larsson P, Karling P, et al. Cancer-associated fecal microbial markers in colorectal cancer detection. Int J Cancer 2017;141(12):2528-36.

212. Mira-Pascual L, Cabrera-Rubio R, Ocon S, Costales P, Parra A, Suarez A, et al. Microbial mucosal colonic shifts associated with the development of colorectal cancer reveal the presence of different bacterial and archaeal biomarkers. J Gastroenterol 2015;50(2):167-79.

213. Flemer B, Lynch DB, Brown JMR, Jeffery IB, Ryan FJ, Claesson MJ, et al. Tumour-associated and non-tumour-associated microbiota in colorectal cancer. Gut 2017;66(4):633-43.

214. Yu YN, Yu TC, Zhao HJ, Sun TT, Chen HM, Chen HY, et al. Berberine may rescue Fusobacterium nucleatum-induced colorectal tumorigenesis by modulating the tumor microenvironment. Oncotarget 2015;6(31):32013-26.

215. Shen X, Li J, Li J, Zhang Y, Li X, Cui Y, et al. Fecal Enterotoxigenic Bacteroides fragilis-Peptostreptococcus stomatis-Parvimonas micra Biomarker for Noninvasive Diagnosis and Prognosis of Colorectal Laterally Spreading Tumor. Front Oncol 2021;11:661048.

216. Valciukiene J, Strupas K, Poskus T. Tissue vs. Fecal-Derived Bacterial Dysbiosis in Precancerous Colorectal Lesions: A Systematic Review. Cancers 2023;15(5):1602.

217. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. Gut 2001;48(2):198-205.

218. Collins SM, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. Gastroenterology 2009;136(6):2003-14.

219. Bai X, Wei H, Liu W, Coker OO, Gou H, Liu C, et al. Cigarette smoke promotes colorectal cancer through modulation of gut microbiota and related metabolites. Gut 2022;71(12):2439-50.

220. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. Microb Ecol Health Dis 2015;26:26191.

221. Wong SH, Zhao L, Zhang X, Nakatsu G, Han J, Xu W, et al. Gavage of Fecal Samples From Patients With Colorectal Cancer Promotes Intestinal Carcinogenesis in Germ-Free and Conventional Mice. Gastroenterology 2017;153(6):1621-1633.e6.

222. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède JP. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2010;107(25):11537-42.

223. Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, et al. A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis 2006;12(8):782-6.

224. Wang X, Allen TD, May RJ, Lightfoot S, Houchen CW, Huycke MM. Enterococcus faecalis induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect. Cancer Res 2008;68(23):9909-17.

225. Lee SH, Hu LL, Gonzalez-Navajas J, Seo GS, Shen C, Brick J, et al. ERK activation drives intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice. Nat Med 2010;16(6):665-70.

226. Feng Q, Liang S, Jia H, Stadlmayr A, Tang L, Lan Z, et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. Nat Commun 2015;6:6528.

227. Yu J, Feng Q, Wong SH, Zhang D, Liang QY, Qin Y, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. Gut 2017;66(1):70-8.

228. Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, Roperch JP, Letulle S, Langella P, et al. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. PloS One 2011;6(1):e16393.

229. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. Science 2012;338(6103):120-3.

230. Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between fusobacterium spp., enterotoxigenic Bacteroides fragilis (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. PloS One 2015;10(3):e0119462.

231. Boleij A, van Gelder MMHJ, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of Streptococcus gallolyticus infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 2011;53(9):870-8.

232. Tsai CE, Chiu CT, Rayner CK, Wu KL, Chiu YC, Hu ML, et al. Associated factors in Streptococcus bovis bacteremia and colorectal cancer. Kaohsiung J Med Sci 2016;32(4):196-200.

233. Krishnan S, Eslick GD. Streptococcus bovis infection and colorectal neoplasia: a meta-analysis. Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel 2014;16(9):672-80.

234. Fukugaiti MH, Ignacio A, Fernandes MR, Ribeiro Júnior U, Nakano V, Avila-Campos MJ. High occurrence of Fusobacterium nucleatum and Clostridium difficile in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients. Braz J Microbiol Publ Braz Soc Microbiol 2015;46(4):1135-40.

235. Warren RL, Freeman DJ, Pleasance S, Watson P, Moore RA, Cochrane K, et al. Co-occurrence of anaerobic bacteria in colorectal carcinomas. Microbiome 2013;1(1):16.

236. Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. Nat Rev Microbiol 2012;10(8):575-82.

237. Geng J, Song Q, Tang X, Liang X, Fan H, Peng H, et al. Co-occurrence of driver and passenger bacteria in human colorectal cancer. Gut Pathog 2014;6:26.

238. Huycke MM, Abrams V, Moore DR. Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. Carcinogenesis 2002;23(3):529-36.

239. Wu S, Rhee KJ, Zhang M, Franco A, Sears CL. Bacteroides fragilis toxin stimulates intestinal epithelial cell shedding and gamma-secretase-dependent E-cadherin cleavage. J Cell Sci 2007;120(Pt 11):1944-52.

240. Abdulamir AS, Hafidh RR, Bakar FA. Molecular detection, quantification, and isolation of Streptococcus gallolyticus bacteria colonizing colorectal tumors: inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8. Mol Cancer 2010;9:249.

241. Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. Cell Host Microbe 2014;15(3):317-28.

242. Tsoi H, Chu ESH, Zhang X, Sheng J, Nakatsu G, Ng SC, et al. Peptostreptococcus anaerobius Induces Intracellular Cholesterol Biosynthesis in Colon Cells to Induce Proliferation and Causes Dysplasia in Mice. Gastroenterology 2017;152(6):1419-1433.e5.

243. Long X, Wong CC, Tong L, Chu ESH, Ho Szeto C, Go MYY, et al. Peptostreptococcus anaerobius promotes colorectal carcinogenesis and modulates tumour immunity. Nat Microbiol 2019;4(12):2319-30.

244. Zhao L, Zhang X, Zhou Y, Fu K, Lau HCH, Chun TWY, et al. Parvimonas micra promotes colorectal tumorigenesis and is associated with prognosis of colorectal cancer patients. Oncogene 2022;41(36):4200-10.

245. Burns MB, Montassier E, Abrahante J, Priya S, Niccum DE, Khoruts A, et al. Colorectal cancer mutational profiles correlate with defined microbial communities in the tumor microenvironment. PLoS Genet 2018;14(6):e1007376.

246. Purcell RV, Visnovska M, Biggs PJ, Schmeier S, Frizelle FA. Distinct gut microbiome patterns associate with consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Sci Rep 2017;7(1):11590.

247. Wei Z, Cao S, Liu S, Yao Z, Sun T, Li Y, et al. Could gut microbiota serve as prognostic biomarker associated with colorectal cancer patients' survival? A pilot study on relevant mechanism. Oncotarget 2016;7(29):46158-72.

248. Hong BY, Ideta T, Lemos BS, Igarashi Y, Tan Y, DiSiena M, et al. Characterization of Mucosal Dysbiosis of Early Colonic Neoplasia. NPJ Precis Oncol 2019;3:29.

249. Li S, Konstantinov SR, Smits R, Peppelenbosch MP. Bacterial Biofilms in Colorectal Cancer Initiation and Progression. Trends Mol Med 2017;23(1):18-30.

250. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. Proc Natl Acad Sci U S A 2014;111(51):18321-6.

251. Wong SH, Kwong TNY, Chow TC, Luk AKC, Dai RZW, Nakatsu G, et al. Quantitation of faecal Fusobacterium improves faecal immunochemical test in detecting advanced colorectal neoplasia. Gut 2017;66(8):1441-8.

252. Scott KP, Martin JC, Duncan SH, Flint HJ. Prebiotic stimulation of human colonic butyrate-producing bacteria and bifidobacteria, in vitro. FEMS Microbiol Ecol 2014;87(1):30-40.

253. Baxter NT, Schmidt AW, Venkataraman A, Kim KS, Waldron C, Schmidt TM. Dynamics of Human Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Response to Dietary Interventions with Three Fermentable Fibers. mBio 2019;10(1):e02566-18.

254. Hague A, Elder DJ, Hicks DJ, Paraskeva C. Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 1995;60(3):400-6.

255. Lindzon GM, Medline A, Sohn KJ, Depeint F, Croxford R, Kim YI. Effect of folic acid supplementation on the progression of colorectal aberrant crypt foci. Carcinogenesis 2009;30(9):1536-43.

256. Cherbonnel-Lasserre CL, Linares-Cruz G, Rigaut JP, Sabatier L, Dutrillaux B. Strong decrease in biotin content may correlate with metabolic alterations in colorectal adenocarcinoma. Int J Cancer 1997;72(5):768-75.

257. Said HM. Cellular uptake of biotin: mechanisms and regulation. J Nutr 1999;129(2S Suppl):490S-493S.

258. Ou J, DeLany JP, Zhang M, Sharma S, O'Keefe SJD. Association between low colonic short-chain fatty acids and high bile acids in high colon cancer risk populations. Nutr Cancer 2012;64(1):34-40.

259. Bernstein H, Bernstein C, Payne CM, Dvorak K. Bile acids as endogenous etiologic agents in gastrointestinal cancer. World J Gastroenterol 2009;15(27):3329-40.

260. da Silva Lima F, Rogero MM, Ramos MC, Borelli P, Fock RA. Modulation of the nuclear factor-kappa B (NF-κB) signalling pathway by glutamine in peritoneal macrophages of a murine model of protein malnutrition. Eur J Nutr 2013;52(4):1343-51.

261. Utzschneider KM, Kratz M, Damman CJ, Hullar M. Mechanisms Linking the Gut Microbiome and Glucose Metabolism. J Clin Endocrinol Metab 2016;101(4):1445-54.

262. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. Nat Med 2013;19(5):576-85.

263. Bae S, Ulrich CM, Neuhouser ML, Malysheva O, Bailey LB, Xiao L, et al. Plasma choline metabolites and colorectal cancer risk in the Women's Health Initiative Observational Study. Cancer Res 2014;74(24):7442-52.

264. Jalandra R, Dalal N, Yadav AK, Verma D, Sharma M, Singh R, et al. Emerging role of trimethylamine-N-oxide (TMAO) in colorectal cancer. Appl Microbiol Biotechnol 2021;105(20):7651-60.

265. Rezasoltani S, Asadzadeh Aghdaei H, Dabiri H, Akhavan Sepahi A, Modarressi MH, Nazemalhosseini Mojarad E. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. Microb Pathog 2018;124:244-9.

266. Dulal S, Keku TO. Gut microbiome and colorectal adenomas. Cancer J Sudbury Mass 2014;20(3):225-31.

267. Chen HM, Yu YN, Wang JL, Lin YW, Kong X, Yang CQ, et al. Decreased dietary fiber intake and structural alteration of gut microbiota in patients with advanced colorectal adenoma. Am J Clin Nutr 2013;97(5):1044-52.

268. Clos-Garcia M, Garcia K, Alonso C, Iruarrizaga-Lejarreta M, D'Amato M, Crespo A, et al. Integrative Analysis of Fecal Metagenomics and Metabolomics in Colorectal Cancer. Cancers 2020;12(5):1142.

269. Hale VL, Chen J, Johnson S, Harrington SC, Yab TC, Smyrk TC, et al. Shifts in the Fecal Microbiota Associated with Adenomatous Polyps. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol 2017;26(1):85-94.

270. Wang WJ, Zhou YL, He J, Feng ZQ, Zhang L, Lai XB, et al. Characterizing the composition of intestinal microflora by 16S rRNA gene sequencing. World J Gastroenterol 2020;26(6):614-26.

271. Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2019;16(11):690-704.

272. Peters BA, Dominianni C, Shapiro JA, Church TR, Wu J, Miller G, et al. The gut microbiota in conventional and serrated precursors of colorectal cancer. Microbiome 2016;4(1):69.

273. Jakobsson HE, Rodríguez-Piñeiro AM, Schütte A, Ermund A, Boysen P, Bemark M, et al. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. EMBO Rep 2015;16(2):164-77.

274. Fujiwara-Tani R, Fujii K, Mori S, Kishi S, Sasaki T, Ohmori H, et al. Role of Clostridium perfringens Enterotoxin on YAP Activation in Colonic Sessile Serrated Adenoma/Polyps with Dysplasia. Int J Mol Sci 2020;21(11):3840.

275. Lee JWJ, Plichta DR, Asher S, Delsignore M, Jeong T, McGoldrick J, et al. Association of distinct microbial signatures with premalignant colorectal adenomas. Cell Host Microbe 2023;31(5):827-838.e3.

276. Wirbel J, Pyl PT, Kartal E, Zych K, Kashani A, Milanese A, et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. Nat Med 2019;25(4):679-89.

277. Avelar-Barragan J, DeDecker L, Lu ZN, Coppedge B, Karnes WE, Whiteson KL. Distinct colon mucosa microbiomes associated with tubular adenomas and serrated polyps. NPJ Biofilms Microbiomes 2022;8(1):69.

278. Bess EN, Bisanz JE, Yarza F, Bustion A, Rich BE, Li X, et al. Genetic basis for the cooperative bioactivation of plant lignans by Eggerthella lenta and other human gut bacteria. Nat Microbiol 2020;5(1):56-66.

279. Webb AL, McCullough ML. Dietary lignans: potential role in cancer prevention. Nutr Cancer 2005;51(2):117-31.

280. Adlercreutz H. Lignans and human health. Crit Rev Clin Lab Sci 2007;44(5-6):483-525.

281. Yoon H, Kim N, Park JH, Kim YS, Lee J, Kim HW, et al. Comparisons of Gut Microbiota Among Healthy Control, Patients With Conventional Adenoma, Sessile Serrated Adenoma, and Colorectal Cancer. J Cancer Prev 2017;22(2):108-14.

282. Omori S, Mabe K, Hatanaka K, Ono M, Matsumoto M, Takahashi M, et al. Human intestinal spirochetosis is significantly associated with sessile serrated adenomas/polyps. Pathol Res Pract 2014;210(7):440-3.

283. Bongers G, Muniz LR, Pacer ME, Iuga AC, Thirunarayanan N, Slinger E, et al. A role for the epidermal growth factor receptor signaling in development of intestinal serrated polyps in mice and humans. Gastroenterology 2012;143(3):730-40.

284. Bongers G, Pacer ME, Geraldino TH, Chen L, He Z, Hashimoto D, et al. Interplay of host microbiota, genetic perturbations, and inflammation promotes local development of intestinal neoplasms in mice. J Exp Med 2014;211(3):457-72.

285. He Z, Chen L, Chen G, Smaldini P, Bongers G, Catalan-Dibene J, et al. Interleukin 1 beta and Matrix Metallopeptidase 3 Contribute to Development of Epidermal Growth Factor Receptor-Dependent Serrated Polyps in Mouse Cecum. Gastroenterology 2019;157(6):1572-1583.e8.

286. Ou S, Wang H, Tao Y, Luo K, Ye J, Ran S, et al. Fusobacterium nucleatum and colorectal cancer: From phenomenon to mechanism. Front Cell Infect Microbiol 2022;12:1020583.

287. Hussan H, Clinton SK, Roberts K, Bailey MT. Fusobacterium's link to colorectal neoplasia sequenced: A systematic review and future insights. World J Gastroenterol 2017;23(48):8626-50.

288. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, et al. Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. Genome Res 2012;22(2):292-8.

289. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome Res 2012;22(2):299-306.

290. Ito M, Kanno S, Nosho K, Sukawa Y, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of Fusobacterium nucleatum with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway. Int J Cancer 2015;137(6):1258-68.

291. Nosho K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of Fusobacterium nucleatum with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. World J Gastroenterol 2016;22(2):557-66.

292. Mima K, Nishihara R, Qian ZR, Cao Y, Sukawa Y, Nowak JA, et al. Fusobacterium nucleatum in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis. Gut 2016;65(12):1973-80.

293. Park CH, Han DS, Oh YH, Lee A reum, Lee Y ra, Eun CS. Role of Fusobacteria in the serrated pathway of colorectal carcinogenesis. Sci Rep 2016;6:25271.

294. Yu J, Chen Y, Fu X, Zhou X, Peng Y, Shi L, et al. Invasive Fusobacterium nucleatum may play a role in the carcinogenesis of proximal colon cancer through the serrated neoplasia pathway. Int J Cancer 2016;139(6):1318-26.

295. Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. Cell Host Microbe 2013;14(2):207-15.

296. Zackular JP, Rogers MAM, Ruffin MT, Schloss PD. The human gut microbiome as a screening tool for colorectal cancer. Cancer Prev Res Phila Pa 2014;7(11):1112-21.

297. Amitay EL, Werner S, Vital M, Pieper DH, Höfler D, Gierse IJ, et al. Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study. Carcinogenesis 2017;38(8):781-8.

298. Rodríguez IT, Ballart JF, Pastor GC, Jordà EB, Val VA. [Validation of a short questionnaire on frequency of dietary intake: reproducibility and validity]. Nutr Hosp 2008;23(3):242-52.

299. Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. Portions alimentaires: Manuel photos pour l'estimation des quantités. Economica; 2002.

300. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. J Biomed Inform 2009;42(2):377-81.

301. Harris PA, Taylor R, Minor BL, Elliott V, Fernandez M, O'Neal L, et al. The REDCap consortium: Building an international community of software platform partners. J Biomed Inform 2019;95:103208.

302. Song SJ, Amir A, Metcalf JL, Amato KR, Xu ZZ, Humphrey G, et al. Preservation Methods Differ in Fecal Microbiome Stability, Affecting Suitability for Field Studies. mSystems 2016;1(3):e00021-16.

303. Godon JJ, Zumstein E, Dabert P, Habouzit F, Moletta R. Molecular microbial diversity of an anaerobic digestor as determined by small-subunit rDNA sequence analysis. Appl Environ Microbiol 1997;63(7):2802-13.

304. Santiago A, Panda S, Mengels G, Martinez X, Azpiroz F, Dore J, et al. Processing faecal samples: a step forward for standards in microbial community analysis. BMC Microbiol 2014;14:112.

305. Costea PI, Zeller G, Sunagawa S, Pelletier E, Alberti A, Levenez F, et al. Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. Nat Biotechnol 2017;35(11):1069-76.

306. Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinforma Oxf Engl 2011;27(21):2957-63.

307. Bokulich NA, Subramanian S, Faith JJ, Gevers D, Gordon JI, Knight R, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. Nat Methods 2013;10(1):57-9.

308. Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. Bioinforma Oxf Engl 2011;27(16):2194-200.

309. Shenhav L, Thompson M, Joseph TA, Briscoe L, Furman O, Bogumil D, et al. FEAST: fast expectation-maximization for microbial source tracking. Nat Methods 2019;16(7):627-32.

310. Tettamanti Boshier FA, Srinivasan S, Lopez A, Hoffman NG, Proll S, Fredricks DN, et al. Complementing 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing with Total Bacterial Load To Infer Absolute Species Concentrations in the Vaginal Microbiome. mSystems 2020;5(2):e00777-19.

311. Walker RG, Landmann JK, Hewett DG, Worthley DL, Buttenshaw RL, Knight N, et al. Hyperplastic polyposis syndrome is associated with cigarette smoking, which may be a modifiable risk factor. Am J Gastroenterol 2010;105(7):1642-7.

312. Chudy-Onwugaje K, Huang WY, Su LJ, Purdue MP, Johnson CC, Wang L, et al. Aspirin, Ibuprofen and Reduced Risk of Advanced Colorectal Adenoma Incidence and Recurrence and Colorectal Cancer in the PLCO Cancer Screening Trial. Cancer 2021;127(17):3145-55.

313. Ao Y, Yan X, Li Y, Wu F, Liu X, Zhuang P, et al. Association Between the Consumption of Meat Subtypes and Precancerous Lesions of Colorectal Cancer: A Meta-analysis. Nutr Rev 2025;nuaf093.

314. Mosley D, Su T, Murff HJ, Smalley WE, Ness RM, Zheng W, et al. Meat intake, meat cooking methods, and meat-derived mutagen exposure and risk of sessile serrated lesions. Am J Clin Nutr 2020;111(6):1244-51.

315. Narita Y, Kodama H. Identification of the specific microbial community compositions in saliva associated with periodontitis during pregnancy. Clin Oral Investig 2022;26(7):4995-5005.

316. Ko Y, Lee EM, Park JC, Gu MB, Bak S, Ji S. Salivary microbiota in periodontal health and disease and their changes following nonsurgical periodontal treatment. J Periodontal Implant Sci 2020;50(3):171-82.

317. Camelo-Castillo AJ, Mira A, Pico A, Nibali L, Henderson B, Donos N, et al. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. Front Microbiol 2015;6:119.

318. Kuramitsu HK, Chen W, Ikegami A. Biofilm formation by the periodontopathic bacteria Treponema denticola and Porphyromonas gingivalis. J Periodontol 2005;76(11 Suppl):2047-51.

319. Grenier D. Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, Treponema denticola and Porphyromonas gingivalis. Infect Immun 1992;60(12):5298-301.

320. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis. Microbiol Mol Biol Rev MMBR 1998;62(4):1244-63.

321. Fan X, Alekseyenko AV, Wu J, Peters BA, Jacobs EJ, Gapstur SM, et al. Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study. Gut 2018;67(1):120-7.

322. Chen X, Winckler B, Lu M, Cheng H, Yuan Z, Yang Y, et al. Oral Microbiota and Risk for Esophageal Squamous Cell Carcinoma in a High-Risk Area of China. PloS One 2015;10(12):e0143603.

323. Mu W, Jia Y, Chen X, Li H, Wang Z, Cheng B. Intracellular Porphyromonas gingivalis Promotes the Proliferation of Colorectal Cancer Cells via the MAPK/ERK Signaling Pathway. Front Cell Infect Microbiol 2020;10:584798.

324. Kumagai K, Sugano N, Takane M, Iwasaki H, Tanaka H, Yoshinuma N, et al. Detection of Streptococcus anginosus from saliva by real-time polymerase chain reaction. Lett Appl Microbiol 2003;37(5):370-3.

325. Masood U, Sharma A, Lowe D, Khan R, Manocha D. Colorectal Cancer Associated with Streptococcus anginosus Bacteremia and Liver Abscesses. Case Rep Gastroenterol 2016;10(3):769-74.

326. Hunter MC, Pozhitkov AE, Noble PA. Microbial signatures of oral dysbiosis, periodontitis and edentulism revealed by Gene Meter methodology. J Microbiol Methods 2016;131:85-101.

327. Kirst ME, Li EC, Alfant B, Chi YY, Walker C, Magnusson I, et al. Dysbiosis and alterations in predicted functions of the subgingival microbiome in chronic periodontitis. Appl Environ Microbiol 2015;81(2):783-93.

328. Pérez-Chaparro PJ, McCulloch JA, Mamizuka EM, Moraes A da CL, Faveri M, Figueiredo LC, et al. Do different probing depths exhibit striking differences in microbial profiles? J Clin Periodontol 2018;45(1):26-37.

329. Lourenço TGB, Heller D, Silva-Boghossian CM, Cotton SL, Paster BJ, Colombo APV. Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. J Clin Periodontol 2014;41(11):1027-36.

330. Perera M, Al-Hebshi NN, Speicher DJ, Perera I, Johnson NW. Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria. J Oral Microbiol 2016;8:32762.

331. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998;25(2):134-44.

332. Coker OO, Wu WKK, Wong SH, Sung JJY, Yu J. Altered Gut Archaea Composition and Interaction With Bacteria Are Associated With Colorectal Cancer. Gastroenterology 2020;159(4):1459-1470.e5.

333. Teigen LM, Geng Z, Sadowsky MJ, Vaughn BP, Hamilton MJ, Khoruts A. Dietary Factors in Sulfur Metabolism and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. Nutrients 2019;11(4):931.

334. Nie K, Ma K, Luo W, Shen Z, Yang Z, Xiao M, et al. Roseburia intestinalis: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. Front Cell Infect Microbiol 2021;11:757718.

335. Johannsen A, Susin C, Gustafsson A. Smoking and inflammation: evidence for a synergistic role in chronic disease. Periodontol 2000 2014;64(1):111-26.

336. Siddiqui R, Badran Z, Boghossian A, Alharbi AM, Alfahemi H, Khan NA. The increasing importance of the oral microbiome in periodontal health and disease. Future Sci OA 2023;9(8):FSO856.

337. Momen-Heravi F, Babic A, Tworoger SS, Zhang L, Wu K, Smith-Warner SA, et al. Periodontal disease, tooth loss and colorectal cancer risk: Results from the Nurses' Health Study. Int J Cancer 2017;140(3):646-52.

338. Hu JM, Shen CJ, Chou YC, Hung CF, Tian YF, You SL, et al. Risk of colorectal cancer in patients with periodontal disease severity: a nationwide, population-based cohort study. Int J Colorectal Dis 2018;33(3):349-52.

339. Ren HG, Luu HN, Cai H, Xiang YB, Steinwandel M, Gao YT, et al. Oral health and risk of colorectal cancer: results from three cohort studies and a meta-analysis. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2016;27(7):1329-36.

340. Lo CH, Nguyen LH, Wu K, Ogino S, Chan AT, Giovannucci EL, et al. Periodontal Disease, Tooth Loss, and Risk of Serrated Polyps and Conventional Adenomas. Cancer Prev Res Phila Pa 2020;13(8):699-706.

341. Pérez-Chaparro PJ, Gonçalves C, Figueiredo LC, Faveri M, Lobão E, Tamashiro N, et al. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review. J Dent Res 2014;93(9):846-58.

342. Patini R, Staderini E, Lajolo C, Lopetuso L, Mohammed H, Rimondini L, et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: a systematic review. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2018;22(18):5775-88.

343. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. Environ Mol Mutagen 2017;58(5):235-63.

344. Jiang Y, Zhou X, Cheng L, Li M. The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease. Front Microbiol 2020;11:66.

345. Senaratne NLM, Yung on C, Shetty NY, Gopinath D. Effect of different forms of tobacco on the oral microbiome in healthy adults: a systematic review. Front Oral Health 2024;5:1310334.

346. Cogo K, de Andrade A, Labate CA, Bergamaschi CC, Berto LA, Franco GCN, et al. Proteomic analysis of Porphyromonas gingivalis exposed to nicotine and cotinine. J Periodontal Res 2012;47(6):766-75.

347. How KY, Song KP, Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. Front Microbiol 2016;7:53.

348. Hiratsuka K, Abiko Y, Hayakawa M, Ito T, Sasahara H, Takiguchi H. Role of Porphyromonas gingivalis 40-kDa outer membrane protein in the aggregation of P. gingivalis vesicles and Actinomyces viscosus. Arch Oral Biol 1992;37(9):717-24.

349. Sufaru IG, Martu MA, Solomon SM. Advances in Periodontal Pathogens. Microorganisms 2022;10(7):1439.

350. Thomas AM, Manghi P, Asnicar F, Pasolli E, Armanini F, Zolfo M, et al. Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation. Nat Med 2019;25(4):667-78.

351. Katona BW, Shukla A, Hu W, Nyul T, Dudzik C, Arvanitis A, et al. Microbiota and metabolite-based prediction tool for colonic polyposis with and without a known genetic driver. Gut Microbes 2025;17(1):2474141.

352. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. ISME J 2012;6(2):320-9.

353. Weir TL, Manter DK, Sheflin AM, Barnett BA, Heuberger AL, Ryan EP. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults. PloS One 2013;8(8):e70803.

354. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. PloS One 2012;7(6):e39743.

355. Shalon D, Culver RN, Grembi JA, Folz J, Treit PV, Shi H, et al. Profiling the human intestinal environment under physiological conditions. Nature 2023;617(7961):581-91.

356. Wang G, Menon S, Wilsack L, Rehak R, Lou L, Turbide C, et al. Spatially and temporally precise microbiome profiling in the small intestine using the SIMBA capsule with X-ray tracking. Front Microbiomes 2024;3:1321624.

10. ANEXOS

10.1. ANEXO 1. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA)

Para cada alimento indique la frecuencia media de consumo a la semana o al mes en el último año.

¿CUÁNTAS VECES COME?	A LA SEMANA	AL MES
Leche (1 vaso, 200ml)		
Yogur (1 unidad)		
Queso blanco o fresco (Burgos) o bajo en calorías (1 porción, 25 gr)		
Otros quesos: curados o semicurado, cremosos (1 porción, 25 gr)		
Chocolate: tableta, bombones, "Kit Kat", "Mars"… (4 onzas o 3 bombones)		
Cereales inflados de desayuno ("Corn-Flakes", "Kellog's") (35gr, medio bol)		
Galletas tipo "maría" (4 unidades, 24 gr)		
Galletas con chocolate, crema… (4 unidades, 50gr)		
Magdalenas, bizcocho… (1 magdalena, 50gr bizcocho: foto 1)		
Ensaimada, donut, croissant… (unidades)		

	A LA SEMANA	AL MES
Ensalada: lechuga, tomate, escarola… (60gr, foto 2)		
Judías verdes, acelgas o espinacas (200gr, foto 3)		
Verduras de guarnición: berenjena, calabacines, champiñones (100gr foto 4)		
Patatas al horno o hervidas (100gr, foto 5)		
Patatas fritas (100gr, foto 6)		
Legumbres: lentejas, garbanzos, judías… (100gr, foto 7)		
Arroz blanco, paella (100gr, foto 8)		
Pasta: fideos, macarrones, espaguetis… (100gr, foto 9)		
Sopas y cremas (200gr, foto 10)		

	A LA SEMANA	AL MES
Huevos (1 unidad)		
Pollo o pavo (175 gr, foto 11)		
Ternera, cerdo, cordero, caballo y cabra (150 gr, foto 12)		
Carne picada, albóndigas o hamburguesa (100gr= 4 albóndigas o 1 hamburguesa)		
Otras carnes: bacón, nuggets, salchichas, morcilla, butifarra (80gr, foto 13)		
Jamón salado, dulce, embutidos (25gr, foto 14)		
Pescado blanco: merluza, mero, lenguado,… (150gr, foto 15)		
Pescado azul: sardinas, atún, salmón,… (150gr, 3 latas de atún)		
Marisco: mejillones, gambas, langostinos, calamares,… (50gr, foto 16)		
Croquetas, empanadillas, pizza (80gr, foto 17)		
Pan (en bocadillo, con las comidas,…) (50gr, foto 18)		

	A LA SEMANA	AL MES
Frutas cítricas: naranja, mandarina,… (1 naranja o 2 mandarinas)		
Otras frutas: manzana, pera, melocotón, plátano… (unidades)		
Frutas en conserva (en almíbar…) (100gr, foto 19)		
Zumos de fruta natural (1 vaso, 200ml)		
Zumos de fruta comercial (1 vaso, 200ml)		
Frutos secos: cacahuetes, avellanas, almendras,… (25gr, foto 20)		
Postres lácteos: natillas, flan, requesón (1 unidad)		
Pasteles de crema o chocolate (100gr, foto 21)		
Bolsas de aperitivos (“chips”, “chetos”, “fritos”…) (30gr, foto 22)		
Helados (1 cucurucho)		

	A LA SEMANA	AL MES
Bebidas azucaradas (“coca-cola”, “Fanta”…) (250ml)		
Bebidas bajas en calorías (coca-cola light…) (250ml)		
Vino, sangría (1 vaso)		
Cerveza con alcohol (1 tercio, mediana o lata)		
Bebidas destiladas: whisky, ginebra, coñac,… (50ml)		

	A LA SEMANA	AL MES
Aceite de oliva (1 cucharada sopera)		
Otros aceites (1 cucharada sopera)		

10.2. ANEXO 2. Archivo fotográfico



1. BIZCOCHO



2. LECHUGA

3. ESPINACAS



4. BERENJENAS



5. PATATAS HERVIDAS



6. PATATAS FRITAS



7. LEGUMBRES



8. ARROZ



9. PASTA



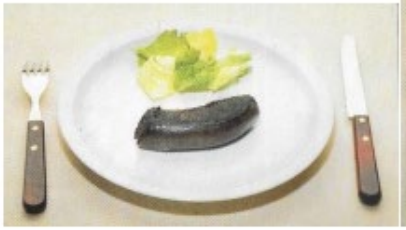
10. SOPAS Y CREMAS



11. POLLO



12. CERDO



13. MORCILLA



14. JAMÓN



15. LENGUADO



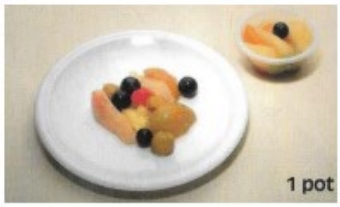
16. GAMBAS



17. PIZZA



18. PAN



19. FRUTAS EN CONSERVA



20. FRUTOS SECOS



21. PASTEL



22. PATATAS CHIPS