

# 1. Microbiota y cáncer

## MICROBIOTA AND CANCER

Sara Arjona Hernández

Facultativo Especialista en Análisis Clínicos.

### RESUMEN

Microbiota y cáncer son conceptos interrelacionados históricamente. Cada vez son más las evidencias que señalan un papel firme de la microbiota en el proceso tumoral, tanto positivo –como inductor de los mecanismos inmunes antitumorales–, como negativo –favoreciendo el desarrollo de la enfermedad tras la ruptura de barreras mucosas a través de mecanismos diversos–. Esta dualidad podría ser reflejo de una dinámica evolutiva compartida entre el sistema inmunológico del huésped, su microbiota comensal y los procesos tumorigénicos que apenas estamos comenzando a descubrir.

Así pues, pese a los avances en el conocimiento de esta materia, son muchas las cuestiones que quedan por responder aún: ¿Hasta qué punto los microorganismos son agentes causales, actores cómplices o espectadores pasivos? ¿Tiene propiedades terapéuticas la microbiota intratumoral? ¿Qué papel juegan los microorganismos en el diagnóstico, tratamiento, monitorización e incluso pronóstico del paciente?

La respuesta a estas cuestiones se ve obstaculizada por la existencia de notables diferencias taxonómicas intra- e interindividuales que dificultan la armonización y reproducibilidad en los contextos diagnóstico, terapéutico y pronóstico de la enfermedad. Se necesitan pues cohortes adicionales con muestras rigurosamente seleccionadas que permitan caracterizar y comprender el impacto de la microbiota intratumoral en la carcinogénesis, progresión y respuesta al tratamiento antitumoral.

En cualquier caso, en vista de los conocimientos actuales, no cabe duda de que la evaluación de la composición y función microbiana de un paciente, y su posterior modulación (dietética-terapéutica) dirigida representan elementos clave para futuros enfoques multidisciplinarios dentro de la medicina de precisión.

**Palabras clave:** Cáncer, Microbiota, Microbiota intratumoral, Inmunidad antitumoral y Modulación microbiótica.

### ABSTRACT

*Microbiota and cancer are historically interrelated concepts. More and more evidence points to a strong role of the microbiota in the tumor process, both positive –as an inducer of*

*antitumor immune mechanisms–, as negative –favoring the development of the disease after the rupture of mucous barriers through various mechanisms–. This duality could be a reflection of a shared evolutionary dynamic between the host's immune system, its commensal microbiota and the tumorigenic processes we are just beginning to discover.*

*Thus, despite advances in knowledge of this matter, many questions remain to be answered: To what extent are microorganisms causal agents, accomplices or passive spectators? Does the intratumoral microbiota have therapeutic properties? What role do microorganisms play in the diagnosis, treatment, monitoring and even prognosis of the patient?*

*The answer to these questions is hampered by the existence of significant intra- and inter-individual taxonomic differences that hinder harmonization and reproducibility in the diagnostic, therapeutic and prognostic contexts of the disease. Additional cohorts with rigorously selected samples are therefore needed to characterize and understand the impact of the intratumoral microbiota on carcinogenesis, progression and response to anti-tumor therapy. In any case, in view of current knowledge, there is no doubt that the evaluation of the composition and microbial function of a patient, and its subsequent modulation (dietetic-therapeutic) Directed represent key elements for future multidisciplinary approaches within precision medicine.*

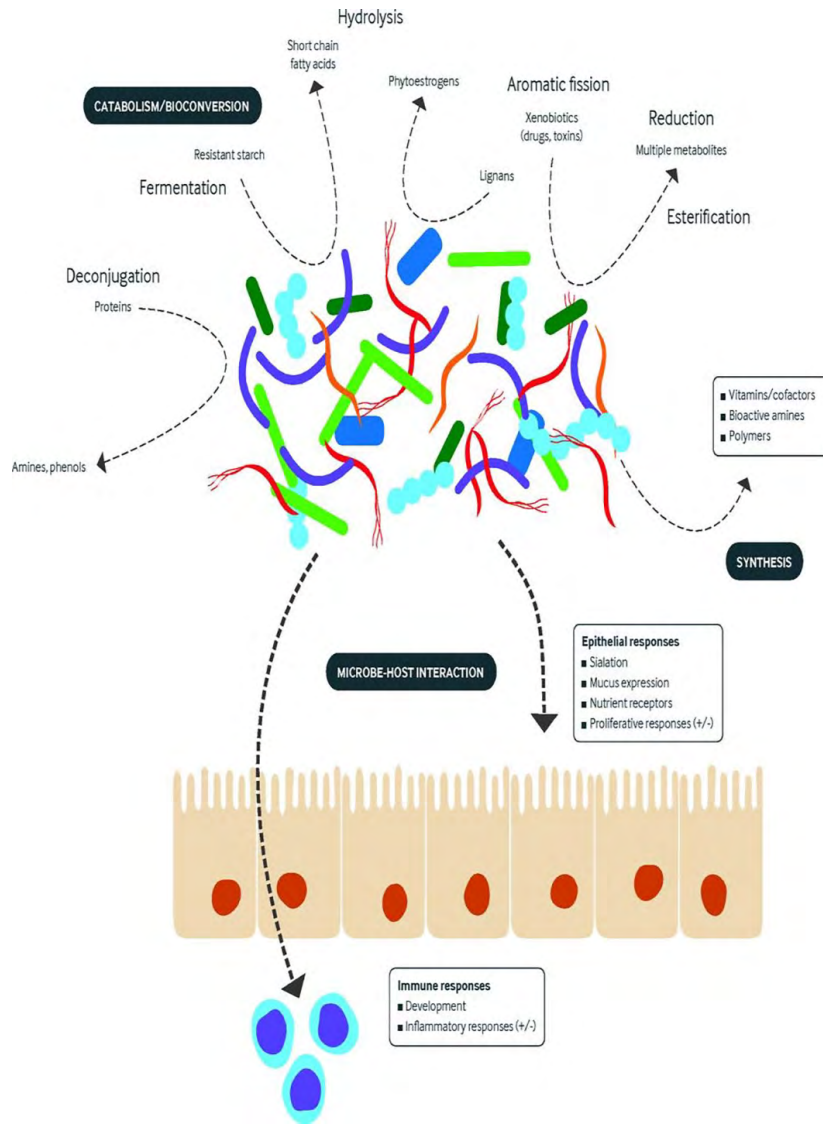
**Keywords:** Cancer, Microbiota, Intratumoral microbiota, Antitumor immunity and Microbiotic modulation.

### INTRODUCCIÓN

Se define microbiota como una comunidad de microorganismos que ocupa un sitio o hábitat particular. Por su parte, el microbioma se define como una comunidad microbiana característica que ocupa un hábitat razonablemente bien definido dentro de un organismo y presenta propiedades fisicoquímicas particulares. Este término hace referencia tanto a los microorganismos (microbiota) como al entorno huésped donde estos habitan. Así pues, el microbioma intestinal estará constituido tanto por microorganismos como por elementos del huésped, tales como el epitelio intestinal, componentes inmunes y/o metabolitos de ambos.

La mayoría de microorganismos que forman nuestra microbiota proporcionan servicios ecosistémicos cruciales que benefician a nuestro organismo, por lo que la pérdida de dichos beneficios o la introducción de funciones desadaptativas por parte de microorganismos invasores que desplacen la microbiota habitual, pueden desencadenar la aparición de enfermedades.

La microbiota se encarga de múltiples actividades metabólicas que van desde el catabolismo y la bioconversión de moléculas complejas hasta la síntesis de una amplia gama de compuestos que pueden tener efectos propios y para el huésped. En algunos casos, la microbiota participa de rutas metabólicas ya existentes en el organismo huésped.



**Figura 1.** Funciones potenciales de la microbiota. (Young, B Vicent. *The role of the microbiome in human health and disease: An introduction for clinicians.* BMJ [artículo de revista] 2017).

ped. Sin embargo, existen vías metabólicas exclusivas del componente microbiano del microbioma (Figura 1).

Es de destacar la capacidad de la microbiota intestinal para fermentar polisacáridos no digeribles por nuestro organismo, como el almidón. En su fermentación se producen una gran variedad de compuestos, entre los que se hallan *ácidos grasos de cadena corta* (AGCC), los cuales constituyen la principal fuente de energía para los enterocitos, además de ejercer efectos antiinflamatorios e incluso antitumorales.

Además, la microbiota intestinal está implicada en el metabolismo de determinados fármacos orales, modificando su biodisponibilidad. Es el caso de la digoxina, cuyo intervalo terapéutico es sumamente estrecho, por lo que cualquier alteración en su biodisponibilidad puede inducir el desarrollo de toxicidad. Determinadas cepas de *Eggerthella lenta* actúan disminuyendo los niveles de fármaco debido a la presencia de operón glucósido reductasa cardíaco.

Otra de las funciones de la microbiota intestinal es la transformación de ácidos biliares que, tras sintetizarse a nivel hepático, son secretados como sales biliares en el intestino. Estas sales son procesadas por microorganismos intestinales

dando lugar a ácidos biliares no conjugados, generándose ácidos biliares secundarios. Estos compuestos ejercen una serie de efectos en el huésped a través de su unión a *receptores farnesoides X (FXR)*.

Debido a que los ácidos biliares son los productos finales del catabolismo del colesterol, cambios en su metabolismo pueden desencadenar efectos sobre el metabolismo lipídico. Es por eso que cualquier alteración en la microbiota intestinal se asocia a cambios en el metabolismo de los lípidos. Actualmente se están desarrollando diversas moléculas agonistas de los receptores FXR como potenciales estrategias terapéuticas para diversos trastornos metabólicos, como la obesidad, la resistencia insulínica, la fibrosis hepática o la esteatohepatitis no alcohólica.

La microbiota ejerce asimismo un rol fundamental en el desarrollo y actividad del sistema inmunológico. De esta forma, la presencia de microbiota induce la expresión de receptores implicados en la respuesta inmunológica en los epitelios mucosos. Recíprocamente, el sistema inmunológico del huésped ejerce una gran influencia sobre la estructura y función de la microbiota.

Por último, la microbiota ejerce un papel protector sobre el huésped al actuar como resistencia a la colonización por microorganismos patógenos. Si bien los mecanismos a través de los cuales ejerce esta función no están del todo dilucidados, podrían estar implicados la producción de AGCC, la competencia directa por nutrientes o el sistema inmunológico del huésped.

Todas estas funciones ponen de manifiesto una simbiosis entre nuestro organismo y los microorganismos pertenecientes a nuestro microbioma, de forma que cualquier alteración de la homeostasis establecida entre ellos supone la aparición de patologías en el organismo hospedador.

## OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objeto la realización de una revisión sistemática de los mecanismos moleculares implicados en la conexión entre microbiota y cáncer.

## METODOLOGÍA

Esta revisión bibliográfica ha sido realizada a partir de artículos de revista, revisiones y meta-análisis relacionados con la microbiota y su implicación en el desarrollo de cáncer. La búsqueda bibliográfica se ha realizado en distintas bases de datos. Si bien PubMed ha constituido la base de datos principal. La búsqueda fue realizada entre los meses de mayo y octubre de 2023, siguiendo los criterios de búsqueda detallados a continuación:

- Tipo de artículo: "Libros y documentos", "meta-análisis", "revisiones" y "revisiones sistemáticas"
- Fecha de publicación: Últimos 5 años (aunque a veces se han seleccionado publicaciones correspondientes a fechas anteriores por considerarlas relevantes en la realización del trabajo).

Entre las palabras clave empleadas en la búsqueda figuran: "Cáncer", "Microbiota", "Microbiota intratumoral", "Inmunidad antitumoral" y "Modulación microbiótica".

## DESARROLLO

### Enfermedades asociadas al microbioma

#### Enfermedades infecciosas

Tal y como se ha expuesto anteriormente, las sales biliares de origen hepático secretadas en el tracto gastrointestinal son sometidas a reacciones de desconjugación y transformación donde se obtienen ácidos biliares primarios y secundarios no conjugados. Algunos de estos compuestos promueven la germinación de esporas de *Clostridium difficile*, mientras que otros inhiben el crecimiento de la forma vegetativa del microorganismo. Este hallazgo ha convertido a la microbiota intestinal en una potencial diana terapéutica en caso de infecciones recurrentes por *Clostridium difficile*, para las cuales se están investigando estrategias terapéuticas consistentes en el reemplazo de la microbiota autóctona, como el *trasplante de microbiota fecal* (TMF).

La microbiota intestinal puede contribuir al desarrollo de otras infecciones. Así pues, en pacientes inmunodeprimidos sometidos a *alotransplante de células madre* (Alo-TC-MH), la integridad de la microbiota puede influir en el riesgo de desarrollar bacteriemia. Asimismo, los pacientes con sepsis y síndrome respiratorio poseen un incremento de microorganismos a nivel gastrointestinal, lo cual induce un aumento de la respuesta inflamatoria pulmonar.

Además, se ha comprobado que la composición de la microbiota intestinal resulta clave en la curación de las anastomosis intestinales quirúrgicas.

Todo ello evidencia que la microbiota constituye una potencial diana no solo a nivel terapéutico, sino también diagnóstico e incluso pronóstico.

### Enfermedad inflamatoria intestinal (EII)

Los pacientes con EII presentan una microbiota intestinal distinta a los individuos sanos. De este modo, parece ser que la propia microbiota intestinal de los pacientes con colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn contribuye al desarrollo de una respuesta inflamatoria descompensada.

Además, la patogenia de esta enfermedad está ampliamente influenciada por el sistema inmunológico del huésped. Estudios de susceptibilidad genética han revelado que variaciones a nivel genómico en los mecanismos de interacción entre huésped y microbiota suponen un mayor riesgo de desarrollar EII.

En conclusión, tanto huésped como microorganismos están implicados en la fisiopatología de la EII, y, por tanto, la alteración del microbioma constituye la principal causa de desarrollo de estas entidades clínicas.

### Obesidad y enfermedad metabólica

Si bien la relación entre obesidad y microbiota intestinal parece estar más que establecida, los mecanismos subyacentes aún son desconocidos. De hecho, un metaanálisis reciente concluye que la asociación entre la enfermedad y la microbiota podría ser más débil de lo que se había sugerido hasta ahora.

Independientemente del grado en que la microbiota influya en el desarrollo de obesidad, su influencia en el procesamiento de nutrientes es irrefutable. Productos obtenidos a partir de la microbiota intestinal, como los AGCC o los ácidos biliares intervienen en la expresión de péptidos implicados en la regulación metabólica, tales como el péptido 1 similar al glucagón y péptido YY. De hecho, se ha comprobado que la alteración de la microbiota intestinal debido a la administración de antibióticos provoca una desregulación del sistema hormonal favoreciendo el síndrome metabólico y la obesidad.

Asimismo, estudios recientes han analizado los efectos de la microbiota intestinal a nivel sistémico. En esta línea se ha podido comprobar que la colina procedente de la dieta es metabolizada por la microbiota intestinal dando lugar a *N-óxido de trimetilamina* (OTMA), el cual se relaciona con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Se esta-

blece así un potencial mecanismo a través del cual los hábitos alimenticios influyen en el desarrollo de determinadas entidades.

### **Enfermedad pulmonar**

Si bien tanto el tracto respiratorio superior como el inferior se habían considerado libres de microorganismos durante décadas, en la actualidad se dispone de suficiente evidencia sobre la existencia de microbiota a nivel pulmonar, lo que confirma su no esterilidad. De hecho, algunos estudios revelan la importancia de la composición de la microbiota pulmonar como factor determinante del tono inflamatorio basal.

Además, los microorganismos constituyen un papel determinante en contextos clínicos específicos a nivel respiratorio. Es el caso de la fibrosis quística, cuyos pacientes afectados constan de una microbiota pulmonar muy diversa que podría estar implicada en la patogénesis de la enfermedad. Así pues, los microorganismos actúan degradando el exceso de mucina característica de esta entidad favoreciendo la colonización por patógenos.

Actualmente existen líneas de investigación orientadas al esclarecimiento de la función de la microbiota pulmonar en la fisiopatología de otras enfermedades pulmonares tales como el asma o la *enfermedad pulmonar obstructiva crónica* (EPOC). Todas ellas indican una posible asociación y no tanto una relación causal, aunque son necesarios estudios adicionales que permitan dilucidar si una microbiota alterada puede contribuir al desarrollo de ciertas entidades clínicas.

Al igual que en el tracto respiratorio inferior, las enfermedades que afectan al tracto respiratorio superior podrían estar condicionadas por una alteración de la composición de la microbiota. Es el caso de la sinusitis, en la que los pacientes afectados presentan un aumento de *Corynebacterium tuberculoostearicum*, cuya potencial patogenicidad se ha descubierto recientemente. Varios estudios demuestran el papel de ciertos microorganismos pertenecientes a la microbiota habitual en la resistencia a la colonización por esta bacteria en individuos sanos.

Así pues, la microbiota del tracto respiratorio parece estar implicada en la susceptibilidad a infecciones bacterianas y víricas. Recíprocamente, determinadas infecciones como las producidas por rinovirus pueden provocar una alteración de la microbiota que induzca una mayor susceptibilidad a infecciones en otras localizaciones del tracto respiratorio: Otitis o neumonía (1).

### **Microbiota ¿saludable?**

Los individuos difieren enormemente en el contenido taxonómico de su microbiota, e incluso, una misma persona con el tiempo puede presentar una microbiota sustancialmente diferente. La caracterización del microbioma "sano" es extremadamente compleja, ya que diferentes perfiles taxonómicos pueden conducir a ecosistemas con comportamiento similar. Tampoco está claro si "normal" en una población humana implica salud, porque la salud óptima depende del contexto tanto a nivel poblacional como individual. Estudios realizados en niños sanos de distintas zonas de Asia mostraron una variación sustancial en la composición de la

microbiota intestinal, aunque existía un evidente patrón Norte-Sur en términos de taxones predominantes, probablemente relacionado con diferentes niveles de modernización socioeconómica. Por tanto, aún se desconocen cuáles son las características clave de los microbiomas sanos, más allá de la composición descriptiva que caracteriza las diferentes regiones no estériles del organismo: Especies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* o *Treponema* en la cavidad bucal; *Acinetobacter* y *Aeribacillus* en la superficie ocular; *Pseudomonas* en el margen palpebral y conjuntiva; Actinobacterias (*Corynebacteriaceae* y *Propionibacteriaceae*), *Firmicutes*, *Staphylococcaceae*, *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* en la piel, organismos lipófilos como *Propionibacterium* y el hongo *Malassezia* en áreas de mayor densidad de glándulas sebáceas (cara o espalda), *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, incluidos *Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Verrucomicrobia*, *Akkermansia* y las arqueas *Methanobrevibacter smithii* en las superficies mucosas del tracto gastrointestinal, y *Lactobacillus* en el tracto genital de las mujeres.

Comprender la variabilidad del microbioma humano en el contexto de "salud" obliga a la obtención de datos longitudinales de múltiples cohortes de las cuales se excluyan a los sujetos que desarrollan cualquier enfermedad a lo largo de su vida, de forma que solo se consideren sujetos sanos. En ecosistemas como el intestino, el grado de diversidad es un indicador de salud. De hecho, los inmigrantes de países en desarrollo pierden diversidad entre generaciones humanas, a medida que desarrollan estilos de vida y enfermedades occidentalizados.

En los niños, son necesarios estudios prospectivos que evalúen la madurez de la microbiota con el fin de establecer una "microbiota normal" en las diferentes etapas de crecimiento del mismo modo que se normalizan la altura o el peso, es decir, construir una curva de crecimiento para el microbioma en desarrollo. Al igual que ocurre con las características físicas, el conocimiento del desarrollo normal permitiría la detección de perturbaciones del estado de salud.

Centrarse en funciones, en lugar de taxones, puede ser importante para abordar algunas cuestiones clínicas, pero puede no ser aplicable a otras, ya que cada cepa ofrece una combinación de funciones. De este modo, comprender la dinámica y los efectos de los cambios del microbioma puede ser análogo a predecir el clima. Si bien es posible conocerlo en líneas generales y emitir un pronóstico a 3 días vista, a medida que intentamos un pronóstico más lejano la complejidad del sistema abruma las herramientas disponibles. No obstante, este es un campo joven, por lo que un mayor conocimiento y el desarrollo futuro de herramientas más sofisticadas permitirán una clasificación taxonómico-funcional con valor predictivo sobre nuestra salud (2).

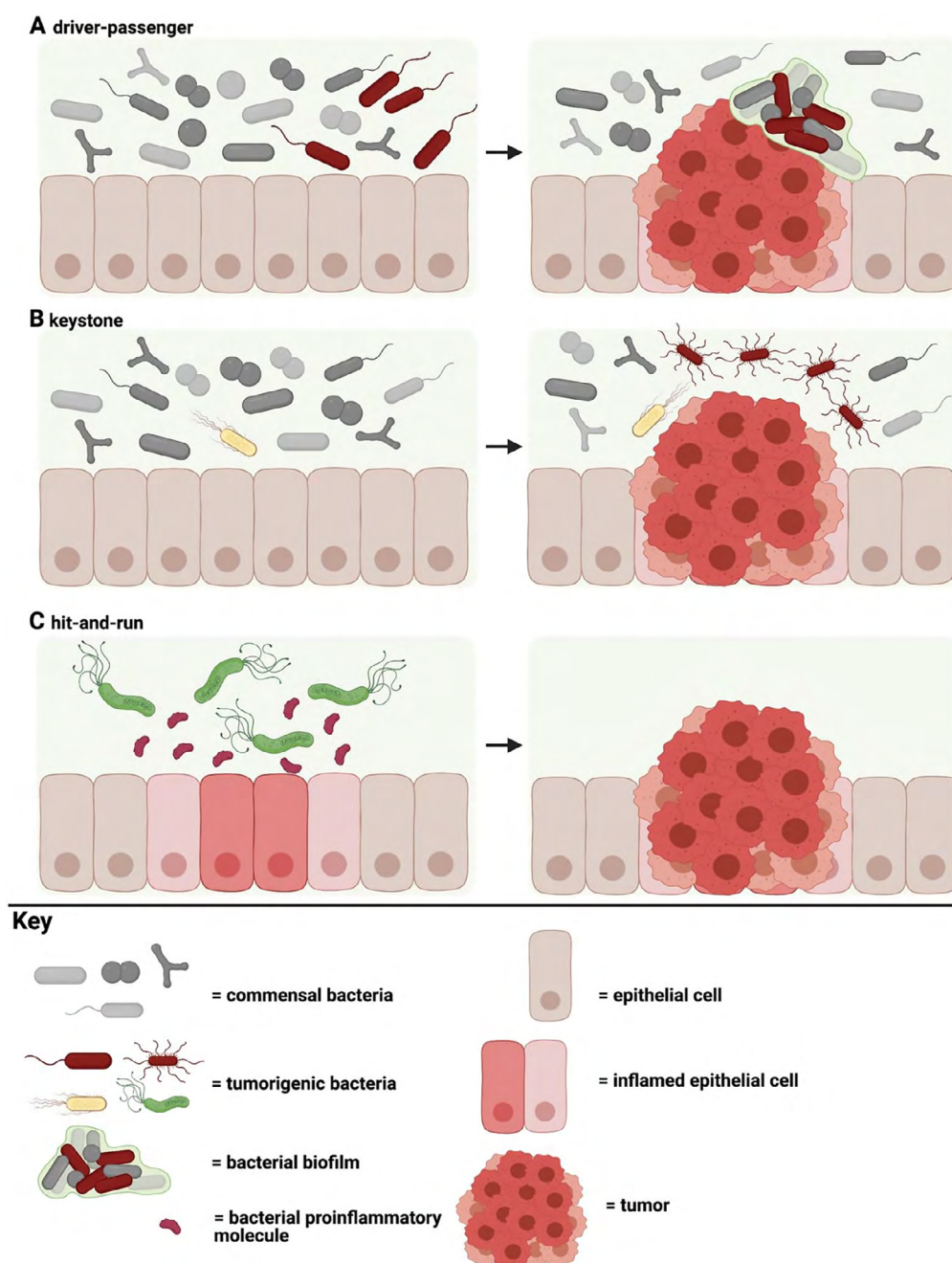
### **Microbiota y cáncer: antecedentes históricos**

La historia del cáncer y la microbiota humana se encuentra íntimamente entrelazada. Escritos que datan de 1550

a.C. en el papiro de Ebers, atribuidos al médico egipcio Imhotep (2600 a.C.), sugerían un tratamiento rudimentario para los tumores (hinchazones) que consistía en la aplicación de una cataplasma seguida de una incisión, lo que provocaba una infección. En el siglo XIII, Peregrine Laziosi describió la regresión espontánea de su tumor séptico y ulcerativo del hueso tibial que habría requerido amputación, por lo que fue canonizado en 1726. A finales del siglo XIX, después del establecimiento de la teoría germinal de las enfermedades infecciosas, Wilhelm Busch y Friedrich Fehleisen informaron de forma independiente que las infecciones por *Streptococcus pyogenes* se asociaban con regresiones tumorales espontáneas en varios pacientes. Poco después, William Coley comenzó a probar una vacuna sujeta a gran controversia –que en ciertos casos resultó letal– consistente en especies de *Streptococcus* y *Serratia* vivas o atenuadas por calor en pacientes con cáncer terminal. Más tarde esta

vacuna demostró una supervivencia libre de enfermedad superior a 10 años en ~30% de los pacientes a los que se había inoculado (60 de 210 en total), constituyendo el primer paradigma de inmunoterapia. Al mismo tiempo, Thomas Glover y Virginia Livingston-Wheeler afirmaron, de manera controvertida, que las bacterias se podían cultivar a partir de tumores y que las vacunas bacterianas eran efectivas contra el cáncer, sugiriendo el origen bacteriano de la enfermedad neoplásica. Estas primeras teorías y enfoques terapéuticos constaban de numerosos errores. Así pues, sin evidencia mecanicista, resultados irreproducibles y terapias peligrosas, la teoría bacteriana del cáncer fue descartada.

La teoría viral del cáncer ganó fuerza después del descubrimiento de Peyton Rous en 1911 de un virus oncogénico transmisible en aves domésticas. Durante décadas se inten-



**Figura 2.** Teorías de implicación bacteriana en la tumorigénesis (Knippel RJ, Drewes JL, Sears CL. *The Cancer Microbiome: Recent Highlights and Knowledge Gaps*. *Cancer Discov* [artículo de revista] 2021).

tó encontrar un virus como agente etiológico de cada cáncer, lo que permitió el hallazgo del virus de Epstein-Barr como agente causal del papiloma humano o la implicación de los virus de la hepatitis en el proceso de carcinogénesis. No obstante, al no hallar un agente vírico tras cada tipo de cáncer, la hipótesis fue sustituida por la teoría de la mutación somática.

Después de décadas de investigación, la evidencia actual señala el potencial papel de la microbiota en el diagnóstico, la patogénesis y el tratamiento del cáncer. Esta reevaluación surge de un mayor conocimiento del nº de bacterias que habita en nuestro organismo, aproximadamente igual a la cantidad de células humanas. Aunque la mayoría de las relaciones microbiota-cáncer propuestas se centran en la microbiota intestinal, estudios recientes sugieren la importancia funcional de la microbiota intratumoral.

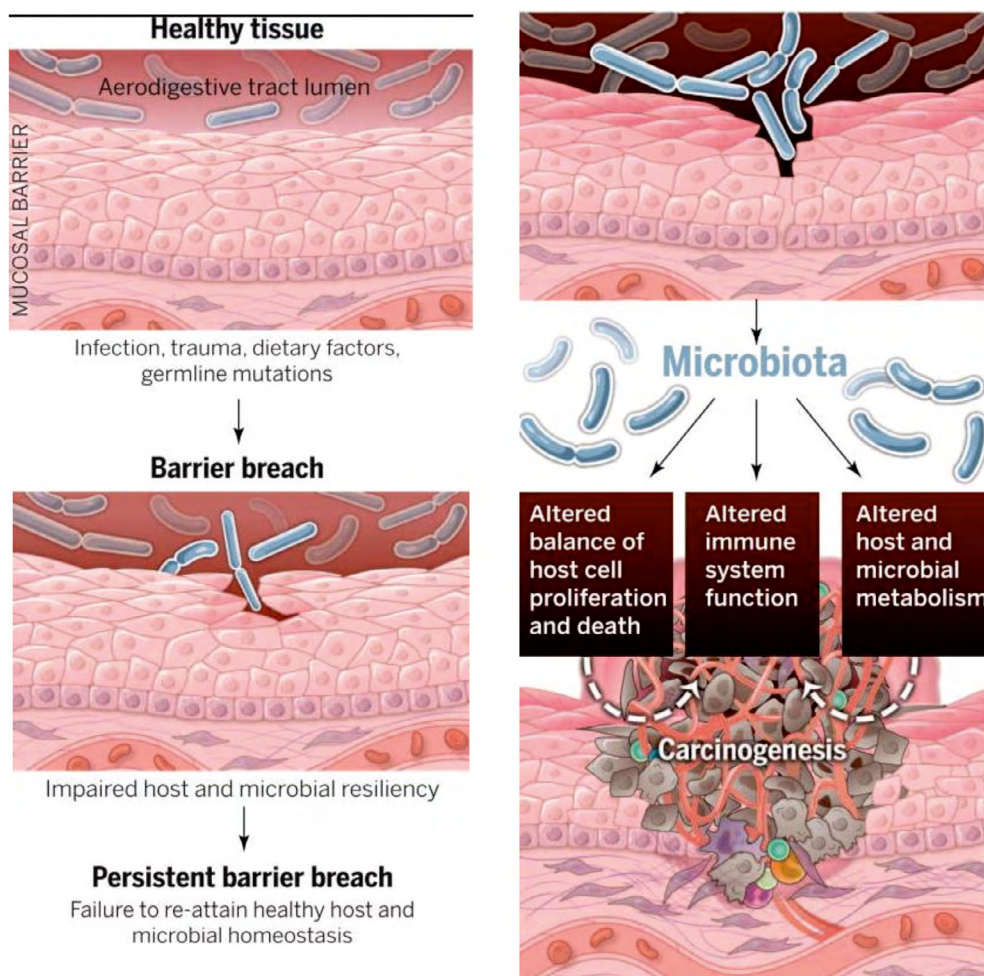
No obstante, pese a los avances en el conocimiento de esta materia, son muchas las cuestiones que quedan por responder aún: ¿Hasta qué punto los microorganismos son agentes causales, actores cómplices o espectadores pasivos? ¿Tiene propiedades terapéuticas la microbiota intratumoral? ¿Qué papel juegan los microorganismos en el diagnóstico, tratamiento, monitorización e incluso pronóstico del paciente? (3).

### Microbiota y cáncer: mecanismos implicados

La relación entre microbiota y cáncer es cuanto menos compleja. Si bien históricamente el cáncer ha sido considerado una enfermedad cuyo desarrollo está determinado por la asociación de factores genéticos y ambientales, hoy en día se sabe que en torno al 20% de los tumores malignos están condicionados por la microbiota.

Las bacterias habitantes en la mucosa pueden constituir un microambiente tumoral en las neoplasias del tracto aerodigestivo, y los microbios intratumorales pueden determinar el crecimiento y la diseminación del cáncer a través de numerosos mecanismos. De hecho, se ha demostrado que algunos microorganismos integrantes de la microbiota provocan daños en el ADN induciendo la aparición de mutaciones somáticas (4).

Sin embargo, el papel de la microbiota en el cáncer no se reduce a efectos negativos, sino que también participa de la desintoxicación de compuestos procedentes de la dieta, reduciendo la inflamación y regulando la proliferación celular. Estas propiedades hacen de la microbiota una potencial diana susceptible de manipulación para el propio beneficio del paciente (por ejemplo, enriquecimiento



**Figura 3.** Mecanismos implicados en la contribución de la microbiota al cáncer. Infecciones, traumatismos, la dieta o mutaciones germinales contribuyen a la ruptura de las barreras mucosas del organismo. En individuos sanos, la barrera es reparada rápidamente restableciéndose la homeostasis tisular. Sin embargo, la alteración de la microbiota o condiciones patológicas del huésped contribuyen a la persistencia de la ruptura de la barrera con la consiguiente pérdida de la homeostasis. Este ambiente puede favorecer las condiciones para la activación de la carcinogénesis mediada por la microbiota: (1) Desequilibrio entre proliferación y muerte celular; (2) desregulación del sistema inmune y (3) metabolismo del huésped. (Garrett WS. Cancer and the microbiota. Science [artículo de revista] 2015).

de especies bacterianas anticancerígenas sobre especies propatógenas). De hecho, las terapias antitumorales basadas en microorganismos han sido ampliamente utilizadas durante el último siglo: Desde las toxinas de Coley hasta la ingeniería microbiana y trasplantes de microbiota actuales.

Han surgido múltiples teorías sobre la participación bacteriana en la tumorigénesis; entre ellas se encuentran el modelo *driver-passenger*, la hipótesis *keystone* y el modelo *hit-and-run*. También destacan el modelo de disbiosis crónica y los cambios mediados por biopelículas en la función tisular, ambas extensiones del modelo *driver-passenger*. En el modelo de *driver-passenger* una bacteria o grupo de bacterias tumorigénicas reclutan miembros de la microbiota para contribuir al proceso de tumorigénesis. La hipótesis *keystone* establece que la presencia de una bacteria tumorigénica, incluso en muy baja concentración, permite la colonización de bacterias procancerígenas colaborativas adicionales. Por su parte, para el modelo de *hit-and-run*, la colonización y daño transitorio provocado por una bacteria pro-cancerígena son necesarios y suficientes para desencadenar el proceso de tumorigénesis (Figura 2).

Por su parte, *Garret*, establece una división de los mecanismos implicados en la relación entre microbiota y carcinogénesis en tres categorías (Figura 3):

- *Alteración del equilibrio entre proliferación y muerte de las células del huésped*
- *Regulación del sistema inmunológico*
- *Procesamiento de compuestos procedentes del metabolismo del huésped, alimentos o fármacos.*

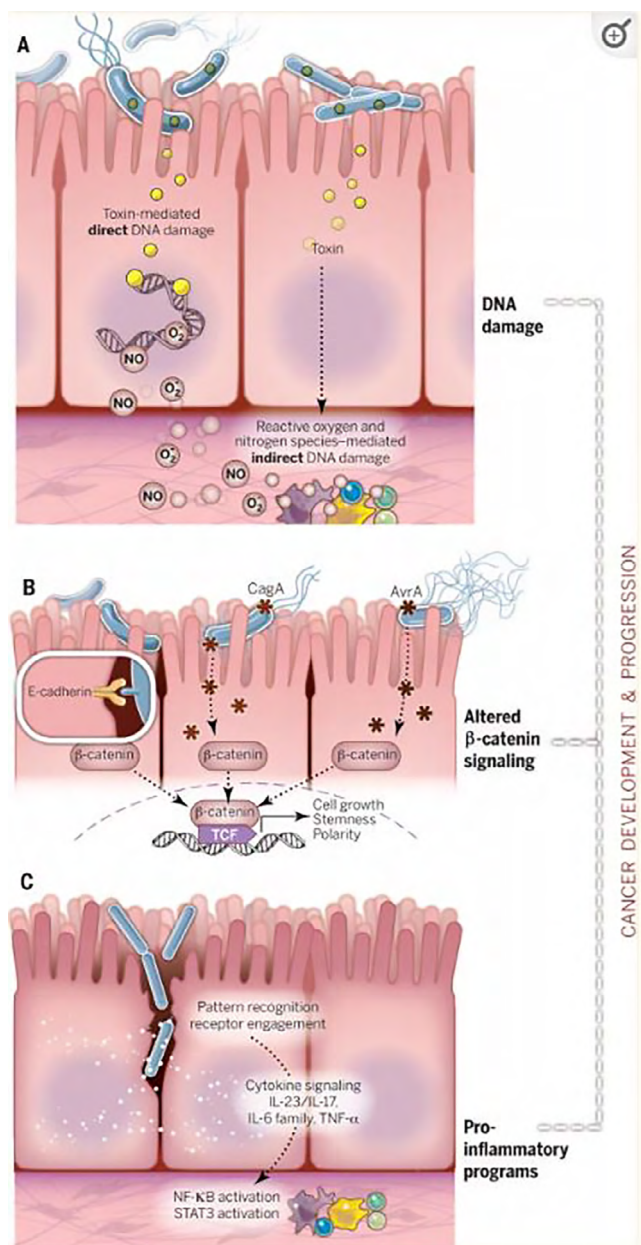
Tan solo 10 de los  $3,7 \times 10^{30}$  microorganismos que habitan en nuestro planeta son considerados como cancerígenos para el ser humano por la *Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer* (IACR).

Si bien la mayoría de ellos colonizan a gran parte de la población, solo una pequeña fracción llega a desarrollar cáncer, lo que sugiere la influencia de los genotipos microbiano y del huésped en la susceptibilidad a la enfermedad.

Los tumores de la piel, orofaringe y tractos respiratorio, digestivo y urogenital albergan microbiota, lo cual dificulta establecer una relación de causalidad entre microbiota y cáncer. De hecho, la predominancia de ciertos microorganismos en el sitio del tumor no implica una asociación o relación causal con el mismo, sino un ambiente con presión de oxígeno o fuentes de carbono favorables para satisfacer sus requerimientos nutricionales.

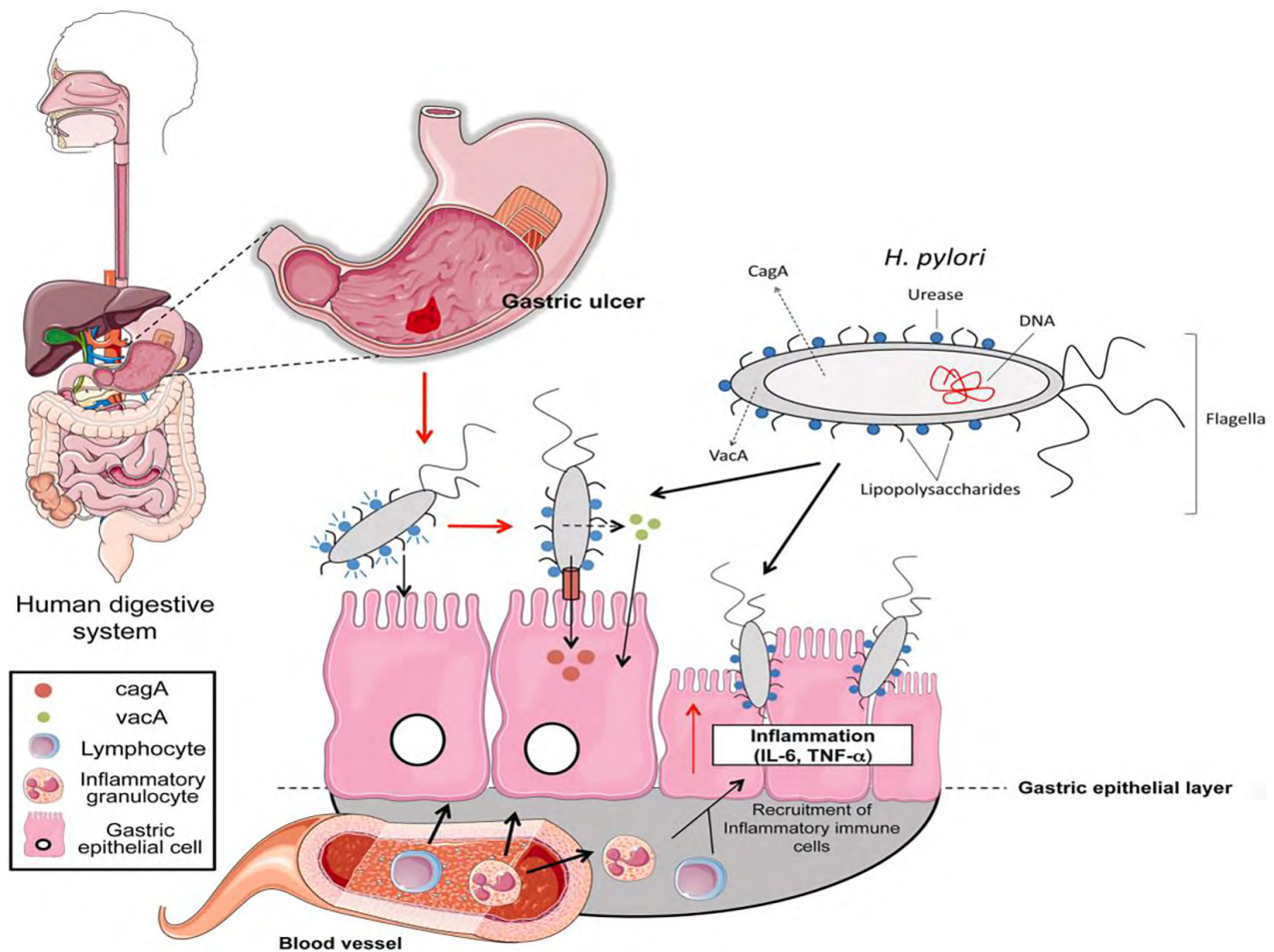
Por otro lado, el desplazamiento de ciertos microorganismos integrantes de la microbiota habitual puede suponer una mayor susceptibilidad al desarrollo de tumores locales o incluso distantes del hábitat del microorganismo.

Los microbios que desencadenan eventos de transformación en las células del huésped se denominan oncomicrobios y son bastante infrecuentes. Además de los 10 microorganismos recogidos por la IACR como oncogénicos, existen otros cuya implicación en la carcinogénesis no cuenta con evidencias suficientemente sólidas.



**Figura 4. Microorganismos en el desarrollo y progresión del cáncer. (A)** Las toxinas bacterianas pueden dañar directamente el ADN del huésped. Además, las bacterias pueden causar daños indirectos en el ADN a través de especies ROS producidas por el huésped. Así pues, cuando el daño excede la capacidad de reparación celular, se produce la muerte de la célula o mutaciones que favorecen el desarrollo de cáncer. **(B)** Las alteraciones en la vía de señalización  $\beta$ -catenina constituyen un mecanismo frecuente a través del cual los microorganismos inducen el proceso de tumorigénesis. Algunos microorganismos se unen a la E-cadherina de las células epiteliales colónicas y desencadenan la activación de  $\beta$ -catenina produciendo un crecimiento celular desregulado, adquisición de cualidades similares a las de las células madre y pérdida de polaridad celular. **(C)** Las vías proinflamatorias inducen lesiones en la barrera mucosa del tumor. La pérdida de límites entre el huésped y los microorganismos activa receptores de reconocimiento de patrones y sus correspondientes cascadas de señalización. La activación de vías como NF- $\kappa$ B y STAT3 inducen el proceso de carcinogénesis dentro de las células transformantes y no neoplásicas dentro del nicho tumoral. (Garrett WS. *Cancer and the microbiota*. *Science* [artículo de revista] 2015).

Existen oncovirus humanos que impulsan la carcinogénesis a través de la integración de oncogenes en el genoma del huésped. Es el caso del *virus del papiloma humano* (VPH), que induce la expresión de las oncoproteínas E6 y E7. Además, los últimos análisis genómicos revelan que la



**Figura 5.** Carcinogénesis mediada por *Helicobacter pylori*. Los múltiples flagelos de *Helicobacter pylori* le confieren capacidad para atravesar las capas epiteliales gástricas. En ellas, *H. pylori* induce una serie de cambios que perturban su perfil homeostático: Alteración de las uniones intercelulares, reclutamiento de células proinflamatorias, etc. Para ello, la bacteria expresa múltiples factores de virulencia imprescindibles para su supervivencia –liberación de ureasa, un importante catalizador enzimático que permite a *H. pylori* sobrevivir dentro del moco gástrico–, colonización –gracias a su multitud de flagelos–, y adhesión al epitelio gástrico –mediante adhesinas bacterianas–. Además, *H. pylori* consta de dos citotoxinas que permiten garantizar la colonización de la mucosa gástrica: Citotoxina asociada al gen *A* (*CagA*) y citotoxina vacuolizante (*VacA*). *CagA* induce la degradación proteosómica de *p53* –un gen supresor de tumores de gran relevancia– en las células epiteliales gástricas a través de la vía de señalización *AKT* del huésped. Además, *CagA* desencadena importantes cambios conformacionales en la superficie de la mucosa gástrica, como alteración de las uniones intermembrana o pérdida de la polaridad celular. Por su parte, *VacA*, expresada por la mayoría de cepas de *H. pylori*, regula la expresión de células epiteliales, células fagocíticas y linfocitos, estimulando vías de señalización celulares, reduciendo la permeabilidad de la membrana mitocondrial o alterando la compartimentación endocítica, entre otros. El desarrollo de adenocarcinoma gástrico tiene entre sus agentes causales la sobreestimulación de la respuesta inflamatoria local inducida por *H. pylori*. La colonización gástrica por la bacteria induce la liberación de citocinas proinflamatorias, como *IL-6* y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ), que a su vez inducen el reclutamiento de linfocitos y la producción de ROS, responsables de daños específicos en el ADN. (Heymann CJF, Bard JM, Heymann MF et al. The intratumoral microbiome: Characterization methods and functional impact. *Cancer Lett* [artículo de revista] 2021).

integración del genoma vírico provoca la amplificación de genes implicados en rutas relacionadas con el desarrollo de cáncer en el huésped.

Entre los mecanismos a través de los cuales la microbiota puede favorecer la aparición de cáncer se hallan la alteración de la estabilidad genómica, la resistencia a la apoptosis y la inducción de la señalización proliferativa. Numerosos microorganismos han desarrollado mecanismos defensivos contra sus competidores basados en el daño al ADN fundamentalmente. Sin embargo, estos mecanismos de defensa pueden producir eventos mutacionales que inducen la carcinogénesis.

La colibactina, codificada por el locus *pks* de *Escherichia coli* del grupo B2, constituye un paradigma de toxina oncogénica al presentar ciclopropano en su estructura, el cual al formar aductos con el ADN, podría inducir la activación de

vías implicadas en el cáncer. Otras toxinas que como la colibactina podrían constituir un potencial desencadenante del desarrollo de tumores son la toxina *Bft* de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico y la toxina de distensión citoletal (CDT) producida por proteobacterias  $\epsilon$  y  $\gamma$ .

La colibactina fue propuesta como posible molécula oncogénica tras detectarse *E. coli pks+* en numerosos casos de cáncer colorrectal. Esto ha sido respaldado por la realización de estudios en ratones infectados por *E. coli* productora de colibactina, en los cuales se observó un fenómeno de potenciación de la tumorigénesis intestinal. Al igual que la colibactina, la CDT también actúa dañando el ADN de doble cadena. No es el caso de la toxina *Bft*, la cual actúa incrementando los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), que, a su vez, al superar los mecanismos de reparación del huésped, provocan daños en el ADN (Figura 4).



Tal y como se ha mencionado anteriormente en el caso del VPH, algunos microorganismos poseen proteínas que participan en rutas implicadas en la carcinogénesis dentro del huésped. Un ejemplo es la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina, relacionada con la potencia, polaridad y crecimiento celular, la cual se halla alterada en numerosos tumores. Entre los microorganismos implicados en su alteración se encuentra *Helicobacter Pylori*. Esta bacteria expresa la proteína CagA –primera proteína bacteriana que demostró estar involucrada en la carcinogénesis–, la cual se introduce en el citoplasma celular induciendo la activación de  $\beta$ -catenina, lo cual conduce a una regulación positiva de genes implicados en la proliferación, supervivencia, migración celular y angiogénesis (Figura 5).

Las mutaciones somáticas en p53, que inactivan su función supresora de tumores y a menudo confieren propiedades oncogénicas de ganancia de función, son muy comunes en el cáncer. Los efectos supresores de tumores de p53 son impulsados por la interrupción de la vía Wnt, al impedir la unión de TCF4 a la cromatina. Este efecto supresor de tumores es completamente inhibido por la microbiota intestinal. De hecho, un único metabolito derivado del microbioma intestinal –el ácido gálico– concentra estos efectos pro-tumorales del microbioma. Así pues, la suplementación con ácido gálico de ratones con p53 mutado esterilizados intestinalmente restablece la interacción TCF4-cromatina y la hiperactivación de Wnt, induciendo así el proceso de oncogénesis. Si bien se desconoce el mecanismo a través del cual el ácido gálico anula el efecto inhibitorio sobre Wnt del gen p53 mutado, su carácter reversible abre posibles opciones preventivas y terapéuticas para el cáncer, como abordaje dietético e inhibidores o antagonistas de la síntesis del ácido gálico. También es posible que otros metabolitos derivados de la microbiota actúen como moduladores del efecto de p53 mutado, o lo hagan indirectamente a través del estroma tumoral y el sistema inmunológico.

Estos hallazgos dan cuenta de la sustancial plasticidad de las mutaciones somáticas y destaca el papel de la microbiota tumoral en la determinación de su carácter funcional (8).

*Fusobacterium nucleatum* es un microorganismo gram negativo perteneciente a la microbiota oral cuyo papel en el desarrollo de cáncer colorrectal depende de una serie de eventos moleculares, tales como la inestabilidad de microsatélites, la inducción de mutaciones genéticas específicas (a nivel del gen TP53) o fenotipo metilador de islas CpG. Asimismo, al igual que *H. pylori*, *F. nucleatum* actúa sobre la vía Wnt/ $\beta$ -catenina gracias a la expresión de FadA en su superficie, una proteína de adhesión con capacidad de unión a la E-cadherina del huésped que induce la activación de  $\beta$ -catenina. Por ello, *F. nucleatum* se asocia al desarrollo de adenomas y adenocarcinomas colorrectales. De hecho, se ha demostrado que, en asociación con determinados géneros bacterianos, como *Streptococcus*, *Campylobacter* o *Leptotrichia*, *F. nucleatum* favorece el desarrollo de cáncer colorrectal. Además, su presencia en la microbiota intratumoral se ha relacionado con tiempos de supervivencia más cortos.

Asimismo, al comparar tumores colorrectales primarios con sus tumores metastásicos asociados, se ha podido observar que *F. nucleatum* predomina tanto en el microbioma intra-

tumoral del tumor primario como en el correspondiente a los focos metastásicos. Estos datos sugieren la existencia de un proceso de co-migración de células tumorales y bacterias desde el tumor original a las metástasis. También destacan *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico y *Salmonella typhi*, los cuales activan la vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina mediante la escisión de E-cadherina a través de *Bft* y *AvrA*, respectivamente. Así pues, mientras *B. fragilis* se asocia a cáncer colorrectal, las cepas de *S. typhi* productoras de infecciones crónicas se relacionan con el desarrollo de cáncer hepatobiliar. Si bien la intervención microbiana en la vía Wnt/ $\beta$ -catenina podría constituir un mecanismo de expansión hacia nuevos tejidos, la presencia de estos microorganismos en tumores evolutivos parece indicar que la pérdida de la barrera “microorganismo-huésped” es un punto crítico en la activación de la carcinogénesis.

Otros microorganismos que podrían estar implicados en el desarrollo de tumores son los micoplasmas, cuya infección podría asociarse a cáncer de pulmón. Y es que, *Mycoplasma* sp. juega un papel fundamental en la producción de la proteína morfogenética ósea 2 (BMP2), una proteína clave en el mantenimiento de la homeostasis metabólica y el desarrollo celular. La infección sistémica por *Mycoplasma* sp. aumenta significativamente la producción de ARN de BMP2 y consecuentemente, la expresión de la proteína en células epiteliales bronquiales que fisiológicamente no expresan dicha proteína, así como en células específicas de cáncer de pulmón. Entre los mecanismos a través de los cuales BMP2 podría inducir el desarrollo de cáncer se hallan cambios postranscripcionales –estabilidad en el ARN–, que en última instancia incrementarían el potencial proliferativo de las células infectadas. Por tanto, caracterizar el impacto de la infección por *Mycoplasma* sp. en el proceso regulado por BMP2 resulta de gran interés, ya que podría influir significativamente en la tasa de crecimiento tumoral mediante alteraciones en la proliferación, diferenciación y apoptosis celular.

Por su parte, *Chlamydomphila pneumoniae* es un bacilo gram negativo responsable de más del 50% de las infecciones respiratorias en adultos. Durante décadas, numerosos autores han tratado de establecer una relación causal entre la infección por este parásito intracelular obligado y un mayor riesgo de cáncer de pulmón. En 2011, un metaanálisis reveló la existencia de un efecto dosis-respuesta, de forma que un título elevado de anticuerpos IgA frente a *C. pneumoniae* se asociaba a un riesgo elevado de cáncer de pulmón.

### Microbiota intratumoral

Durante décadas, la heterogeneidad tumoral fue atribuida a la genética intrínseca de las células neoplásicas. Sin embargo, investigaciones posteriores evidencian la influencia del denominado microambiente tumoral en la tumorigénesis. De este modo, interacciones entre la población celular tumoral y otras poblaciones celulares no malignas —fibroblastos, células endoteliales e inmunitarias—, integrantes del microambiente tumoral, contribuyen a la heterogeneidad de los tumores mediante la inducción de cambios transcriptómicos en las células malignas a medida que estos evolucionan.

En cuanto a nuestro microbioma, aún existe un grado sustancial pero indeterminado de diversidad microbiana no clasificada. Si bien estos microorganismos desconocidos pueden haber eludido las estrategias de cultivo actuales por diversas razones –falta de nutrientes en los medios de crecimiento o baja concentración–, es probable que desempeñen funciones biológicas relevantes aún no esclarecidas, entre ellas pro- o anti-tumorales (9).

Las bacterias se detectaron por primera vez en tumores humanos hace más de 100 años. Sin embargo, la baja biomasa microbiana de los distintos tumores dificulta la caracterización del microbioma tumoral. Y es que los tumores presentan un alto contenido de ADN del huésped frente al ADN bacteriano, lo que hace que sea extremadamente complejo identificar las distintas especies que componen el microbioma del tumor. No obstante, se han descrito tumores con mayor carga tumoral, como los tumores de mama. Así pues, los tumores localizados en el tejido mamario poseen un microbioma más rico y diverso que el resto de tumores. De hecho, se han detectado un promedio de 16,4 especies bacterianas vs un promedio <9 en tumores de mama y el resto de tumores, respectivamente. Además, tanto la carga como la riqueza bacteriana son mayores en las muestras de tumores de mama que las halladas en muestras de mama normales de sujetos sanos, y el tejido mamario normal adyacente al tumor presenta una carga y riqueza bacteriana intermedia entre la del tumor mamario y las muestras normales. Esto no ha sido demostrado en otros tipos de tumores, como ovario o pulmón, en los que no se ha encontrado una mayor carga bacteriana en el tejido tumoral en comparación con los tejidos normales adyacentes al tumor.

Así pues, los estudios genómicos realizados en el ámbito del cáncer han permitido conocer la existencia de una microbiota intratumoral, la cual parece ser distinta en función del tipo de tumor. Estas comunidades microbianas influyen en el desarrollo, progresión e incluso respuesta al tratamiento, por lo que podrían desempeñar un papel decisivo en la supervivencia del paciente oncológico a través de diversos mecanismos como la alteración de la inmunidad antitumoral o la migración de células epiteliales cancerosas. De este modo, la activación microbiana de factores de transcripción como JUN y FOS generan improntas genéticas cuyo efecto es programar a las células tumorales para invadir otros tejidos o reparar su ADN, entre otros. Además, la microbiota intratumoral induce el reclutamiento de células mieloides con función inflamatoria a través de la vía de señalización JAK-STAT, promoviendo la eliminación de linfocitos T y el crecimiento tumoral mediante la secreción de interleucinas y quimiocinas proinflamatorias en el entorno tumoral.

Tal y como ya se ha mencionado, la comparación de la diversidad microbiana entre diferentes tipos de tumores ha revelado que los microbiomas de tumores del mismo tipo tienden a ser más similares entre sí respecto a los microbiomas de otros tipos tumorales. De este modo, las bacterias pertenecientes a los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* son las especies más abundantes en los tumores colorrectales. Por el contrario, las proteobacterias dominan el microbioma del cáncer de páncreas, de manera similar a la composición normal del microbioma duodenal. Este hallazgo puede sugerir una migración retrógrada bacteriana desde el duo-

deno, al que se abre el conducto pancreático. Si bien las especies pertenecientes a los filos *Proteobacteria* y *Firmicutes* representan la mayoría de las secuencias bacterianas detectadas en todos los tipos de cáncer, la relación *Proteobacteria/Firmicutes* (P/F) parece variar entre los tipos de tumores. También se han detectado taxones del filo Actinobacteria, incluidas las familias Corynebacteriaceae y Micrococcaceae, principalmente en tumores no gastrointestinales.

Las bacterias intratumorales son en su mayoría intracelulares y están presentes tanto en las células cancerosas como en las células inmunes. No obstante, se desconoce si las bacterias intratumorales desempeñan un papel causal en el desarrollo del cáncer o si su presencia refleja infecciones de tumores ya establecidos. A medida que se desarrollan los tumores, su vasculatura desorganizada puede permitir la entrada de bacterias circulantes. Asimismo, el estado de inmunosupresión del paciente oncológico puede resultarles favorable para su instauración en el nicho tumoral. Por otro lado, las bacterias intratumorales pueden provenir de tejidos adyacentes, lo que puede explicar la gran similitud hallada entre el microbioma del tumor y el microbioma del entorno tumoral. No obstante, aunque la composición microbiana general de los diferentes tipos de tumores es por lo general relativamente similar a la de sus tejidos adyacentes, diversos estudios han revelado la existencia de especies bacterianas con diferente prevalencia en los tumores y en su microambiente tumoral. En cualquier caso, tanto si las bacterias desempeñan un papel causal en la tumorigénesis como si no, es interesante explorar más a fondo los efectos que las bacterias intratumorales pueden ejercer en las células cancerosas y el sistema inmunológico, así como sus interacciones con las células tumorales.

En cuanto al metabolismo de la microbiota asociada al cáncer, se ha descrito una cierta especificidad metabólico-tumoral, es decir, se han detectado diversas vías metabólicas que parecen ser exclusivas de determinados tipos de tumores. De hecho, esas rutas metabólicas podrían degradar metabolitos cuya concentración en un tipo de tumor específico está aumentada. Un ejemplo es la degradación bacteriana de hidroxiprolinas en tumores óseos. Y es que el colágeno óseo constituye la principal fuente de hidroxiprolina, hallándose elevada en numerosas patologías óseas como el cáncer de huesos. En el caso del cáncer de pulmón, las vías implicadas en la degradación de los componentes del humo de cigarrillo, tales como tolueno, acrilonitrilo o aminobenzoatos, presentan una actividad significativamente más alta respecto a otros tipos de cáncer. Sin embargo, no existe una población bacteriana específica responsable de la inducción del metabolismo de estas sustancias, por lo que quizás sea el propio entorno tumoral el desencadenante de la activación de estas rutas metabólicas en los pacientes con cáncer de pulmón.

Este enriquecimiento metabólico ha sido descrito igualmente en tumores de mama. En concreto, las vías metabólicas cuya actividad se halla incrementada en estos tumores son la desintoxicación de arseniato –un carcinógeno inductor de la expresión del *receptor de estróge-*

nos (ER) en tumores de mama– y la biosíntesis de micotiol –metabolito empleado por la microbiota tumoral para contrarrestar los efectos de las ROS–. De hecho, se ha comprobado que los tumores de mama ER+ presentan un mayor índice oxidativo en comparación con los tumores ER–, por lo que la síntesis de micotiol puede constituir un mecanismo de supervivencia bacteriana en el microambiente tumoral ER+. Asimismo, se ha descrito una mayor proporción de rutas enzimáticas implicadas en la respiración anaeróbica en muestras tumorales respecto al tejido mamario adyacente. Todos estos hallazgos ratifican la existencia de una conexión entre las funciones bacterianas y las características intrínsecas de cada tipo tumoral.

En cuanto a los géneros bacterianos integrantes de la microbiota intratumoral de tumores de mama, se ha descrito que, pese a que tanto el tejido mamario sano como el tejido mamario tumoral se hallan colonizados por *Bacteroidetes* y *Firmicutes* fundamentalmente, las muestras de tejido tumoral presentan una mayor proporción de *Firmicutes/Bacteroidetes* respecto a las muestras de tejido sano, lo que corrobora la implicación de la microbiota intratumoral en el proceso tumorigénico.

En vista de lo aquí expuesto, la pertenencia de los microorganismos al microambiente tumoral implica que el microbioma de un tumor pueda verse afectado tanto por el propio proceso de carcinogénesis como por tratamientos exógenos, tales como la quimioterapia o la inmunoterapia. De este modo, el microbioma intratumoral puede constituir una potencial herramienta diagnóstica e incluso pronóstica de la enfermedad neoplásica. Así pues, la composición específica de la microbiota intratumoral podría ofrecer una instantánea de las características tumorales, y, por ende, ser de utilidad en la monitorización de la enfermedad.

### Sistema inmunológico, microbiota y cáncer

El sistema inmunológico es una fuerza dominante en el control del cáncer, y los defectos en la inmunidad contribuyen no sólo a la carcinogénesis y la progresión del cáncer, sino también a respuestas deficientes a la terapia antitumoral. Es más, la evidencia científica actual defiende la necesidad de preservar la inmunidad sistémica general para una adecuada respuesta a la inmunoterapia.

Las barreras de las superficies mucosas posibilitan la existencia de una relación de simbiosis entre los microorganismos y el huésped. Estas barreras se hallan expuestas a agresiones constantes y deben restablecerse rápidamente para recuperar la homeostasis. De este modo, estados de inmunosupresión en el huésped pueden inducir las condiciones necesarias para favorecer la carcinogénesis. Tanto procesos tumorales como inflamatorios pueden desencadenarse a partir de la ruptura de estas barreras, ya que son escenarios para los que tanto el sistema inmune del huésped como los microorganismos no han coevolucionado. De hecho, la ruptura de estas barreras permite a los microorganismos potenciar las respuestas proinflamatoria e inmunosupresora en microambientes tumorales.

### Respuesta proinflamatoria y cáncer

El estado de inflamación existente en diversas patologías como la EII o la obesidad favorece un ambiente pro-cancerígeno. Así pues, determinados factores como las ROS, citocinas o quimiocinas proinflamatorias inducen el crecimiento y diseminación del tumor.

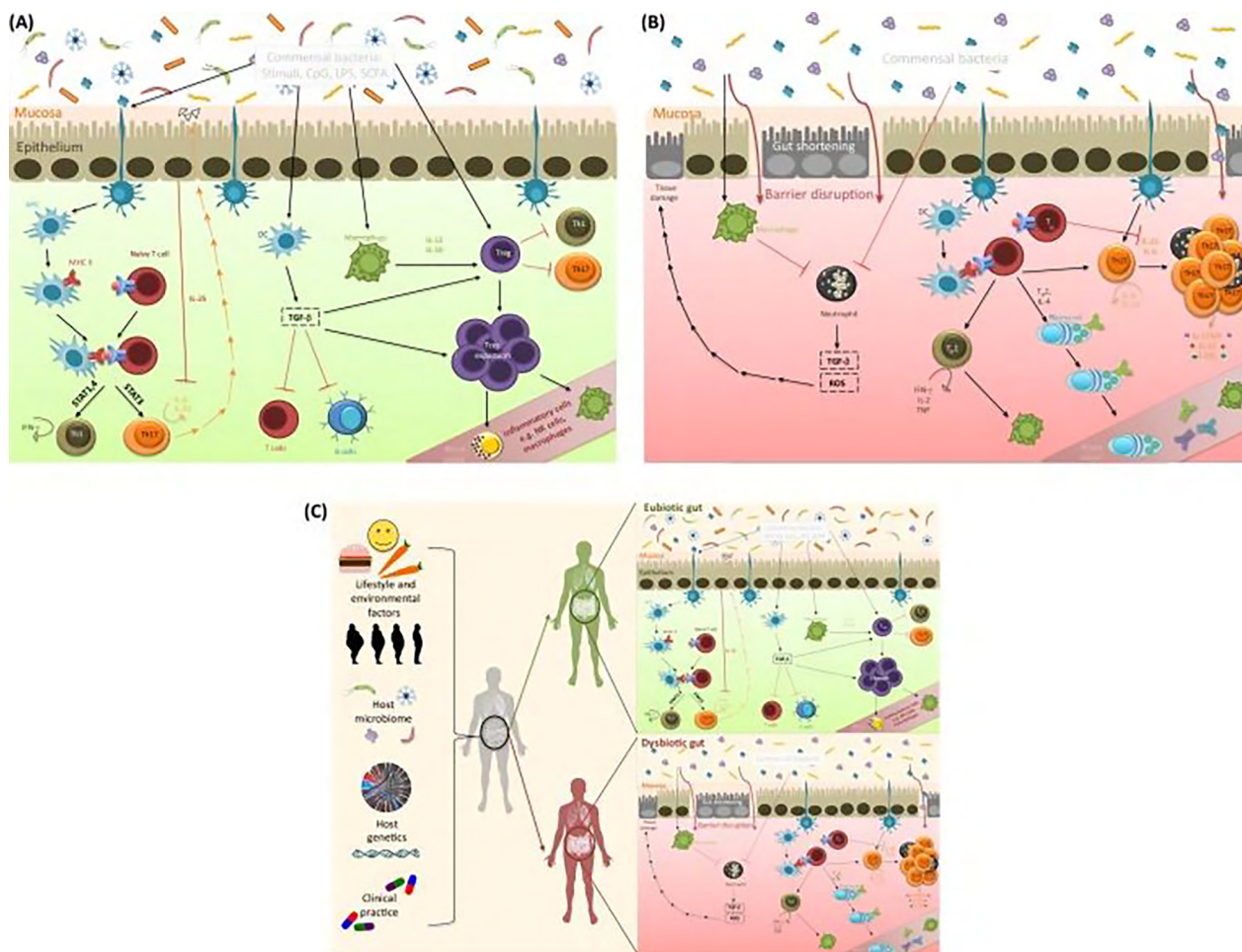
NF- $\kappa$ B constituye un componente esencial en la inflamación asociada a cáncer cuya activación está mediada por receptores de reconocimiento de patrones *Toll-like*, entre otros. Numerosos microorganismos como *F. nucleatum* activan esta vía de señalización. No obstante, el mecanismo a través del cual esta bacteria desencadena la cascada inflamatoria NF- $\kappa$ B no está dilucidado, por lo que se sostienen dos hipótesis: La activación de receptores o la vía FadA-E-cadherina.

Otros receptores de reconocimiento de patrones implicados pertenecen a las familias NOD-2, NLRP3, NLRP6 y NLRP12. Estudios llevados a cabo en ratones evidencian una mayor susceptibilidad al cáncer colorrectal asociado a colitis en aquellos que presentan déficit de receptores NLR.

Una vez se produce la ruptura de las barreras mucosas tiene lugar la activación del sistema inmunológico innato, para posteriormente producirse una respuesta inmunitaria adaptativa. Ambas participan de la inducción de la progresión tumoral. Entre las vías inmunitarias innatas y adaptativas implicadas en el crecimiento y evolución del tumor se hallan el eje IL-23/IL-17, la vía de señalización del TNF- $\alpha$ , IL-6 o STAT3.

La microbiota se adapta a los cambios sufridos por el huésped, siendo uno de esos cambios los procesos inflamatorios. Como consecuencia de esta adaptación, los microorganismos pueden pasar a tejidos inadecuados imposibilitando la reparación de la mucosa, la homeostasis inmunitaria o el mantenimiento de la barrera “microorganismo-huésped” (Figura 6). Este fenómeno ha sido estudiado en modelos de ratón susceptibles a desarrollar tumores a los que se administra azoximetano, una genotoxina y sulfato de sodio dextrano –responsable de la alteración de la barrera mucosa–, que, administrados concomitantemente, aceleran el proceso de tumorigénesis. La microbiota de estos ratones refuerza la hipótesis que sostiene que alteraciones en el sistema inmune del huésped, tanto de origen genético como mediado por genotoxinas, junto a un estímulo inflamatorio, ejercen un efecto seleccionador de microorganismos pertenecientes a la microbiota con capacidad de adhesión a las superficies del huésped, invasión de tejidos y activación de mediadores inflamatorios. De este modo, la microbiota fecal de modelos de ratón deficitarios de NOD2 o NLRP6 adquiere características que favorecen la susceptibilidad de los ratones de tipo salvaje a cáncer colorrectal asociado a colitis.

En ratones, la microbiota intestinal regula la tumorigénesis colónica con independencia de las alteraciones genéticas. Así pues, cuando ratones libres de microorganismos fueron colonizados con microbiota de ratones con o sin cáncer colorrectal asociado a colitis, y tratados posteriormente con agentes tumorigénicos, los ratones receptores



Trends in Immunology

**Figura 6. Eubiosis y disbiosis en el intestino.** Hay características que distinguen un intestino eubiótico o sano, de uno disbiótico o no saludable. (A) Un intestino eubiótico presenta un epitelio intestinal intacto, determinante para absorber nutrientes y proteger la membrana mucosa contra bacterias patógenas. (B) En un estado disbiótico (inflamación o infección), se produce una elevación de citoquinas proinflamatorias que impulsan a las células dendríticas (CD) y las células Th17 y Th1. Además, la disbiosis induce una mayor producción de ROS, lo que provoca un mayor daño tisular, a diferencia de un intestino sano, donde la protección del tejido está estrechamente regulada por la inmunidad de la mucosa entre los mecanismos inmunitarios innatos y adaptativos. La presentación de antígenos por CD y células de primera respuesta, como mastocitos y macrófagos, impulsa la respuesta inmunitaria celular a través de linfocitos Th1 y células T reguladoras, así como mediante la liberación de citoquinas clave, como la IL-12. (C) La eubiosis y la disbiosis a menudo están influenciadas por una serie de componentes multifactoriales complejos, como factores ambientales, disregulación inmune, genética, epigenética, microbiota y salud general.

de microbiota intestinal de donantes con cáncer colorrectal desarrollaron más tumores. Sin embargo, no todos los efectos son pro-cancerígenos sino que la microbiota también ejerce un papel protector frente a la tumorigénesis, según otros estudios.

Asimismo, la inflamación induce la generación de especies aceptoras de electrones, como nitrato, etanolamina y tetraionato, que son utilizados por determinados clados bacterianos como nutrientes. Es el caso de *E. coli* o *Salmonella* spp., que, si bien presentan un efecto pro-inflamatorio, aún queda por esclarecer si el metabolismo microbiano de estos aceptores de electrones favorece el crecimiento del cáncer.

### Inmunosupresión y cáncer

Además de su contribución a la respuesta inmunológica inflamatoria, los microorganismos pueden inducir un estado de inmunosupresión en el huésped. Así pues, los microorganismos pueden comportarse como patógenos "oportu-

nistas" en caso de inmunosupresión o bien debilitar el sistema inmunológico.

Un ejemplo de inmunosupresión sistémica crónica es la infección por el *virus de la inmunodeficiencia humana* (VIH), que incrementa el riesgo de desarrollar numerosos tipos de cáncer. La inmunosupresión inducida por el virus compromete a su vez la inmunidad antitumoral. Por ello, en la actualidad, la gran mayoría de terapias antitumorales tienen como objetivo potenciar la respuesta inmune del huésped.

Hasta el momento, la mayoría de las investigaciones realizadas sobre el impacto de la microbiota en la respuesta inmune del huésped al tratamiento antitumoral se han llevado a cabo en pacientes con cáncer de páncreas. Utilizando modelos de ratón con *adenocarcinoma ductal pancreático* (PDA), se ha podido comprobar que determinadas especies bacterianas halladas dentro de los tumores de páncreas suprimen la respuesta inmune del huésped, tanto innata como adaptativa. Esta inmunosupresión

implicaría a su vez la estimulación del proceso de carcinogénesis. Entre las especies más abundantes dentro de la microbiota intratumoral del cáncer de páncreas se halla *Bifidobacterium pseudolongum*, cuya abundancia es menor en tejido pancreático sano. De este modo, la activación de receptores de reconocimiento de patógenos mediada por una microbiota intratumoral específica –tanto cuali como cuantitativamente– aceleraría la oncogénesis al inducir la supresión de las respuestas inmunes innata y adaptativa, cuyos mecanismos se describen a continuación.

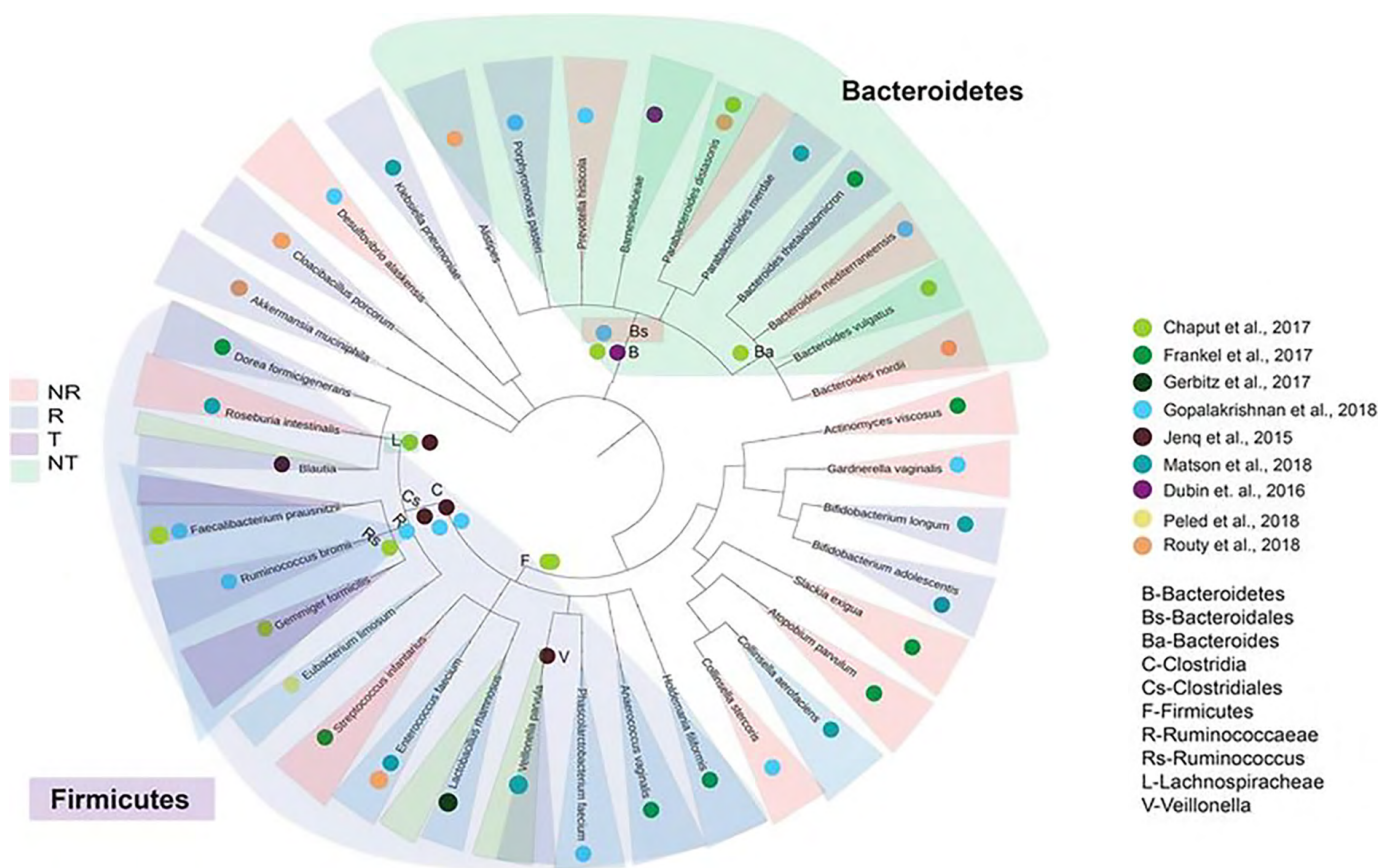
El microbioma del PDA induce una mayor expresión de receptores Toll-like (TLRs) en la superficie de macrófagos próximos. Esto les capacita como *macrófagos asociados a tumores* (TAM), cuya función es aumentar la tolerancia inmune del tumor. Así pues, en estudios llevados a cabo en modelos de ratón, la reducción/supresión de la microbiota intratumoral induce el restablecimiento de las funciones inmunogénicas, de manera que los ratones con menor microbiota muestran niveles más altos de células T intratumorales. Además, los niveles de TAM M1 son superiores a los de TAM M2, lo que se traduce en una mayor expresión de MHC-II, y, por tanto, en una mayor diferenciación de linfocitos T CD4+ en linfocitos Th1, y mayor activación de linfocitos T CD8+, –los cuales podrían eliminar directamente las células tumorales considerándose el componente más importante de la inmunidad antitumoral– así como en una mayor liberación de citoquinas proinflamatorias en la periferia tumoral (TNF-α e IL-6). Por tanto, el descenso de la

carga microbiana del tumor induce la ralentización de la enfermedad tumoral.

Asimismo, la eliminación microbiana intratumoral aumenta la capacidad de respuesta de los ratones con PDA a la inmunoterapia al regular positivamente la expresión de la *proteína de muerte celular programada 1* (PD-1) (10).

Sin embargo, estos hallazgos son contrarios a los concluidos por otros estudios en los que mediante secuenciación del ARN 16S, lejos de clasificar a *Bifidobacterium pseudolongum* como microorganismo pro-carcinógeno, este ejercería efectos antitumorales. De hecho, según los autores la administración exógena vía oral de *Bifidobacterium* controla la progresión del tumor en el mismo grado que la terapia con anticuerpos específicos del *ligando 1 de muerte programada* (PD-L1), mientras la terapia combinada prácticamente cesa la progresión del tumor.

Pese a las investigaciones cada vez más frecuentes sobre la implicación del microbioma en la patogénesis del PDA, el microbioma no ha sido incluido en la mayoría de estudios. Aykut et al. demostraron que los hongos migran desde la luz intestinal al páncreas. De hecho, el PDA alberga aproximadamente 3000 veces más carga fúngica que el páncreas normal tanto en ratones como en humanos. Además, el microbioma intratumoral del PDA se caracteriza por la predominancia del género *Malassezia*. Se ha comprobado que la eliminación de la carga fúngica



**Figura 7.** Árbol filogenético como representación de la relación entre microbiota intestinal, resultados del tratamiento y toxicidad en pacientes con cáncer. Se construyó un árbol filogenético utilizando distancias evolutivas con el software phyloT (para representar la similitud filogenética —o la falta de ella— de todos los taxones bacterianos asociados con la respuesta o la toxicidad a ICI en estudios humanos (R= respuesta al tratamiento, azul claro; NR= ausencia de respuesta, rojo claro; T= toxicidad, verde claro; NT= no toxicidad, violeta claro) (Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res* [artículo de revista] 2021).

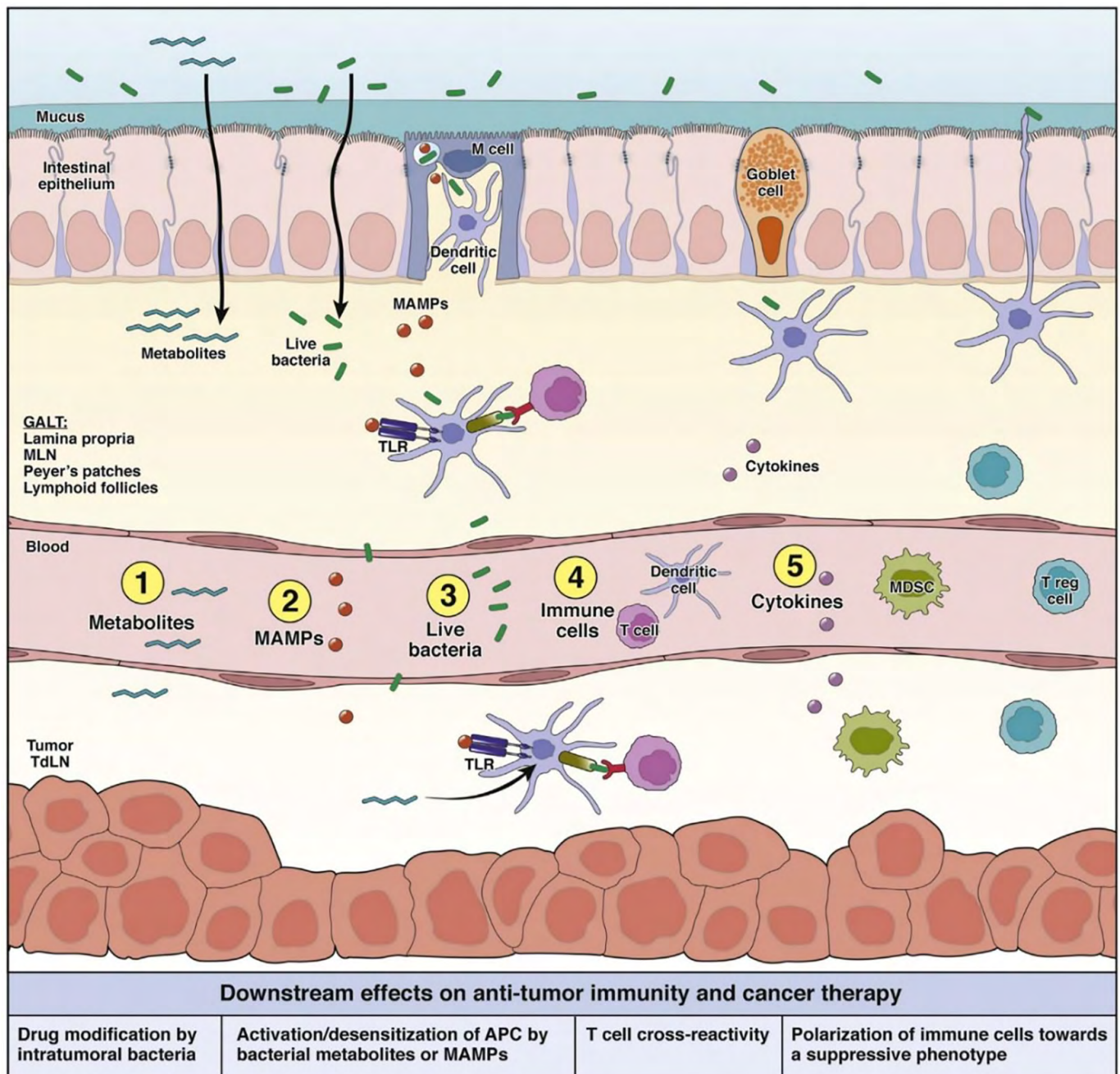
intratumoral confiere protección en modelos de PDA lentamente progresivos e invasivos, mientras que la repoblación con *Malassezia* acelera el proceso de oncogénesis. Paralelamente, los autores descubrieron el papel de la *lectina de unión a la manosa* (MBL) –que se une a los glicanos de la pared fúngica para activar la cascada del complemento– en la progresión oncogénica. En contraste, la eliminación de MBL o C3 del compartimento extratumoral o la eliminación de C3aR en células tumorales ejercen efectos protectores (11).

Son necesarios pues estudios adicionales que permitan esclarecer los efectos de la microbiota intratumoral –tanto

bacteriana como fúngica– en la respuesta inmunológica para llevar a cabo una correcta manipulación de la misma –enriquecimiento o reducción– con el fin de obtener efectos beneficiosos en el paciente oncológico.

**Microbiota e inmunoterapia y quimioterapia**

El desarrollo de tumores está estrechamente relacionado con el sistema inmunológico, de modo que los efectos de la microbiota sobre la progresión y la terapia antitumoral podrían estar mediados por la modulación del sistema



**Figura 8.** Efectos de la microbiota intestinal sobre la inmunidad antitumoral y la inmunoterapia. La microbiota intestinal podría modular los resultados de la inmunoterapia estimulando o inhibiendo la inmunidad antitumoral. Los mensajeros que podrían transportar señales desde el intestino y/o los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT) al tejido tumoral distante incluyen: (1) Metabolitos bacterianos que ingresan a la circulación y regulan la expresión génica celular; (2) patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), que pueden modular la inmunidad innata mediante señales a través de receptores de reconocimiento de patrones, como los TLR; (3) bacterias viables completas, que tras entrar en circulación podrían afectar las respuestas inmunes o la actividad de los fármacos en tejidos tumorales distantes; y (5) las citocinas, que podrían liberarse en el GALT en respuesta a estímulos microbianos e ingresar en el torrente circulatorio y regular sistemáticamente las funciones inmunes posteriores. APC: Célula presentadora de antígeno; MDSC: Célula supresora derivada de mielóide; MLN: Ganglio linfático mesentérico.

inmune. De hecho, las evidencias clínica y preclínica respaldan el papel de las bacterias intestinales en la modulación de la eficacia de la quimioterapia y la inmunoterapia en diversos cánceres.

Los marcadores de respuesta a la terapia contra el cáncer han evolucionado y ahora incluyen factores que van mucho más allá de los marcadores centrados en tumores establecidos, lo que proporciona un paradigma más holístico que incorpora multitud de factores que influyen en la respuesta terapéutica. Estos modelos más nuevos incluyen componentes que contribuyen al estado inmunológico general y al microambiente tumoral –como las células T CD8+– o que inhiben la respuesta inmunitaria –como las células supresoras derivadas de mieloides– (12).

Para determinar si una firma microbiana intratumoral específica se correlaciona con la respuesta a la inmunoterapia, *Nejman* et al. compararon los melanomas metastásicos de pacientes que respondieron a *inhibidores de puntos de control inmunitario* (ICI) (n = 29) con los de pacientes que no respondieron (n = 48). Si bien no encontraron cambios significativos en la carga bacteriana entre los que respondieron y los que no respondieron a ICI, sí hallaron múltiples taxones que fueron más o menos abundantes en los melanomas de los que respondieron en comparación con los que no respondieron. Los taxones que fueron más abundantes en los tumores de los pacientes respondedores incluyeron *Clostridium*, mientras que *Gardnerella vaginalis* fue más abundante en los tumores de los no respondedores (13). Por su parte, *Letunic* y *Bork* elaboraron un árbol filogenético que sintetiza los vínculos entre el microbioma intestinal, los resultados de tratamiento y las toxicidades en poblaciones de pacientes con cáncer (Figura 7) (13).

Un punto de consenso hallado en la mayoría de estudios actuales es la capacidad de la microbiota intestinal para ejercer efectos sistémicos sobre el sistema inmunológico condicionando los resultados terapéuticos de las terapias antitumorales. Por tanto, establecer los mecanismos de la inmunomodulación mediada por la microbiota intestinal es un área activa de investigación que requiere el esclarecimiento de las vías de comunicación entre la microbiota intestinal y el sistema inmunológico (Figura 8).

En un estudio llevado a cabo por *Uribe-Herranz* et al. cuyo objetivo fue evaluar el impacto de la composición de la microbiota intestinal en la eficacia de la *terapia adoptiva con células T* (ACT), se demostró que la modificación de la composición nativa de la microbiota intestinal –mediante tratamiento antibiótico o transferencia fecal heteróloga– podría suponer una mejoría en la eficacia de esta terapia en ratones con cáncer de cuello uterino TC1 que expresa VPH E6/7. La eficacia de la ACT se vio aumentada con la administración de vancomicina, si bien no cambió cuando se administró una combinación de neomicina y metronidazol. Esta mejora en la eficacia de la ACT fue asociada por los autores a un aumento sistémico de células dendríticas CD8α+ e IL-12p70, así como a una expansión más efectiva de las células T antitumorales transferidas en los animales que recibieron vancomicina. En cuanto a las especies microbianas implicadas en este mecanismo inmunológico antitumoral promovido por la administración antibiótica de vancomicina, parecen pertenecer a la familia *Bacteroidales* S24-7.

Dichas especies se hallaron en los animales tratados con vancomicina que presentaron una reducción de la masa tumoral (15).

Por otro lado, *Gopalakrishnan* et al. descubrieron la implicación del microbioma intestinal en la modulación de la respuesta a la inmunoterapia anti PD-1 en pacientes con melanoma. Los autores propusieron que los pacientes con un microbioma intestinal "favorable" (alta diversidad y abundancia de *Ruminococcaceae/Faecalibacterium*) presentaban mejores respuestas inmunes sistémicas y antitumorales gracias a una mayor presentación de antígenos y una función mejorada de las células T efectoras en la periferia y el microambiente tumoral. Por el contrario, los pacientes con un microbioma intestinal "desfavorable" (baja diversidad y alta abundancia relativa de *Bacteroidales*) presentaron peores respuestas inmunes sistémicas y antitumorales debido a una infiltración linfocítica y mielocítica intratumoral limitada y a una capacidad de presentación de antígenos debilitada. Estos hallazgos respaldan la utilidad terapéutica de la modulación del microbioma intestinal en pacientes que reciben inmunoterapia a través de ICI y justifican la evaluación de la microbiota intestinal como potencial fase adicional del proceso terapéutico (16).

Quizás una de las primeras demostraciones del papel de la microbiota intestinal en la respuesta y la toxicidad de la terapia contra el cáncer fue en el contexto del alo-TCMH –una de las primeras formas efectivas de inmunoterapia contra el cáncer– para neoplasias malignas hematológicas. La disbiosis y el deterioro de la inmunidad sistémica son bastante comunes en estos pacientes, ya que a menudo son tratados con terapias concurrentes que alteran significativamente la inmunidad y la composición de la microbiota intestinal, incluidos inmunosupresores, antibióticos de amplio espectro e incluso irradiación corporal total. De este modo, sería plausible el planteamiento de hipótesis que asocian la disbiosis intestinal a la alteración en la respuesta y el desarrollo de toxicidad al tratamiento. Análisis basados en la evaluación de muestras fecales han demostrado una alteración del estado de equilibrio de la microbiota intestinal después del TCMH con una disbiosis relativa y una pérdida de diversidad bacteriana, estabilidad y dominancia de enterococos, estreptococos y varias proteobacterias. Asimismo, los géneros *Faecalibacterium* y *Ruminococcus* se vieron reducidos.

La disbiosis en el contexto del TCMH también se ha asociado con diferencias en la supervivencia a largo plazo, ya que los pacientes con menor diversidad microbiana intestinal en el momento del TCMH presentaron una supervivencia global más corta y tasas de mortalidad más altas –específicamente la mortalidad relacionada con el trasplante– en comparación con los pacientes que contaban con una microbiota intestinal más diversa. Este hallazgo se vio reforzado por otros estudios, en los que se asociaron niveles bajos de sulfato de 3-indoxilo (orina) a una peor supervivencia post-TCMH. Este metabolito es un subproducto del metabolismo del L-triptófano por la microbiota intestinal y constituye un marcador de disbiosis bacteriana. Además de la diversidad, también se han evaluado las diferencias en la composición de la microbiota

intestinal en la respuesta y supervivencia tras el TCMH. Así pues, una mayor abundancia de bacterias del género *Blautia* se asocia con una mejor supervivencia, mientras que una mayor carga bacteriana de *Eubacterium limosum* se asocia con un menor riesgo de recaída.

Además de su implicación en la respuesta al tratamiento antitumoral y la supervivencia del paciente, la influencia de la microbiota intestinal también se ha evaluado en el contexto de la toxicidad del TCMH, en particular con respecto a la *enfermedad de injerto contra huésped* (EICH). Esta entidad se caracteriza por la activación masiva de células inmunitarias del donante (principalmente células T) causando daños significativos en variedad de órganos, incluidos la piel, el hígado, el intestino o los órganos hematopoyéticos. La susceptibilidad a la EICH varía según el tipo y extensión del régimen de acondicionamiento, el grado de discrepancia del *antígeno leucocitario humano* (HLA) y el estado de activación de las células del donante. La EICH aguda grave tiene una probabilidad de supervivencia a largo plazo inferior al 5%, mientras que la EICH crónica también se asocia a una morbilidad y mortalidad significativa.

La aparición de EICH aguda se asocia con cambios significativos en la composición de la microbiota, como una pérdida de diversidad microbiana general o una reducción de anaerobios obligados, como *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* y *Blautia*, así como a la predominancia de *Enterococcus* y *Clostridiales*. Jenq et al. demostraron que una mayor carga bacteriana del género *Blautia* de la clase *Clostridia* se relaciona con una reducción de la letalidad de la EICH en dos cohortes independientes de pacientes sometidos a tratamiento con alo-TCMH. Por otra parte, la microbiota intestinal también puede verse afectada por el tratamiento con antibióticos para las complicaciones infecciosas durante el TCMH, existiendo diferencias en la mortalidad asociada a la EICH en función del régimen antibiótico.

La modulación de la microbiota intestinal para evitar la toxicidad ha sido estudiada en modelos preclínicos, aunque obteniendo resultados mixtos. En un estudio realizado en ratones cuyo objetivo fue la evaluación de la administración del probiótico *Lactobacillus rhamnosus GG* en monoterapia o en combinación con ciprofloxacino antes y durante el TCMH, los resultados revelaron que la terapia probiótica se asociaba con un menor índice de casos de EICH y una mayor supervivencia global. Así pues, la suplementación probiótica podría constituir una estrategia de preservación de la integridad bacteriana intestinal en los pacientes tratados con TCMH. Sin embargo, los resultados de los estudios llevados a cabo en humanos son más heterogéneos. Mientras los primeros estudios demostraron tasas reducidas de EICH en pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro antes del TCMH, estudios más recientes han demostrado efectos perjudiciales en el uso de antibióticos, existiendo una mayor tasa de EICH. Actualmente, la modulación de la microbiota intestinal mediante modificaciones dietéticas o TMF constituye una vía de investigación cuyo fundamento es el estado eubiótico como inhibidor del desarrollo de EICH. Si bien, estas líneas de investigación se encuentran aún en fases muy tempranas, siendo necesaria la evaluación de la viabilidad y seguridad de esta potencial estrategia terapéutica adyuvante (17).

La microbiota intestinal también constituye una fuente de antígenos que pueden ser reconocidos por las células M intestinales y posteriormente transportados a las placas de Peyer, donde desencadenan respuestas de células B específicas de antígeno que inducen la expansión de células plasmáticas secretoras de IgA. Asimismo, las células caliciformes, cuya función principal es la secreción de moco, podrían transportar antígenos bacterianos desde la luz intestinal hacia *células presentadoras de antígenos* (CPA), como CD y macrófagos en la lámina propia. No obstante, estas células también pueden captar antígenos bacterianos a través de dendritas transepiteliales que se proyectan hacia la luz intestinal. Así pues, las CPA transportan dichos antígenos a los folículos linfoides de la lámina propia o a los ganglios mesentéricos para activar las células T específicas de antígeno. Además, las CPA pueden salir del GALT y entrar en el torrente sanguíneo, por lo que pueden transportar antígenos bacterianos vía sistémica.

Los mecanismos moduladores de la microbiota intestinal sobre la eficacia y la toxicidad del tratamiento antitumoral se pueden clasificar de la siguiente manera: Translocación, metabolismo, reducción de la diversidad, degradación enzimática e inmunomodulación. Así pues, los agentes quimioterápicos alteran la integridad de la barrera intestinal facilitando la translocación de bacterias comensales a la circulación sanguínea. Un ejemplo de ello es la ciclofosfamida, la cual promueve la translocación de bacterias grampositivas a órganos linfoides secundarios, donde inducen la generación de células Th1 y Th17. También lo es la cicloheximida, al inducir la translocación de *Enterococcus hirae* desde el intestino a los ganglios linfáticos mesentéricos y el bazo, que resulta en una mejor respuesta inmune antitumoral en estudios realizados en ratones. Esta mejora en la respuesta inmune antitumoral podría estar mediada por un antígeno transportado por *E. hirae* que presenta reacción cruzada con un antígeno tumoral. El concepto de reactividad cruzada de antígenos como factor estimulante de la inmunidad antitumoral podría tener implicaciones más allá del contexto de la terapia con cicloheximida. De hecho, la expresión de neoantígenos tumorales homólogos a péptidos derivados de enfermedades infecciosas constituye uno de los factores predictivos de la supervivencia a largo plazo de los pacientes con cáncer de páncreas.

La relevancia clínica de *E. hirae* como microorganismo anticancerígeno se ha confirmado en pacientes con cáncer de pulmón y ovario avanzados tratados con ciclofosfamida o anticuerpos anti-PD-1, para quienes las respuestas inmunes Th1/Tc1 (contra *E. hirae*) se han asociado con una supervivencia libre de progresión prolongada. Otras investigaciones han revelado cierta correlación entre las respuestas de las células T CD8+ específicas para *E. hirae* en sangre y el pronóstico de hepatocarcinoma. De hecho, el tiempo de supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con hepatocarcinoma después de la cirugía se ha asociado con el nivel de células T CD8+ reactivas a *E. hirae*.

En la disbiosis inducida por antibioterapia, la administración oral de una fórmula probiótica basada en la cepa EH13144 fue suficiente para desencadenar una respuesta



de células T citotóxicas IFN $\gamma$ + CD8+ específicas para el antígeno tumoral y una disminución de las células T reguladoras intratumorales asociadas con el control del tumor. Estas mismas propiedades inmunológicas mostraron ratones disbióticos sometidos a TMF de pacientes con cáncer de mama a los que se administró el preparado probiótico basado en *E. hirae*. Estos efectos adyuvantes de carácter inmunológico parecen depender de varios componentes de la membrana (como los ligandos NOD2 o ligandos TLR2). De hecho, los enterococos con actividad peptidoglucano hidrolasa NlpC/p60 pueden generar muropéptidos activos NOD2 y modular la eficacia de la inmunoterapia basada en ICI mediante múltiples mecanismos: Activación directa de macrófagos para eliminación de células tumorales, reprogramación epigenética de monocitos y generación de CD tipo 1 o preparación de CD para presentación cruzada con células T CD8+. Como los fragmentos de peptidoglucano pueden diseminarse a circulación generando respuestas inmunes sistémicas, la presencia de hidrolasas NlpC/p60 y muropéptidos activos NOD2 pueden constituir potenciales biomarcadores clínicamente relevantes en la predicción de la respuesta terapéutica (18). Por su parte, las lipoproteínas TLR2 amortiguan la inmunosupresión mediada por Treg, por ejemplo, durante la infección con *Candida albicans*, y pueden activar directamente los receptores TLR1/2 en células T CD8+ específicas de antígenos virales o tumorales, mejorando su función citolítica. Además, la calidad de las respuestas de las células T afines inducidas por la administración oral de *E. hirae* difiere significativamente de la informada con otras bacterias Gram+ como *Listeria monocytogenes*, que también expresa un neoantígeno. En este caso, los linfocitos infiltrantes de tumor CD8+ no solo indujeron un aumento de Granzima B, IFN $\gamma$  y KLRG1, sino también de LAG-3, CTLA4 y PD-1, lo que sugiere el agotamiento de "células T terminalmente diferenciadas". En cambio, la activación de células T mediada por *E. hirae* se asoció con la expresión de TNFRSF9 (CD137). La coestimulación de linfocitos infiltrantes de tumor a través de TNFRSF9 es una vía de señalización importante asociada con el receptor de antígenos de linfocitos T (TCR) que previene la apoptosis prematura y favorece la recirculación a largo plazo de células T modificadas con CAR y transferidas adoptivamente.

Curiosamente, la capacidad de *E. hirae* para producir una respuesta inmune anticancerígena productiva depende de su colonización y supervivencia *in vivo*. Así pues, *E. hirae* pasteurizado induce respuestas inmunosupresoras o insuficientes. El novedoso concepto de "vita-PAMP" presentado por el grupo de Blander, se basa en que las vacunas vivas atenuadas provocan una inmunidad protectora más fuerte. Este efecto requiere la detección de ARNm bacteriano y metabolitos por parte de efectores inmunes innatos, lo que permite la activación de la cascada del inflammasoma que culmina en respuestas de IFN tipo 1. Dado que este sistema implica al proceso de autofagia, es posible que *E. hirae* no solo desencadene la autofagia en las células epiteliales intestinales sino también en las CPA del huésped, como lo sugiere la reducción de sus efectos anticancerígenos en huéspedes Atg4b-deficientes.

La remodelación metabólica también puede contribuir a las funciones inmunes sistémicas e intratumorales. Si bien se ha informado que el butirato mejora la expresión de mo-

léculas efectoras asociadas a las células T CD8+, la poliamina espermidina podría activar los efectos anticancerígenos dependientes de Th1 al inducir la autofagia en las células tumorales. En este caso, la administración de *E. hirae* induce un aumento de poliaminas que, a su vez, podrían estimular respuestas inmunitarias anticancerígenas. Además, también se ha visto un aumento de nicotinamida en plasma de ratones tratados con *E. hirae*, la cual ejerce una potenciación de los efectos antitumorales de la ciclofosfamida (19).

Otra posible estrategia terapéutica a considerar en el tratamiento contra el cáncer es la producción bacteriana de metabolitos con carácter inmunomodulador. Así pues, McCoy et al. estudiaron el efecto inmunomodulador del metabolito inosina –producido por *Bifidobacterium pseudolongum*– en la alteración de la eficacia de la inmunoterapia en un modelo murino de *cáncer colorrectal* (CCR). La inosina indujo la expresión de genes reguladores TH1 en células T CD4+, y la adición de ICI provocó un aumento concomitante en la producción de IFN- $\gamma$ , lo que se tradujo en una mayor actividad antitumoral *in vivo*, que a su vez fue coestimulada con la administración CpG e IL-12 de CD. Otra bacteria identificada como productora de inosina es *Akkermansia muciniphila*, que según los autores muestra el mismo efecto antitumoral que *Bifidobacterium pseudolongum* (20).

El pronóstico del cáncer de colon está influenciado por los linfocitos infiltrados en el tumor, incluidas las células T auxiliares foliculares (TFH), así como por la eficacia de las respuestas inmunitarias inducidas por la quimioterapia. Si bien aún no se ha dilucidado si la microbiota intestinal contribuye a la inducción de respuestas inmunitarias mediadas por TFH, Roberti et al. establecen que la microbiota ileal dicta la muerte celular tolerogénica versus inmunogénica de las células epiteliales intestinales ileales (IEC) y la acumulación de células TFH en pacientes con cáncer de colon. Los autores proponen que la supresión de la apoptosis de IEC compromete la inmunovigilancia inducida por quimioterapia en modelos de ratón con cáncer de colon, por lo que la microbiota intestinal, al promover el mecanismo de apoptosis, aumenta la eficacia del tratamiento quimioterápico. Asimismo, establecen una asociación entre respuestas inmunes protectoras contra el cáncer de colon y la presencia de *Bacteroides fragilis* y *Erysipelotrichaceae* en el íleon. De este modo, en presencia de estos comensales, las IEC ileales apoptóticas inducen el reclutamiento de células TFH PD-1+ de manera dependiente de interleucina-1R1 e interleucina-12. Por tanto, el microbioma ileal constituye un mediador de la eficacia de la terapia quimioterápica y el bloqueo de PD-1 en el cáncer de colon independientemente de la inestabilidad de microsátélites. Así pues, según estos hallazgos la apoptosis ileal inmunogénica contribuye al pronóstico del cáncer de colon tratado con quimioterapia (21).

### Microbiota y resistencia endocrina en cáncer de próstata

La terapia de privación de andrógenos sigue siendo la base del tratamiento para pacientes con cáncer de próstata avanzado. Sin embargo, después de una respuesta

favorable inicial, los pacientes a menudo desarrollan resistencia al tratamiento con la consiguiente progresión del tumor. El *cáncer de próstata resistente a la castración* (CRPC) generalmente conlleva un pronóstico desfavorable y necesita de nuevas estrategias terapéuticas.

Cada vez hay más evidencia sobre el papel de la microbiota en la efectividad antitumoral tanto de la quimioterapia como de los ICI, de modo que la modulación de la microbiota constituye una potencial estrategia para mejorar la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer. Sin embargo, tan solo un número limitado de estudios han investigado el papel de la microbiota intestinal en el desarrollo y progresión del cáncer de próstata. Algunos de ellos describen una microbiota fecal alterada en pacientes con este tipo de cáncer, pero no se han abordado directamente los mecanismos a través de los cuales la microbiota afecta el crecimiento del tumor. Así pues, debido a la influencia que ejerce la microbiota intestinal sobre el cáncer, *Pernigoni et al.* plantean en su investigación la hipótesis de que la microbiota intestinal de los pacientes que padecen cáncer de próstata también podría participar en el metabolismo hormonal del huésped, afectando al crecimiento del cáncer de próstata. Los autores establecen que la privación androgénica tanto en ratones como en humanos con cáncer de próstata promueve la expansión de una microbiota comensal definida que contribuye a la aparición de resistencia a la castración debido a su capacidad para convertir especies precursoras de andrógenos en andrógenos bioactivos. La modulación de la microbiota intestinal mediante antibioterapia demostró retrasar la aparición de resistencia a la castración incluso en ratones inmunodeficientes. Además, el TMF de ratones con CRPC indujo resistencia en ratones con cáncer de próstata, mientras que el TMF de pacientes con cáncer de próstata sensible a hormonas junto a la administración de *Prevotella stercorea* permitió el control del crecimiento tumoral.

Estos hallazgos revelan que la microbiota intestinal contribuye a la resistencia endocrina en el CRPC al proporcionar una fuente alternativa de andrógenos (22).

### Microorganismos, metabolismo y cáncer

Fue en 1956 cuando Warburg propuso la hipótesis de que la alteración del metabolismo celular constituye la causa fundamental de la carcinogénesis. En la actualidad, el metabolismo de las células tumorales es una potencial diana dentro del espectro terapéutico contra el cáncer.

Los microorganismos intervienen en el metabolismo del huésped generando metabolitos o cometabolitos (especies generadas por intervención de huésped y microorganismos) que pueden inducir un estado inflamatorio en el huésped y alterar el equilibrio entre proliferación y muerte celular. Así pues, los efectos de los metabolitos generados dentro del microambiente tumoral sobre el crecimiento y diseminación del tumor constituyen otra línea de investigación en el tratamiento de la enfermedad neoplásica.

Tanto huésped como microorganismos intervienen en el metabolismo de la fibra, las grasas, el etanol o los fitoestrógenos. En concreto, la fermentación de la fibra por la microbiota colónica genera AGCC, como ácido acético, pro-

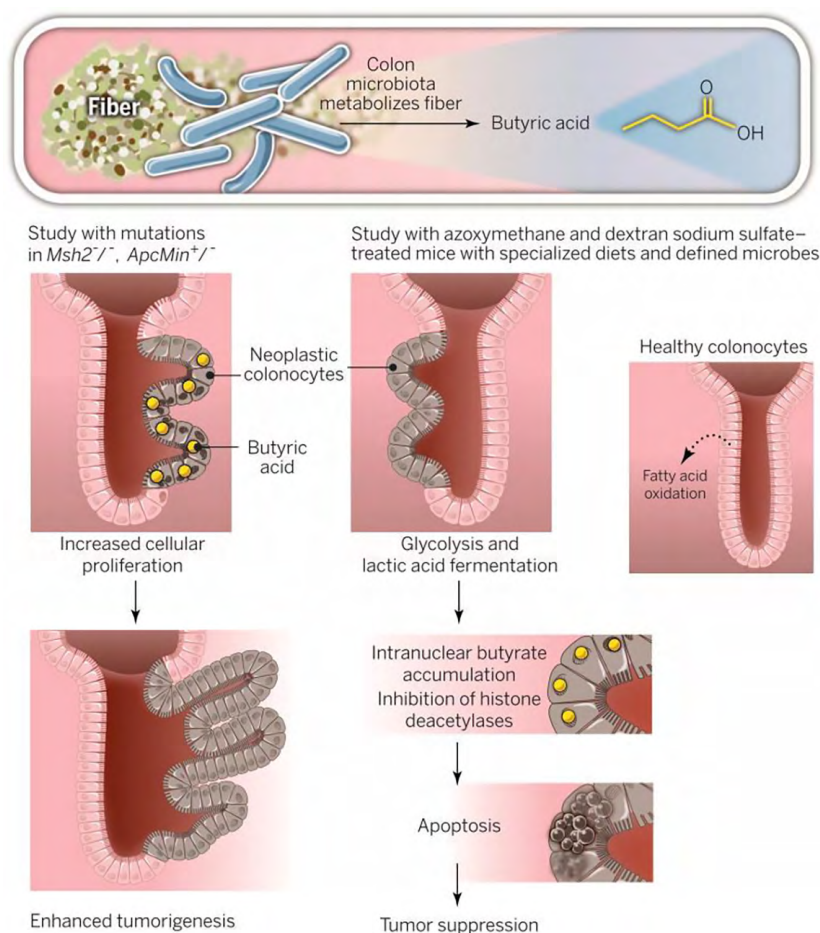
piónico y butírico. Estos compuestos tienen efectos sobre numerosos tejidos, como las células mieloides o las células T reguladoras colónicas, sobre las que ejercen acción antiinflamatoria. El mecanismo a través del cual los AGCC promueven la activación de vías antiinflamatorias incluye la unión a determinados receptores, como Gpr109a, cuya estimulación induce la generación de células T reguladoras, y cuyo déficit incrementa la susceptibilidad a cáncer colorrectal asociado a colitis.

Además, los AGCC modulan la expresión de determinados genes, así como la proliferación y muerte celular, a través de su unión a receptores o mediante mecanismos independientes. Un ejemplo es el receptor Gpr43, que activado por la unión de AGCC, disminuye la tasa de división de células leucémicas. Este receptor se halla reducido en tejido tumoral en comparación con tejido sano, de forma que su restablecimiento en líneas celulares de cáncer de colon induce un aumento de la apoptosis mediada por AGCC.

No obstante, los efectos de estos ácidos grasos dependen tanto de su concentración como del genotipo del huésped, e incluso existen discrepancias entre diferentes estudios acerca de su función en la tumorigénesis. Así pues, diversos estudios llevados a cabo en ratones con microbioma predefinido y tratados con azoximetano y sulfato de sodio de dextrano, revelan la actividad supresora de tumores del butirato, que se acumula en el interior del núcleo de las células cancerosas, generando la acetilación de histonas y, en consecuencia, la apoptosis y reducción de la proliferación celular. Sin embargo, en un estudio realizado en ratones con tumores intestinales debido a mutaciones en los genes APC y MSH2, el efecto del butirato producido en el metabolismo de la fibra dietética por la microbiota fue la inducción de una respuesta hiperproliferativa en células epiteliales deficientes en MSH2 (Figura 9). Por su parte, He et al. sostienen que el butirato aumenta la respuesta antitumoral de las células T CD8+ no solo en cáncer de colon sino también en modelos de tumores trasplantados vía subcutánea distal a través de la señalización de IL-12 dependiente de ID2, por lo que –según los autores–, el butirato puede promover la inmunidad anticancerígena mejorando la eficacia de la terapia antitumoral (Figura 10) (22).

Otros estudios defienden la implicación de los AGCC en la respuesta al tratamiento del paciente oncológico. De esta manera, tras evaluar los metabolitos séricos y fecales de pacientes con cáncer, los autores concluyeron que los pacientes clasificados como buenos respondedores presentaban niveles más elevados de AGCC que los pacientes con enfermedad progresiva temprana. Así pues, metabolitos como ácido acético, propiónico, butírico y valérico parecen asociarse a una mayor supervivencia tras la inmunoterapia. No obstante, la asociación entre las concentraciones de AGCC y la respuesta al tratamiento no está exenta de controversia, y es que, otros autores relacionan las altas concentraciones de AGCC con la progresión de la enfermedad tumoral.

Por tanto, la influencia de la dieta y el metaboloma microbiano sobre la tumorigénesis continúa siendo un desafío en la investigación sobre la enfermedad neoplásica.



**Figura 9.** Fibra dietética, microbiota, butirato y tumorigénesis. El metabolismo de la fibra por la microbiota del colon genera ácido butírico. En presencia de mutaciones genéticas en *MSH2* y *APC* el butirato aumenta la proliferación celular y favorece la tumorigénesis. Sin embargo, no existe consenso respecto al rol de la fibra dietética en el desarrollo de cáncer. Existen otros estudios que sostienen que los colonocitos neoplásicos realizan la glucólisis para obtener energía para la célula, a diferencia de los colonocitos sanos (que favorecen la oxidación de los ácidos grasos). De este modo, la acumulación de butirato en el núcleo de las células neoplásicas induce la activación de vías supresoras de tumores y la apoptosis celular (Garrett WS. Cancer and the microbiota. Science [artículo de revista] 2015).

En contraste a lo que ocurre con la fibra dietética, cuyas conclusiones sobre su papel en el cáncer son contradictorias, en el caso de las grasas saturadas, sí parece existir unanimidad en que su ingesta elevada constituye un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer. Así, microbioma, obesidad, inflamación y ácidos biliares integran todo un sistema de interconexión entre la dieta rica en grasas y el proceso tumoral.

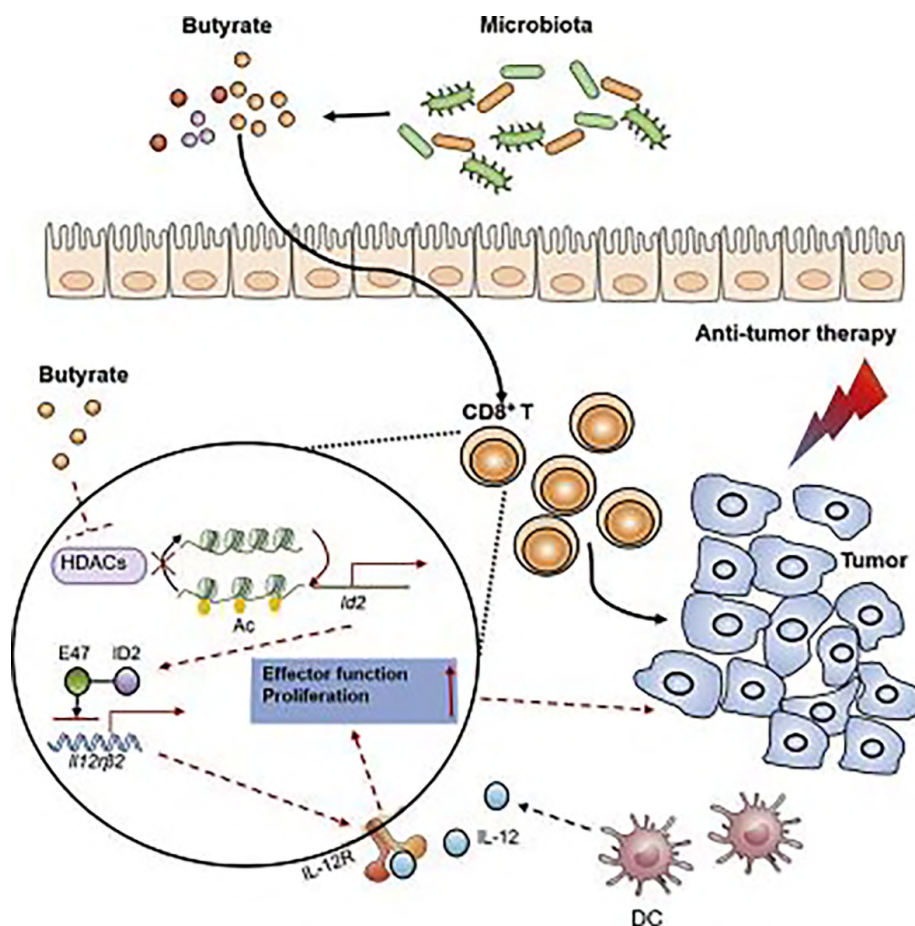
### Microbiota intratumoral y biotransformación in vivo

La capacidad bacteriana para transformar materia orgánica mediante sistemas enzimáticos específicos es conocida desde los inicios del estudio del mundo procarionta. Debido a esta capacidad, las bacterias pueden inducir cambios en las estructuras químicas de los fármacos, proceso conocido como biotransformación. De esta manera, la elección de la estrategia terapéutica podría verse influenciada por las especies integrantes de la microbiota asociada al tumor. Son numerosas las especies bacterianas que se han relacionado con alteraciones del microambiente tumoral de diversos tipos de cáncer, influyendo tanto positiva como negativamente en los efectos de ciertos tratamientos antitumorales. *Escherichia coli* –uno de los biotransformadores por excelencia–, es una de ellas. Esta bacteria afecta negativamente

al tratamiento con gemcitabina, un citotóxico empleado habitualmente en regímenes quimioterápicos. Este fármaco, cuyo objetivo son las células tumorales en división, inhibe la ribonucleótido reductasa, una enzima fundamental en el proceso de replicación del ADN. Estudios realizados en ratones mostraron altas concentraciones de gammaproteobacterias –como *Escherichia coli* (componente habitual de la microbiota del cáncer de colon)– en la microbiota intratumoral de los animales que presentaban resistencia al tratamiento con gemcitabina. Las cepas bacterianas aisladas de los tumores resistentes expresaban la enzima citidina desaminasa, responsable de la degradación del fármaco, y por tanto de la resistencia tumoral al tratamiento.

### Microorganismos y/o metabolitos como biomarcadores de respuesta o progresión del cáncer

Los puntos de control inmunológico se encuentran regulados positivamente en varios tipos de cáncer para evadir la respuesta inmune antitumoral. Es por ello que entre las estrategias terapéuticas antitumorales se hallan los ICI, cuya función es reactivar dicha respuesta inmune antitumoral. Sin embargo, estos fármacos pueden activar célu-



**Figura 10.** Butirato y actividad antitumoral mediada por linfocitos TCD8+. El butirato procedente del metabolismo de la fibra dietética promueve la función citotóxica de las células T CD8+ mediante la regulación de la señalización de IL-12 dependiente de ID2. (Tomado de PMID: 33761313). (He Y, Fu L, Li Y et al. Gut microbial metabolites facilitate anticancer therapy efficacy by modulating cytotoxic CD8+ T cell immunity. *Cell Metab* [artículo de revista] 2021).

las T autorreactivas en varios órganos, como el tracto gastrointestinal, dando lugar a colitis como efecto secundario.

La determinación de la composición inicial de la microbiota intestinal ha permitido establecer la asociación entre la microbiota enriquecida con *Firmicutes* (p. ej., *Faecalibacterium*) y la respuesta clínica o los eventos adversos posteriores al tratamiento con ipilimumab; por lo que las especies bacterianas integrantes de la microbiota –previamente a la administración del tratamiento– podrían constituir un marcador predictivo de resultados clínicos y reacciones adversas (colitis) antes del tratamiento con ipilimumab.

Por su parte, la colibactina (*E. coli*) o la Bft (*B. fragilis*), al intervenir en el desarrollo de CCR, podrían ser utilizadas como marcadores para la detección no invasiva de CCR en combinación con una prueba de sangre oculta en heces.

Asimismo, en el estudio realizado por Poore et al., cuyo objetivo fue evaluar la viabilidad de un nuevo enfoque diagnóstico del cáncer basado en ADN bacteriano, se encontraron perfiles microbianos discriminatorios en la mayoría de tipos de cáncer, incluso en tumores de bajo grado y pacientes sin alteraciones genómicas detectables mediante ADN tumoral circulante. El alto rendimiento discriminatorio entre controles sanos y múltiples tipos de cáncer utilizando únicamente ADN microbiano libre de células en plasma, sugiere el inicio de una nueva estrategia diagnóstica del cáncer con un po-

tencial futuro en la detección precoz de la enfermedad. No obstante, es necesaria una investigación más exhaustiva para evaluar si los ácidos nucleicos provienen de microorganismos vivos, células del huésped o bacterias lisadas en el microambiente del tumor o el torrente sanguíneo (24).

Sin embargo, el potencial predictivo de los marcadores microbianos en la detección/pronóstico del cáncer no está exento de limitaciones. Entre ellas se encuentran: (1) La complejidad y diversidad del microbioma entre individuos y distintas poblaciones, que complica la estandarización de marcadores microbianos de carácter universal; (2) la diversidad de resultados obtenidos en los diferentes estudios debido a diferencias sustanciales en las distintas fases: Recolección de muestras, extracción de ADN y metabolitos, y análisis de datos (3); la presencia de especies microbianas que carecen de utilidad y que dificultan la detección de las especies que pueden constituir potenciales biomarcadores de la enfermedad; así como el (4) uso de antibióticos, que alteran la comunidad microbiana y la expresión de marcadores (25).

### ¿Tratamientos antibiótico y probiótico como posible terapia adyuvante?

Dada la influencia de la composición de la microbiota intratumoral en la respuesta al tratamiento quimioterápico/

inmunoterápico se podrían diseñar estrategias terapéuticas que lograsen eludir o potenciar –en función de sus efectos– los mecanismos microbianos sobre el tratamiento antitumoral. Para ello, sería necesaria la caracterización de las especies integrantes de la microbiota intratumoral antes de iniciar el tratamiento. Así pues, una vez identificadas, se podría llevar a cabo la supresión de aquellas especies bacterianas que inhiben los efectos de los fármacos antitumorales –mediante exposiciones sucesivas a antibióticos–, o bien la aportación exógena de aquellas especies bacterianas con acción adyuvante sobre el tratamiento. No obstante, es necesario explorar todas las alternativas existentes antes de recurrir a la administración de tratamiento antibiótico como terapia adyuvante a la quimioterapia. Una de estas alternativas es el uso de probióticos en un intento de regular positivamente la concentración de especies bacterianas clasificadas como “beneficiosas”.

Entre los mecanismos a través de los cuales la administración de terapia probiótica estaría indicada se encuentran: (1) Mantenimiento de la homeostasis del colon mediante regulación del pH, (2) modulación de la composición de la microbiota intestinal y su actividad metabólica, (3) unión y desactivación de carcinógenos, (4) producción de metabolitos anticancerígenos e (5) inmunomodulación mediante activación fagocitaria. Sin embargo, pese a que pueden constituir una herramienta útil para evitar el uso innecesario de antibióticos, varios estudios han refutado su eficacia en pacientes con cáncer en tratamiento quimioterápico. De hecho, en contraste a lo esperado, los probióticos parecen reducir la diversidad microbiana de la microbiota tumoral alterando la capacidad de respuesta al tratamiento.

### Trasplante de microbiota fecal

En vista de la ineficacia in vivo del uso de las terapias antibiótica/probiótica, se ha propuesto el TMF de donantes sanos como estrategia terapéutica alternativa, ya que sus efectos han resultado del todo prometedores en enfermedades como la infección por *Clostridium difficile*, la EII o la EICH. De este modo, la administración local de materia fecal procedente de un donante sano en el tracto gastrointestinal del receptor podría constituir un método eficaz para restablecer su composición microbiana, es decir, podría resultar de utilidad en la readquisición de un microbioma estable en el paciente oncológico.

En un estudio llevado a cabo por Baruch et al., cuyo objetivo era comprobar la utilidad del TMF en la respuesta de los pacientes con melanoma metastásico a la inmunoterapia anti-PD-1, se obtuvo evidencia de beneficio clínico en un subconjunto de pacientes que presentaban mayor abundancia de taxones previamente asociados con la respuesta anti-PD-1, una mayor activación de células T CD8+ y un menor porcentaje de células mieloides productoras de IL-8 –con actividad inmunosupresora– (26).

Estos hallazgos se hallan en consonancia con los resultados obtenidos por Davar et al., quienes demostraron que un solo TMF administrado vía colonoscopia junto al bloqueo de PD-1 supusieron la colonización y reprogramación del microambiente tumoral de los pacientes respondedores. El TMF modificó la composición de la microbiota hacia taxones

que favorecen la eficacia anti-PD-1 mejorando la respuesta clínica en pacientes con melanoma refractario a PD-1, que, si bien contaban con capacidad inmunológica para responder al tratamiento, exhibían una composición microbiana desfavorable. No obstante, los pacientes refractarios a PD-1 pueden no responder al TMF por varias razones, entre las que se hallan: (1) Incapacidad de respuesta independientemente de la composición de la microbiota debido al estado de inmunodeficiencia del paciente o la falta de inmunogenicidad del tumor, (2) ausencia de taxones necesarios para la efectividad de la terapia anti-PD-1 en el trasplante de microbiota fecal, o (3) imposibilidad de trasplante y por tanto de modificaciones en la microbiota del huésped que favorezcan el efecto de la inmunoterapia anti-PD-1. Es necesaria pues una investigación más exhaustiva mediante la realización de ensayos clínicos que permitan la identificación de biomarcadores microbianos –circulantes e intratumorales– con el fin de identificar a los pacientes con mayor probabilidad de beneficiarse de la terapia basada en TMF (27). Para ello resulta crucial no solo la caracterización de las especies microbianas efectoras, sino también de los riesgos derivados de esta práctica, por lo que el empleo de esta estrategia terapéutica en la práctica clínica aún está por determinar.

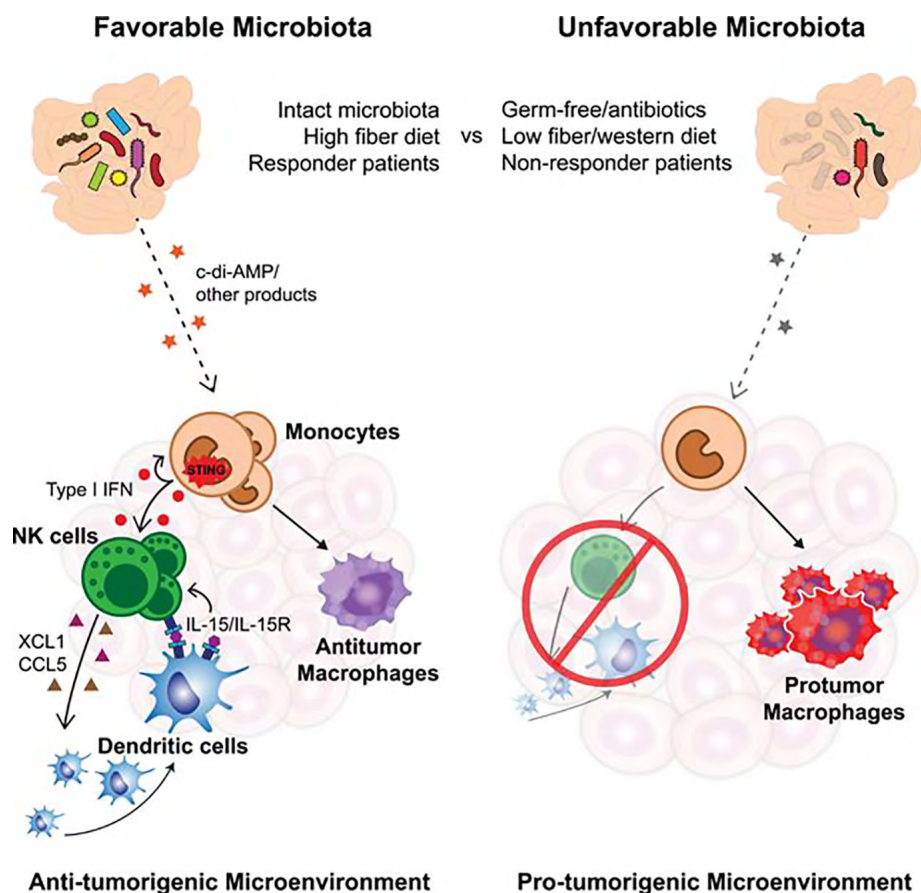
### Dieta rica en fibra

Las fibras dietéticas son polímeros de carbohidratos no digeribles que se recomiendan en dosis superiores a 30 g/día, preferiblemente provenientes de más 30 especies vegetales diferentes/semana para dar forma a un microbioma saludable y diverso. Esta dieta aumenta la abundancia de especies bacterianas potencialmente beneficiosas que fermentan la fibra dietética para producir AGCC. Los resultados preliminares de los primeros estudios clínicos que investigan el impacto del eje dieta-microbiota intestinal-cáncer en el beneficio clínico de los anticuerpos anti-PD-1 indican que el consumo de alimentos ricos en fibra puede modular el microbioma intestinal, enriqueciéndolo con miembros de la familia Ruminococcaceae e influyendo en el índice de respuesta al tratamiento. Dos estudios recientes realizados en pacientes con melanoma y cáncer de pulmón no microcítico describieron cambios fecales metagenómicos y metabólicos asociados con dietas ricas en fibra que coinciden con mayores tasas de respuesta a ICI y reprogramación del microambiente tumoral. Actualmente se están llevando a cabo ensayos clínicos prospectivos destinados a enriquecer la dieta con fibras no digeribles que resulten beneficiosas como terapia adyuvante al tratamiento antitumoral.

Lam et al. proponen que la modulación de la microbiota con una dieta rica en fibra desencadena el eje IFN-I-NK-DC intratumoral y mejora la eficacia de la inmunoterapia basada en ICI (Figura 11) (28).

### Dieta cetogénica

La cetosis es un estado metabólico en el que el organismo obtiene energía del catabolismo de los cuerpos cetónicos, y en menor medida, de los ácidos grasos y aminoácidos. Los cuerpos cetónicos incluyen al acetoacetato, 3-hidroxi-



**Figura 11.** Fibra dietética en la mejora de la eficacia terapéutica antitumoral. Los agonistas de STING derivados de la microbiota (por ejemplo, *cdAMP*) inducen la producción de *IFN-I* por monocitos intratumorales, lo que a su vez desencadena la actividad anti-cancerígena del microambiente tumoral: Estos monocitos regulan el reclutamiento y activación de células natural killer (NK) y la posterior interacción NK-DC. La alteración de la microbiota induce la interrupción de la cascada monocitos-*IFN-I*-NK-DC y los monocitos se transforman en macrófagos protumorales. La modulación de la microbiota con fibra dietética, la monoclonización con *A. muciniphila* productora de *cdAMP* o la administración sistémica de *cdAMP* son suficientes para desencadenar la cascada de monocitos-*IFN-I*-NK-DC y mejorar la respuesta antitumoral (Lam KC, Araya RE, Huang A et al. Microbiota triggers STING-type I *IFN*-dependent monocyte reprogramming of the tumor microenvironment. Cell [artículo de revista] 2021).

butirato y acetona volátil. Las dietas cetogénicas son ricas en grasas, moderadas en proteínas y bajas en carbohidratos (generalmente <40 g/día), lo que induce un aumento de 3-hidroxibutirato. Este aumento de 3-hidroxibutirato también se produce después del ayuno, favoreciendo la respiración mitocondrial en lugar de la glucólisis como mecanismo de obtención de energía.

La restricción calórica a largo plazo en primates no humanos reduce la incidencia y la mortalidad por cáncer. En ratones, el hambre a corto plazo y el ayuno en días alternos reducen la progresión del tumor. La dieta cetogénica se diferencia de la dieta alta en grasas en la metagenómica y metabolómica fecal. Mientras que la dieta alta en grasas aumenta la ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, la dieta cetogénica invierte esta tendencia. Si bien, también disminuye la abundancia relativa de Actinobacterias, en particular las especies *Bifidobacteria* y *Lactobacilli* tanto en pacientes masculinos obesos como en modelos de ratón. Paradójicamente, este efecto podría revertirse con la suplementación oral de 3-hidroxibutirato, el cual promueve el crecimiento de *Bifidobacterium*. La suplementación con cuerpos cetónicos de la dieta rica en grasas disminuye las células Th17 (pero no Th1 ni Treg) en el intestino delgado y en el tejido adiposo. Esto se halla en consonancia con investigaciones previas que muestran los efectos protectores de los cuerpos

cetónicos sobre las células T  $\gamma\delta$  del tejido adiposo visceral o sobre el tejido pulmonar durante la infección por el virus influenza A. Además, el 3-hidroxibutirato presenta efectos inmunoestimulantes en cánceres agresivos. En condiciones de dieta estándar en las que la inmunoterapia anti-PD-1 –sola o en combinación con anti-CTLA4– no logra reducir el crecimiento del tumor, la suplementación intermitente con 3-hidroxibutirato oral induce la respuesta terapéutica. De hecho, la suplementación de cuerpos cetónicos con sacarosa –que inhibe la cetogénesis– o con un antagonista farmacológico del receptor  $\beta$ HB GPR109A, inhibe el efecto antitumoral. Se ha demostrado que el 3-hidroxibutirato impide la regulación positiva de PD-L1 mediada por  $IFN\gamma$  en células mieloides al tiempo que favorece la expansión de las células T CXCR3+. Asimismo, la dieta cetogénica también induce cambios en la composición de la microbiota intestinal con distintas especies como *Eisenbergiella massiliensis*, la cual se relaciona con la pérdida concomitante de lactobacilos inmunosupresores.

Es de destacar que los efectos antiinflamatorios del ayuno o la dieta cetogénica pueden estar relacionados con la inhibición del inflamasoma NLRP3 mediada por 3-hidroxibutirato. De hecho, el receptor NLRP3 de las células tumorales se ha identificado como una nueva señal molecular que impulsa la evasión inmune adaptativa de la

inmunoterapia anti-PD-1. Estos resultados apuntan a potentes efectos inmunoestimulantes de la dieta cetogénica o la suplementación con cuerpos cetónicos durante el tratamiento con ICI, lo que ha motivado el diseño de nuevos ensayos clínicos.

### Prebióticos

Los complementos alimenticios con capacidad para modular la composición de la microbiota intestinal pueden influir en la aptitud de la barrera intestinal, el sistema inmunológico local, así como en la inmunovigilancia tumoral.

Se ha demostrado que tanto la inulina como la mucina presentan la capacidad de alterar la composición de la microbiota fecal aumentando la abundancia relativa de múltiples filotipos bacterianos dotados de inmunogenicidad (como *Bifidobacteria*, *Bacteroides*, *Barnesiella* y *Parabacteroides*). Pese a que ninguna de ellas potencia el efecto de los anticuerpos anti-PD-1, la inulina actúa a través de un mecanismo de acción diferente al de la mucina favoreciendo el dominio de *Bifidobacteria* en el intestino, que a su vez mejora las funciones de los linfocitos T citotóxicos esplénicos e inhibe los mecanismos de resistencia del melanoma a los inhibidores de MEK.

Sin embargo, ciertas clases de prebióticos pueden antagonizar los efectos de la terapia inmunoestimuladora. De hecho, los AGCC podrían antagonizar la inmunogenicidad de la radioterapia o el bloqueo de CTLA. Por tanto, son necesarios estudios adicionales que evalúen las indicaciones clínicas de los prebióticos como tratamiento adyuvante del cáncer.

### Reprogramación de la microbiota intestinal post-tratamiento antitumoral

Las terapias contra el cáncer pueden afectar la microbiota intestinal por mecanismos directos –debido a su propio mecanismo de acción sobre los enterocitos o células madre de las criptas intestinales– o indirectamente –a través del sistema inmunológico intestinal o del metabolismo de los xenobióticos–. En pacientes con cáncer colorrectal, el bloqueo de PD-1 durante 6 meses aumenta la riqueza de la microbiota intestinal. Los inhibidores de tirosina quinasa (como cabozantinib, axitinib, sunitinib) inducen un cambio significativo y prototípico en la composición de la microbiota caracterizado por una relativa sobreabundancia de microorganismos inmunoestimuladores, como *Akkermansia muciniphila* o *Alistipes senegalensis*. En pacientes con cáncer de próstata, la privación sistémica de andrógenos mediante la administración de acetato de abiraterona vía oral altera la microbiota intestinal reduciendo la concentración de *Corynebacterium*, que utiliza andrógenos y presenta actividad proinflamatoria. Además, favorece la sobrerepresentación del comensal intestinal antiinflamatorio *A. muciniphila*.

En conjunto, las bacterias integrantes de la microbiota intestinal con funciones beneficiosas para el huésped desempeñan un papel central en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal y la homeostasis metabólica para evitar la inflamación sistémica durante la terapia antitumoral (29).

### Bacterias como potencial terapia antitumoral

Idealmente, un candidato terapéutico perfecto contra el cáncer debería (i) atacar células tumorales específicas, (ii) responder a estímulos externos, (iii) inducir señales externas a otras células mediante la (iv) liberación de moléculas citotóxicas adecuadas, y (v) ser autosuficiente dentro del huésped (libertad de movimiento).

Si se diseñan correctamente, las bacterias patógenas vivas cumplen todos los requisitos necesarios para convertirse en potenciales agentes anticancerígenos. Durante la última década, la investigación contra el cáncer se ha enfocado en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la naturaleza patógena de las bacterias. Así pues, gracias a su genoma relativamente accesible, las bacterias terapéuticas brindan multitud de funciones diferentes: Desde detección de señales moleculares extrínsecas a expresión de proteínas con efecto antiproliferativo. En la actualidad, son más de 10 las especies patógenas empleadas como vectores antitumorales, cuya función es la liberación de fármacos citotóxicos específicos en las regiones hipóxicas de determinados tumores.

### Microorganismos terapéuticos

Tal y como se ha mencionado, una posible alternativa terapéutica en el tratamiento del cáncer es el uso de la ingeniería bacteriana con el fin de modificar bacterias patógenas vivas para desarrollar vectores anticancerígenos. Son las llamadas bacterias terapéuticas, las cuales, además de ejercer efectos antitumorales, podrían reducir los efectos secundarios de otras terapias.

El desarrollo de microorganismos modificados supondría una completa revolución en las terapias bacterianas contra el cáncer actuales al aumentar aún más sus funciones terapéuticas, e incluso, diagnósticas. La eficacia de esta terapia bacteriana ha sido refrendada por diversos estudios, como el de *Murphy et al.*, quienes introdujeron una cepa de *E. coli* con capacidad para liberar TNF- $\alpha$  en las intermediaciones tumorales. Debido a su gran poder citotóxico, la liberación de esta citocina debía limitarse al tumor con el fin de evitar efectos secundarios graves. Los análisis de bioluminiscencia *in vivo*, así como los estudios inmunofluorescentes *ex vivo* evidenciaron altas concentraciones de TNF- $\alpha$  en los tumores de los ratones infectados con la cepa de *E. coli* respecto a los ratones control, lo que se tradujo en una mayor supervivencia de los mismos.

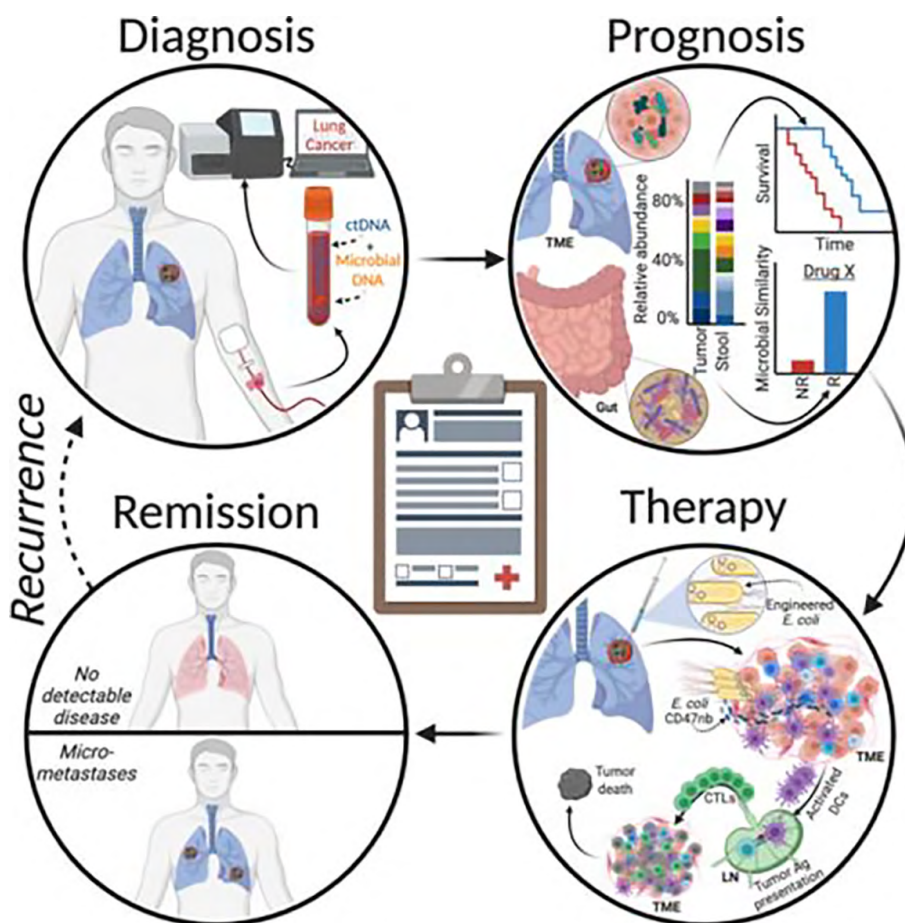
Por su parte, *Zhen et al.* utilizaron una cepa modificada de *Salmonella typhimurium* capaz de secretar flagelina B de *Vibrio vulnificus* a nivel intratumoral en ratones con cáncer de colon. La administración de esta cepa de *Salmonella* supuso la interrupción del crecimiento tumoral tanto de la lesión tumoral primaria como de las lesiones metastásicas. Esto se explica gracias a la sobreactivación de receptores TLR presentes en la superficie de las células cancerosas. Así pues, la reducción de la carga tumoral estaría mediada por la estimulación de las células inmunes del huésped, de manera que la introducción de la cepa atenuada de *Salmonella typhimurium* induciría el reclutamiento de monocitos, macrófagos y neutrófilos a través de receptores TLR4 presentes en las células tumorales.

Por su parte, la secreción de flagelina B sería responsable de cambios fenotípicos en los macrófagos intratumorales, encontrándose niveles elevados de macrófagos M1 en los tumores de los ratones tratados. De este modo, la liberación de ligandos de TLR parece resultar beneficiosa en la reducción progresiva del tamaño del tumor y, por ende, en la supervivencia de modelos de ratón con cáncer de colon.

Por otra parte, *Byrne et al.*, partiendo de la premisa de que las bacterias no patógenas no pueden acceder a las células del huésped con excepción de los fagocitos, diseñaron una cepa de *E. coli* no invasiva capaz de transfectar contenido genómico específico dentro de los fagocitos asociados a tumores. Utilizando una línea celular de monocitos humanos diferenciados *in vitro*, así como dos modelos de ratón *in vivo* –un modelo de ascitis con cáncer de ovario y un modelo de tumor de colon sólido–, los autores pudieron comprobar cómo las bacterias dotadas de transgenes indujeron una mayor migración fagocítica a las regiones tumorales.

Los resultados de las terapias basadas en bacterias modificadas podrían ser mejorados al combinarse con otros microorganismos, como los virus. Y es que, como las bacterias no patógenas, los virus oncolíticos se replican específicamente en el interior del tumor. Un ejemplo de ello son los virus de la estomatitis vesicular (VSV), conocidos por su

fuerte acción antagonista anti-interferón. Al infectar al huésped liberan la proteína M que impide la producción de interferón mediante bloqueo del transporte de ARNm desde el núcleo de las células infectadas. Dado que la mayoría de las células cancerosas liberan altas concentraciones de INF- $\alpha$  durante su desarrollo, la probabilidad de encontrar VSV colonizador dentro de un tumor es relativamente alta. En general, los virus VSV exhiben un amplio tropismo tumoral pudiendo atacar tumores de manera eficiente cuando se administran vía intravenosa en modelos de ratón, constituyendo así viroterapias oncolíticas prometedoras en la frenación del crecimiento tumoral y la prevención de la carcinogénesis. Si bien son neurotóxicas en sus formas naturales, las versiones atenuadas del virus (por ejemplo, VSV $\Delta$ 51) han demostrado capacidad para mantener todas sus funciones oncolíticas, además de resultar inofensivas para el paciente oncológico. No obstante, el principal limitante de esta terapia es la presencia intratumoral de poblaciones celulares con mayor o menor grado de actividad antiviral, lo que conduce a una reducción de la eficacia oncolítica del VSV. Con objeto de resolver esta limitación, *Cronin et al.* evaluaron la capacidad del antagonista del interferón tipo I B18R para aumentar la replicación vírica dentro de los tumores. Derivado del virus *vaccinia*, B18R es un gen que codifica un receptor



**Figura 12.** Microorganismos y cáncer: síntesis gráfica del papel de la microbiota en el proceso de la enfermedad tumoral. Impacto de la microbiota en el proceso del cáncer. (1) Diagnóstico: El ADN microbiano (procedente del tumor) puede complementar el ADN tumoral libre. (2) Pronóstico: La microbiota intestinal e intratumoral puede constituir una herramienta para estratificar a los pacientes en respondedores y no respondedores. (3) Terapia: Modificación de bacterias patógenas vivas para desarrollar vectores anticancerígenos, como *E. coli* productora de TNF- $\alpha$ . (4) Recurrencia: La composición de la microbiota intratumoral puede ofrecer una instantánea de las características del tumor y constituir una potencial herramienta pronóstica en términos de recidivas tumorales (*Sepich-Poore GD, Zitvogel L, Straussman R et al. The microbiome and human cancer. Science [artículo de revista] 2021.*)



señuelo con efecto antagonista frente a los interferones tipo 1. Mediante el uso de cepas no patógenas de *E. coli* portadoras de B18R se estimula la producción intratumoral de este receptor reduciéndose las citoquinas antivirales del microambiente tumoral. De este modo, la expresión de este gen aumenta significativamente la eficacia antitumoral del VSVA51 atenuado.

Aunque prometedor, el campo de la terapia microbiana modificada se encuentra aún en sus primeras etapas, quedando por resolver cuestiones relativas a la seguridad y viabilidad de utilizar dichos microorganismos en la terapia contra el cáncer.

## DISCUSIÓN

Los últimos 15 años de investigación sobre el microbioma proporcionan evidencia más que suficiente de la relación entre la microbiota y el cáncer. Si bien históricamente el cáncer ha sido considerado una enfermedad cuyo desarrollo está determinado por la asociación de factores genéticos y ambientales, hoy en día se sabe que en torno al 20% de los tumores malignos están condicionados por la microbiota.

No obstante, la relación entre microbiota y cáncer no está exenta de matices e incluso de hallazgos contradictorios entre sí. Aunque son pocos los microorganismos que causan cáncer directamente, nuestro microbioma podría ser cómplice y/o actor en el desarrollo de la enfermedad, mientras que en otras ocasiones podría actuar como promotor de la inmunidad antitumoral del huésped, y es que la microbiota ejerce un rol fundamental en el desarrollo y actividad del sistema inmunológico. La presencia de microbiota induce la expresión de receptores implicados en la respuesta inmunológica en los epitelios mucosos. De igual modo, el sistema inmunológico del huésped ejerce una gran influencia sobre la estructura y función de la microbiota. Por tanto, el sistema inmunológico se revela como una fuerza dominante en el control del cáncer, y los defectos en la inmunidad contribuyen no sólo a la carcinogénesis y la progresión del cáncer, sino también a respuestas deficientes a la terapia antitumoral. Es más, la evidencia científica actual defiende la necesidad de preservar la inmunidad sistémica general para una adecuada respuesta a la inmunoterapia. Resulta pues incuestionable el origen inmune de la conexión entre microbiota y cáncer. Esta interconexión podría ser reflejo de una dinámica evolutiva compartida entre el sistema inmunológico del huésped, su microbiota comensal y los procesos tumorigénicos que quizás apenas estamos comenzando a descubrir.

Las barreras de las superficies mucosas posibilitan la existencia de una relación de simbiosis entre los microorganismos y el huésped. Estas barreras se hallan expuestas a agresiones constantes y deben restablecerse rápidamente para recuperar la homeostasis. Por tanto, estados de inmunosupresión en el huésped pueden inducir las condiciones necesarias para favorecer la carcinogénesis. Tanto procesos tumorales como inflamatorios pueden desencadenarse a partir de la ruptura de estas barreras, ya que son escenarios para los que tanto el sistema inmune del huésped como los microorganismos no han coevolucionado. Así pues, la ruptura de estas barreras permite a los microorganismos po-

tenciar las respuestas proinflamatoria e inmunosupresora en microambientes tumorales. Por tanto, la pérdida de la barrera "microorganismo-huésped" constituye un punto crítico en la inducción de la carcinogénesis.

Cada microbiota individual parece capaz de adaptarse al microambiente que la rodea. Los altos niveles de metabolitos específicos dentro de los tumores promueven la creación de nichos específicos favoreciendo su enriquecimiento con bacterias adecuadamente adaptadas al uso del metabolito presente. Cada tumor individual consta de una microbiota única, caracterizada por un perfil metabólico específico. De hecho, está demostrado que cada subtipo de cáncer tiene un microbioma único, caracterizado por comunidades bacterianas con funciones metabólicas específicas. Todos estos hallazgos ratifican la existencia de una conexión entre el metabolismo microbiano y las características intrínsecas de cada tipo tumoral.

Sin embargo, pese a los innegables avances en el conocimiento de la implicación del microbioma en el desarrollo del cáncer, aún existe un cisma sustancial que separa las observaciones clínicas de las intervenciones dietético-terapéuticas dirigidas a la microbiota como posible tratamiento antitumoral adyuvante. Aunque la modulación de la microbiota intestinal en modelos de inmunoterapia murina proporciona resultados alentadores, aún no se han traducido en intervenciones terapéuticas aplicables a humanos. Además, las investigaciones realizadas tanto en modelos animales como en humanos han revelado la existencia de notables diferencias taxonómicas intra e interindividuales que dificultan la armonización y reproducibilidad en el contexto diagnóstico, terapéutico y pronóstico de la enfermedad. No obstante, esta variabilidad es menor al analizar perfiles funcionales en lugar de taxonómicos. Se necesitan pues cohortes adicionales con muestras rigurosamente seleccionadas que permitan caracterizar y comprender el impacto de la microbiota intratumoral en la carcinogénesis, progresión y respuesta al tratamiento antitumoral. Para ello es necesario una mayor investigación, así como el desarrollo de herramientas más sofisticadas que permitan una clasificación taxonómico-funcional de la microbiota con valor predictivo sobre nuestra salud.

En cualquier caso, la composición específica de la microbiota intratumoral podría ofrecer una instantánea de las características tumorales, y, por ende, ser de utilidad en la monitorización del cáncer. Por ello, la microbiota constituye una potencial diana no solo a nivel terapéutico, sino también diagnóstico e incluso pronóstico. De este modo, la evaluación de la composición y función microbiana de un paciente, y su posterior modulación dirigida representan elementos clave para futuros enfoques multidisciplinarios dentro de la medicina de precisión.

## CONCLUSIÓN

Pese a encontrarse aún en una fase muy prematura, en vista de las potenciales ventajas que puede suponer la caracterización taxonómico-funcional de la microbiota en el diagnóstico, respuesta al tratamiento y pronóstico del cáncer, no cabe duda de que la evaluación de la compo-

sición microbiana de un paciente, y su posterior modulación dietético-terapéutica constituirán en un futuro –tal vez próximo– etapas adicionales de los procesos diagnóstico y terapéutico del cáncer.

## BIBLIOGRAFÍA

- Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*. 2017 Mar 15;356:j831. doi: 10.1136/bmj.j831. PMID: 28298355.
- Dominguez-Bello MG, Godoy-Vitorino F, Knight R, Blaser MJ. Role of the microbiome in human development. *Gut*. 2019 Jun;68(6):1108-1114. doi: 10.1136/gut.jnl-2018-317503. Epub 2019 Jan 22. PMID: 30670574.
- Sepich-Poore GD, Zitvogel L, Straussman R, Hasty J, Wargo JA, Knight R. The microbiome and human cancer. *Science*. 2021 Mar 26;371(6536):eabc4552. doi: 10.1126/science.abc4552. PMID: 33766858
- Barrett M, Hand CK, Shanahan F, Murphy T, O'Toole PW. Mutagenesis by Microbe: the Role of the Microbiota in Shaping the Cancer Genome. *Trends Cancer*. 2020 Apr;6(4):277-287. doi: 10.1016/j.trecan.2020.01.019. Epub 2020 Feb 20. PMID: 32209443.
- Knippel RJ, Drewes JL, Sears CL. The Cancer Microbiome: Recent Highlights and Knowledge Gaps. *Cancer Discov*. 2021 Oct;11(10):2378-2395. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-0324. Epub 2021 Aug 16. PMID: 34400408.
- Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):80-6. doi: 10.1126/science.aaa4972. PMID: 25838377.
- Heymann CJF, Bard JM, Heymann MF, Heymann D, Bobin-Dubigeon C. The intratumoral microbiome: Characterization methods and functional impact. *Cancer Lett*. 2021 Dec 1;522:63-79. doi: 10.1016/j.canlet.2021.09.009. Epub 2021 Sep 10. PMID: 34517085.
- Kadosh E, Snir-Alkalay I, Venkatachalam A, May S, Lasry A, Elyada E, Zinger A, Shaham M, Vaalani G, Mernberger M, Stiewe T, Pikarsky E, Oren M, Ben-Neriah Y. The gut microbiome switches mutant p53 from tumour-suppressive to oncogenic. *Nature*. 2020 Oct;586(7827):133-138. doi: 10.1038/s41586-020-2541-0. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32728212.
- Almeida A, Mitchell AL, Boland M, Forster SC, Gloor GB, Tarkowska A, Lawley TD, Finn RD. A new genomic blueprint of the human gut microbiota. *Nature*. 2019 Apr;568(7753):499-504. doi: 10.1038/s41586-019-0965-1. Epub 2019 Feb 11. PMID: 30745586.
- Pushalkar S, Hundeyin M, Daley D, Zambirinis CP, Kurz E, Mishra A, The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. *Cancer Discov*. 2018 Apr;8(4):403-416. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1134. Epub 2018 Mar 22. Erratum in: *Cancer Discov*. 2020 Dec;10(12):1988. PMID: 29567829
- Aykut B, Pushalkar S, Chen R, Li Q, Abengozar R, Kim JI et al. The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis via activation of MBL. *Nature*. 2019 Oct;574(7777):264-267. doi: 10.1038/s41586-019-1608-2. Epub 2019 Oct 2. PMID: 31578522.
- Park EM, Chelvanambi M, Bhutiani N, Kroemer G, Zitvogel L, Wargo JA. Targeting the gut and tumor microbiota in cancer. *Nat Med*. 2022 Apr;28(4):690-703. doi: 10.1038/s41591-022-01779-2. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35440726.
- Nejman D, Livyatan I, Fuks G, Gavert N, Zwang Y, Geller LT et al. The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. *Science*. 2020 May 29;368(6494):973-980. doi: 10.1126/science.aay9189. PMID: 32467386.
- Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res*. 2021 Jul 2;49(W1):W293-W296. doi: 10.1093/nar/gkab301. PMID: 33885785.
- Uribe-Herranz M, Bittinger K, Rafail S, Guedan S, Pierini S, Tanes C, Ganetsky A, Morgan MA, Gill S, Tanyi JL, Bushman FD, June CH, Facciabene A. Gut microbiota modulates adoptive cell therapy via CD8 $\alpha$  dendritic cells and IL-12. *JCI Insight*. 2018 Feb 22;3(4):e94952. doi: 10.1172/jci.insight.94952. PMID: 29467322.
- Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018 Jan 5;359(6371):97-103. doi: 10.1126/science.aan4236. Epub 2017 Nov 2. PMID: 29097493.
- Gopalakrishnan V, Helmink BA, Spencer CN, Reuben A, Wargo JA. The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy. *Cancer Cell*. 2018 Apr 9;33(4):570-580. doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.015. PMID: 29634945.
- Griffin ME, Espinosa J, Becker JL, Luo JD, Carroll TS, Jha JK, Fanger GR, Hang HC. Enterococcus peptidoglycan remodeling promotes checkpoint inhibitor cancer immunotherapy. *Science*. 2021 Aug 27;373(6558):1040-1046. doi: 10.1126/science.abc9113. PMID: 34446607; PMCID: PMC9503018.
- Goubet AG, Wheeler R, Fluckiger A, Qu B, Lemaître F, Iribarren K et al. Multifaceted modes of action of the anticancer probiotic *Enterococcus hirae*. *Cell Death Differ*. 2021 Jul;28(7):2276-2295. doi: 10.1038/s41418-021-00753-8. Epub 2021 May 11. PMID: 33976389.
- Matson V, Chervin CS, Gajewski TF. Cancer and the Microbiome-Influence of the Commensal Microbiota on Cancer, Immune Responses, and Immunotherapy. *Gastroenterology*. 2021 Jan;160(2):600-613. doi: 10.1053/j.gastro.2020.11.041. Epub 2020 Nov 28. PMID: 33253684.
- Roberti MP, Yonekura S, Duong CPM, Picard M, Ferrere G, Tidjani Alou M et al. Chemotherapy-induced ileal

- crypt apoptosis and the ileal microbiome shape immunosurveillance and prognosis of proximal colon cancer. *Nat Med.* 2020 Jun;26(6):919-931. doi: 10.1038/s41591-020-0882-8. Epub 2020 May 25. PMID: 32451498.
22. Pernigoni N, Zagato E, Calcinotto A, Troiani M, Mestre RP, Cali B et al. Commensal bacteria promote endocrine resistance in prostate cancer through androgen biosynthesis. *Science.* 2021 Oct 8;374(6564):216-224. doi: 10.1126/science.abf8403. Epub 2021 Oct 7. PMID: 34618582.
  23. He Y, Fu L, Li Y, Wang W, Gong M, Zhang J, Dong X, Huang J, Wang Q, Mackay CR, Fu YX, Chen Y, Guo X. Gut microbial metabolites facilitate anticancer therapy efficacy by modulating cytotoxic CD8+ T cell immunity. *Cell Metab.* 2021 May 4;33(5):988-1000.e7. doi: 10.1016/j.cmet.2021.03.002. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33761313.
  24. Poore GD, Kopylova E, Zhu Q, Carpenter C, Fraraccio S, Wandro S et al. Microbiome analyses of blood and tissues suggest cancer diagnostic approach. *Nature.* 2020 Mar;579(7800):567-574. doi: 10.1038/s41586-020-2095-1. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32214244.
  25. Sadrekarimi H, Gardanova ZR, Bakhshesh M, Ebrahimzadeh F, Yaseri AF, Thangavelu L, Hasanpoor Z, Zadeh FA, Kahrizi MS. Emerging role of human microbiome in cancer development and response to therapy: special focus on intestinal microflora. *J Transl Med.* 2022 Jul 6;20(1):301. doi: 10.1186/s12967-022-03492-7. PMID: 35794566.
  26. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science.* 2021 Feb 5;371(6529):602-609. doi: 10.1126/science.abb5920. Epub 2020 Dec 10. PMID: 33303685.
  27. Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, Rodrigues RR, Chauvin JM, Morrison RM, et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science.* 2021 Feb 5;371(6529):595-602. doi: 10.1126/science.abf3363. PMID: 33542131.
  28. Lam KC, Araya RE, Huang A, Chen Q, Di Modica M, Rodrigues RR, Lopès A, Johnson SB, Schwarz B, Bohrsen E, Cogdill AP, Bosio CM, Wargo JA, Lee MP, Goldszmid RS. Microbiota triggers STING-type I IFN-dependent monocyte reprogramming of the tumor microenvironment. *Cell.* 2021 Oct 14;184(21):5338-5356.e21. doi: 10.1016/j.cell.2021.09.019. Epub 2021 Oct 7. PMID: 34624222.
  29. Derosa L, Routy B, Desilets A, Daillère R, Terrisse S, Kroemer G, Zitvogel L. Microbiota-Centered Interventions: The Next Breakthrough in Immuno-Oncology? *Cancer Discov.* 2021 Oct;11(10):2396-2412. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-0236. Epub 2021 Aug 16. PMID: 34400407.