



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Papel de la microbiota intestinal en el cáncer
colorrectal.**

Role of the intestinal microbiota in colorectal cancer.

Autor: D. Andrei Daniel Onuta

Directora: D^a. Asunción Seoane Seoane

Santander, Junio 2020

Índice

Resumen -----	1
Abstract -----	1
Objetivos y Metodología -----	2
1. Introducción -----	2
2. Definición de la microbiota intestinal -----	2
3. Métodos de detección de la microbiota intestinal -----	3
3.1. Técnicas basadas en el cultivo -----	3
3.2. Estudios del microbioma basados en el ADN -----	3
3.3. Técnicas Ómicas -----	6
4. Estudios del microbioma a gran escala. Enterotipos -----	8
5. Establecimiento de la microbiota intestinal -----	10
6. Biogeografía de la microbiota intestinal -----	11
7. Funciones de la microbiota intestinal -----	14
8. Factores que determinan el cáncer colorrectal (CCR) -----	18
9. Papel de la dieta y estilo de vida en el CCR -----	23
10. Microbiota intestinal asociada al CCR -----	29
11. Microorganismos relacionados con el CCR -----	35
11.1. <i>Fusobacterium nucleatum</i> -----	35
11.2. Bacteroides fragilis enterotoxigénico (ETBF) -----	37
11.3. <i>E. coli</i> con isla genómica de la policétido sintetasa (productor de colibactina) -----	37
12. Papel del biofilm en la incidencia del CCR -----	40
13. Impacto de la microbiota intestinal en la eficiencia y toxicidad de las terapias contra el CCR -----	43
14. Integración de los datos del microbioma en la medicina de precisión para la prevención, diagnóstico y tratamiento del CCR -----	45
15. Modulación de la microbiota intestinal con fines terapéuticos -----	47
16. Conclusiones -----	50
Agradecimientos -----	51
Bibliografía -----	51
Anexos: Índice de Abreviaturas -----	55
Glosario -----	56

Resumen

Cada vez más se reconoce la importancia de la relación entre la microbiota intestinal y la salud humana. Ahora está bien establecido que una microbiota intestinal saludable es en gran parte responsable de la salud general del huésped. Así mismo la microbiota intestinal cada vez más se asocia con una gran variedad de enfermedades humanas como el cáncer colorrectal (CCR). La microbiota intestinal produce una serie de metabolitos y factores que afectan el metabolismo y la inmunidad del huésped. Dichas alteraciones del huésped conllevan a la aparición del CCR que se caracteriza por inflamación, disfunción de la barrera intestinal y estando involucrados mecanismos moleculares en el contexto de una disbiosis intestinal. Debido al gran impacto de la microbiota intestinal tanto en la salud como en la enfermedad se plantea la presente revisión que trata de analizar la reciente evidencia del impacto de la microbiota intestinal en el CCR considerando los microorganismos relacionados así como el papel que juega el biofilm en la incidencia del CCR. El objetivo es proporcionar un análisis del conocimiento actual del papel de la microbiota en la eficiencia y toxicidad de las terapias contra el CCR y la necesidad de integración de los datos del microbioma en la medicina de precisión para la prevención diagnóstico y tratamiento del CCR. Finalmente se incide en la modulación de la microbiota con fines terapéuticos.

Palabras clave: cáncer colorrectal, microbiota, metagenómica, biogeografía.

Abstract

The importance of the relationship between the gut microbiota and human health is increasingly recognized. It is now well established that a healthy intestinal microbiota is largely responsible for the general health of the host. Likewise, intestinal microbiota are increasingly associated with a wide variety of human diseases such as colorectal cancer (CRC). The gut microbiota generates a series of metabolites and factors that affect the metabolism and immunity of the host. Such alterations of the host lead to the appearance of CRC characterized by inflammation, dysfunction of the intestinal barrier and molecular mechanisms involved in the context of an intestinal dysbiosis. Given the great impact of the gut microbiota on health and disease, this review considers the recent evidence of the impact of the intestinal microbiota on colorectal cancer considering related microorganisms and the role of biofilm in the incidence of colorectal (CRC). The objective is to provide an analysis of the current knowledge of the role of microbiota in the efficiency and toxicity of CRC therapies and the need for integration of microbial data into precision medicine for the prevention, diagnosis and treatment of CRC. Finally this revision points out, the modulation of the microbiota used for therapeutic purposes.

Keywords: colorectal cancer, microbiota, metagenomics, biogeography.

Objetivos y Metodología

La finalidad de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica exhaustiva sobre los artículos y estudios publicados hasta el momento acerca del papel de la microbiota intestinal, en el cáncer colorrectal. El objetivo ha sido elaborar un trabajo actualizado sobre toda la información de la que se dispone en estos momentos acerca del papel de la microbiota asociado al CCR así como el impacto en eficiencia y toxicidad de las terapias contra el CCR. Para recopilar toda esta información se ha dispuesto de bases de datos como PubMed y UptoDate, haciendo una selección de artículos, citados en el apartado de bibliografía, además también se ha dispuesto de libros y fuentes de soporte digital para el desarrollo del mismo.

1. Introducción

La composición de la microbiota intestinal humana se ha relacionado con varias enfermedades. A medida que aumenta el volumen de datos relacionados con la composición y el potencial funcional de la microbiota intestinal, el número de enfermedades que se han relacionado con alteraciones en la microbiota intestinal también se ha extendido enormemente. Dado, que las muchas potenciales asociaciones entre la microbiota y las enfermedades relacionadas con la misma son demasiado grandes para resumir en una revisión, aquí el foco está en las asociaciones y el papel que juega la microbiota en la aparición y desarrollo del CCR. Se eligió el tema porque está en constante estudio con un aumento exponencial de artículos y estudios en los últimos años, también por su relevancia y por no estar aclarados del todo los mecanismos de interacción entre los diferentes miembros de la microbiota, ni de éstos con el huésped así como el papel que dichas interacciones y la composición del microbioma puedan ejercer en el CCR. Por tanto se trata de reunir el conocimiento actual, sobre el impacto de la microbiota en el CCR.

2. Definición de la microbiota intestinal

Microbiota se refiere a toda la población de microorganismos que coloniza una ubicación particular; e incluye no solo bacterias, sino también otros microorganismos como hongos, arqueas, virus y protozoos (Jandhyala et al. 2015). La colección de bacterias, arqueas y eucariotas que colonizan el tracto gastrointestinal se denomina "microbiota intestinal" y ha evolucionado junto con el huésped durante miles de años para formar una relación compleja y mutuamente beneficiosa. Se ha estimado que en el intestino habitan 1800 géneros y aproximadamente 15.000-36.000 especies de bacterias con un total que supera los 1014, con ~10 veces más células bacterianas que el número de células humanas y más de 100 veces la cantidad de contenido genómico (microbioma) que el genoma humano (25.000 genes). Sin embargo, una estimación revisada recientemente ha sugerido que la proporción de células humanas: bacterianas es en realidad más cercana a 1: 1 (Sender et al. 2016). Como resultado de la gran cantidad de células bacterianas en el cuerpo, el huésped y los microorganismos que lo habitan a menudo se denominan "superorganismos (Thursby and Juge 2017).

Aunque los dominios *Eukarya* y *Archaea* también están presentes en el intestino, son las bacterias las que predominan claramente. Los humanos adultos son colonizados por microbios de 12 *phylum* o divisiones de bacterias y al menos una división de *Archaea*. La MI está dominada por 3 *phyla* bacterianos: *Firmicutes* (Gram-positivas) (60%), *Bacteroidetes* (Gram-negativas) (25%) y *Actinobacteria* (Gram-positivas) (8%) y ya en menor proporción están *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria* y *Spirochaetes* (Thursby and Juge 2017).

3. Métodos de detección de la microbiota intestinal

Comprender la composición y la capacidad funcional del microbioma intestinal representa un gran desafío. La investigación en esta área se está expandiendo cada vez más y actualmente se están utilizando y desarrollando varios enfoques diferentes para determinar la composición microbiana intestinal, el contenido genético y la función. Un objetivo fundamental en los estudios del microbioma intestinal consiste en caracterizar la estructura y diversidad de la comunidad microbiana (Moore-Connors et al. 2015). A continuación se exponen los métodos más usados en la de detección y análisis de la microbiota intestinal.

3.1. Técnicas basadas en el cultivo

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios que examinan el microbioma intestinal se han basado en muestras de heces fácilmente accesibles, que se consideran un sustituto del contenido luminal del tracto gastrointestinal. Por lo tanto, se supone que las muestras de heces son las más representativas del microambiente luminal del colon. Sin embargo, las comunidades de microbiomas exhiben variaciones espaciales que se corresponden con diferentes nichos ecológicos a lo largo del tracto gastrointestinal del huésped (Moore-Connors et al. 2015).

Tradicionalmente, se han utilizado técnicas basadas en cultivos para determinar la composición de la microbiota intestinal. Estos enfoques generalmente se han centrado en los microorganismos "fáciles de cultivar" del intestino y se han vuelto menos populares debido a las indicaciones de que solo el 10-50% de las bacterias intestinales son cultivables (Jandhyala et al. 2015). Para los estudios en humanos del microbioma intestinal, se prefieren los procedimientos de muestreo mínimamente invasivos como las heces, sin embargo numerosos estudios informan que los perfiles de la comunidad fecal no reflejan necesariamente el microbioma asociado a la mucosa y en este caso las muestras proceden de biopsia endoscópica y hay que tener en cuenta que la preparación intestinal para los procedimientos endoscópicos puede afectar significativamente la composición del microbioma de la mucosa. Además, la cantidad de ADN bacteriano y la proporción de contaminación de ADN humano en las muestras de biopsia también deben tenerse en cuenta al decidir entre la preparación de muestras (Moore-Connors et al. 2015).

Los métodos basados en el cultivo ciertamente tienen sus limitaciones y no proporcionan fácilmente una visión general de la composición microbiana intestinal. Cabe señalar, sin embargo, que ha habido algunos avances en esta área ya que el cultivo sigue siendo esencial para conocer el papel de muchos esos microorganismos. Así surgió el término "culturómica microbiana" que consiste en detectar el máximo número de bacterias posible por muestra para identificar un rango de microbiota previamente no cultivada del intestino. Esta técnica se basa en utilizar múltiples condiciones de cultivo asociadas a la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight*). Si la identificación por MALDI-TOF no es posible se recurre a la identificación por 16S rRNA (Amrane et al. 2018).

3.2. Estudios del microbioma basados en el ADN

Los estudios de microbiomas basados en el ADN con frecuencia se dividen en una de dos categorías. Bien en los estudios de amplicones dirigidos que se centran en uno (16S rRNA) o unos pocos genes marcadores y usan estos marcadores para revelar la composición y diversidad de la microbiota. Otros estudios utilizan un enfoque metagenómico completo.

La metagenómica consiste en secuenciar el material genético de todos los diferentes microorganismos de una muestra, sin requerir su cultivo.

La figura 1 da una visión general de ambos tipos de estudio y cómo se pueden combinar. En los estudios de amplicones específicos las secuencias sin procesar se pasan a través de algoritmos de filtrado, se agrupan en unidades taxonómicas operativas (OTU) que representan organismos similares, y finalmente se deduce la filogenia y la identidad taxonómica. La abundancia de las distintas OTUs se somete luego a una variedad de análisis para dilucidar la estructura y los patrones de las comunidades microbianas. En los estudios metagenómicos (rama izquierda), los fragmentos de la secuenciación “shotgun”, sin procesar, se ensamblan en secuencias contiguas (*contigs*). El potencial funcional de estas secuencias generalmente se evalúa utilizando una base de datos de anotaciones funcionales. Los resultados se utilizan para identificar vías metabólicas importantes y se comparan con los resultados de otros estudios metagenómicos.

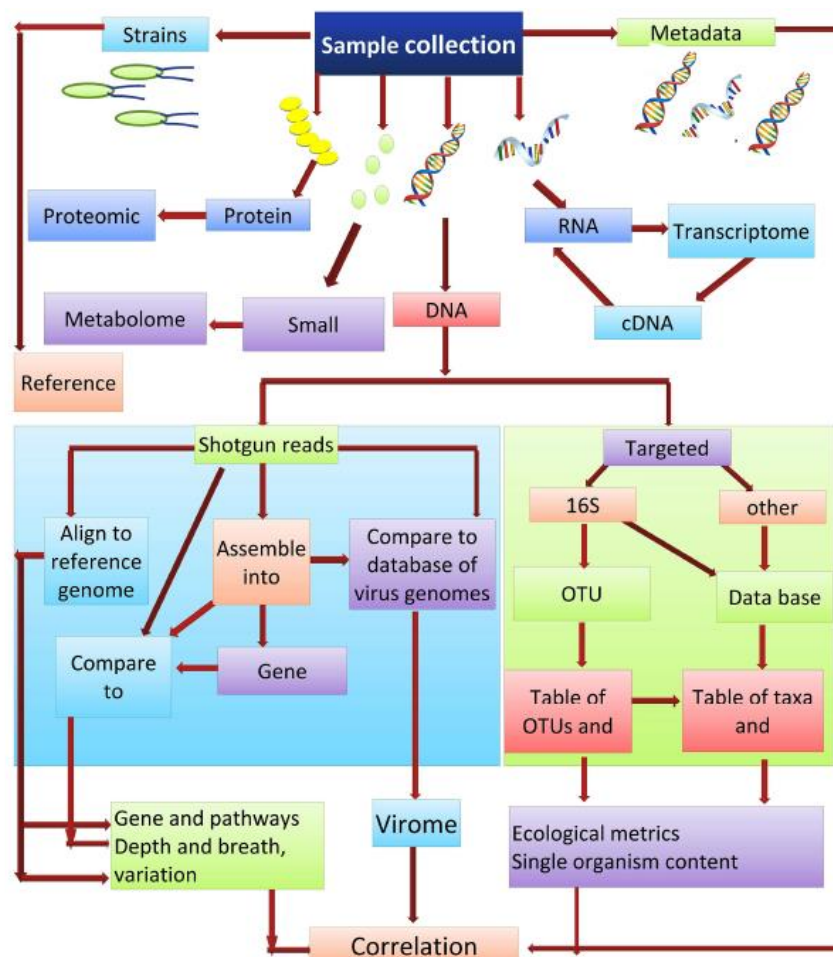


Figura 1. Esquema de análisis del microbioma, (Adaptado de Malla et al. 2019).

El gen 16S rRNA es quizás el enfoque más utilizado para caracterizar el microbioma intestinal debido a su presencia en todos los procariotas y la existencia de dominios variables que permiten distinguir diferentes taxones. El gen 16S contiene nueve regiones variables (V1 – V9) que ha divergido lo suficiente como para permitir la resolución a nivel de género y especie. Estas regiones hipervariables están flanqueadas por tramos conservados, lo que permite la amplificación por PCR de secuencias variables utilizando cebadores "universales".

El enfoque estándar para analizar los datos de la secuencia de amplicón 16S de la comunidad es agrupar las lecturas de 16S en OTUs en función de un porcentaje umbral de similitud de secuencia (generalmente 97%). Sin embargo, tiene limitaciones, como que la evaluación de la diversidad de la comunidad microbiana puede estar sesgada debido a la variabilidad en el número de copias 16S rRNA dentro y entre las OTU.

Por otro lado, la secuenciación del 16S rRNA solo proporciona información sobre la composición taxonómica de la comunidad y no puede resolver directamente las funciones biológicas asociadas con cada OTU. A pesar de ello, para comunidades que están muy bien representadas por genomas de referencia completos, como es el intestino humano, es posible inferir indirectamente las funciones biológicas computacionalmente (Moore-Connors et al. 2015).

En el caso de la metagenómica, dos enfoques diferentes son posibles: La metagenómica dirigida se basa en la amplificación de una secuencia seleccionada (a menudo una región del gen 16S rRNA) antes de la secuenciación y permite una descripción taxonómica de todos los componentes bacterianos de la muestra analizada. La otra posibilidad es la metagenómica por secuenciación “*shotgun*” que se basa en la secuenciación de todo el ADN presente en una muestra sin conocimiento a priori de su contenido y permite una descripción global de la muestra incluyendo bacterias, virus y parásitos. Los estudios metagenómicos han permitido establecer el vínculo entre disbiosis e infección. Además, han permitido un estudio rápido y extenso de la microbiota intestinal. Sin embargo, al depender del procedimiento de extracción del DNA, da una visión no completa de la composición de la microbiota y además es imposible determinar si las secuencias detectadas pertenecen a microorganismos activos o inactivos (Amrane et al. 2018).

Los métodos de secuenciación de nueva generación (SNG) también conocida como secuenciación masiva paralela han dominado la investigación de microbiota en los últimos años. Las técnicas basadas en SNG pueden usarse para secuenciar regiones de elección del gen 16S rRNA, o fragmentos metagenómicos mediante la secuenciación “*shotgun*”. A gran escala, los estudios que han usado la SNG han sido el Proyecto Human Microbiome (HMP) con sede en EE. UU (plataforma 454 de Roche) y el MetaHit con sede en Europa (plataforma de Illumina). La plataforma 454 se basa en la pirosecuenciación, en la que cada nucleótido incorporado en la cadena de ADN está acompañado por la liberación de una molécula de pirofosfato. Este pirofosfato alimenta una serie de reacciones posteriores para producir una señal fluorescente directamente proporcional al número de nucleótidos incorporados.

En el caso de Illumina, la secuenciación masiva y paralela ocurre en un proceso gradual. Primero, la muestra de ADN se corta en fragmentos cortos y se liga a “adaptadores” de oligonucleótidos sintéticos para generar una librería. Estos adaptadores se pueden indexar para que múltiples librerías de muestras puedan multiplexarse. A continuación, los fragmentos de ADN ligados al adaptador se inmovilizan en la superficie de un “*flow cell*” y se someten a la amplificación por PCR utilizando cebadores que se unen a los adaptadores. Finalmente, estos distintos grupos amplificados se secuencian simultáneamente.

Esta tecnología usa nucleótidos marcados con fluorocromos y terminadores reversibles, permitiendo así una secuenciación masiva y paralela en millones de fragmentos de ADN.

Las lecturas son cortas, de 35 nucleótidos. Una versión mejorada lo ofrece el Illumina Genome Analyzer II (que ofrece longitudes de lectura de hasta 300 pb) o el Illumina HiSeq (Malla et al. 2019).

Los datos obtenidos de la secuenciación son a menudo voluminosos, fragmentados y superpuestos por lo que se requiere aplicar un análisis bioinformático para la identificación de taxones bacterianos e incluso funciones metabólicas.

Además, el análisis estadístico de los datos de secuencia ayuda a identificar la diversidad alfa (diversidad de especies dentro del mismo individuo), la diversidad beta (diversidad de especies interindividuales), la abundancia relativa y varios otros parámetros relacionados con los organismos (Jandhyala et al. 2015). La Figura 2 muestra algunas de las herramientas bioinformáticas para el estudio de la microbiota intestinal (Malla et al. 2019).

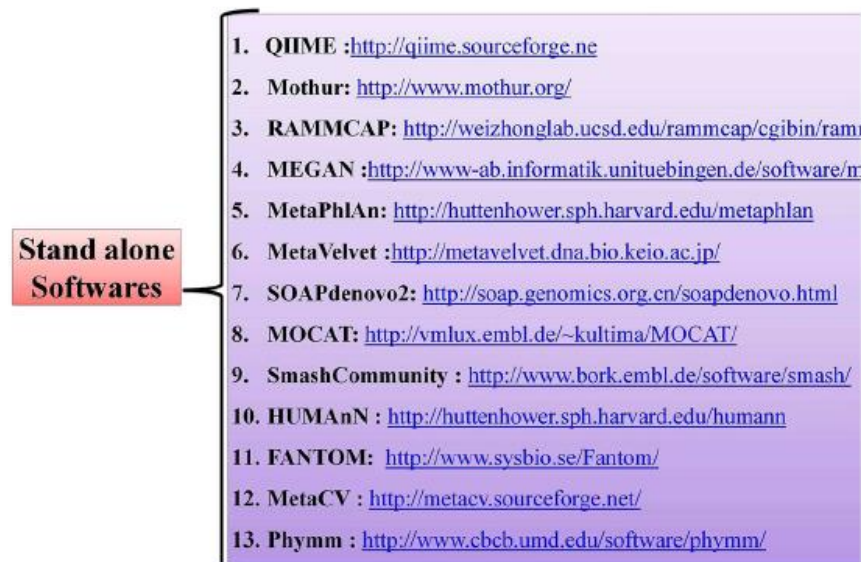


Figura 2. Herramientas bioinformáticas relacionadas con los estudios de la microbiota intestinal, (Adaptado de Malla et al. 2019).

3.3. Técnicas Ómicas

Los estudios multi-ómicos utilizan técnicas de alto rendimiento para estudiar la actividad de los genes, proteínas y metabolitos en una amplia gama de entornos diferentes (Gutleben et al. 2018). Para determinar la actividad microbiana específica, es necesario analizar la expresión génica mediante la metatranscriptómica, o los productos proteicos con la metaproteómica y también de los perfiles metabólicos a través de la metabolómica. Metatranscriptómica es el análisis del ARN total de una comunidad biológica, se ha utilizado para observar la composición de la microbiota activa en individuos sanos y ha revelado que el perfil transcripcional entre individuos es más similar al indicado por la diversidad taxonómica asociada (Gutleben et al. 2018). La metaproteómica permite vincular genotipos a fenotipos de comunidades microbianas mediante la detección de componentes catalíticos funcionales. La metabolómica proporciona perfiles metabólicos globales de un individuo en tiempo real y permite analizar miles de metabolitos simultáneamente. La combinación de perfiles metabólicos y estudios metagenómicos permite el estudio del metabolismo del huésped y microbiano con gran detalle. La metagenómica debe complementarse con metatranscriptómica, proteómica, metabolómica y metadatos, así como información clínica y dietética, para obtener modelos mecanicistas que expliquen la estructura y función del microbioma (Shabana et al.2018). En la tabla 1 se describen las técnicas más usadas para la caracterización de la microbiota.

Tabla 1. Métodos más utilizados en el estudio de la microbiota intestinal

Técnica	16S rRNA	Sensibilidad	Ventajas	Limitaciones
Cultivo	No	Moderada	Información funcional de los organismos y caracterizar especies nuevas	Trabajo muy laborioso. Las cepas no cultivables no se pueden detectar
FISH*	Si	Buena	Se dirige a los taxones bacterianos tanto a nivel de especie como de grupo. Enumeración de bacterias no dependientes del número de copias de 16S	No se identificaron nuevos taxones. Requiere cepas de referencia para la validación. Laborioso. Detección no a nivel comunitario
qPCR**	Si	Buena	Detecta taxones específicos o superiores	Trabajo laborioso para una mayor validación. Requiere cepas de referencia. El número de copias de 16S RNAr varía. Detección no a nivel comunitario
DGGE***	Si	Mala	Da una visión rápida y barata de las bacterias predominantes en el ecosistema.	Baja reproducibilidad y sensibilidad.
Microarrays filogenéticos	Si	Buena	Detección rápida y extensa de muestras Microbiota intestinal basadas en secuencias ya conocidas	No detecta nuevos grupos filogenéticos
Secuenciación masiva del 16S rRNA	Si	Buena	Alto rendimiento. Detecta nuevas especies	Requiere análisis bioinformático complejo. La formación de quimeras en la PCR es el mayor sesgo
Metagenómica	Genoma completo	Buena	Alto rendimiento, detecta nuevos genomas	Requiere análisis bioinformático complejo. Las células muertas no se distinguen de las vivas
Metatranscriptómica	ARN aislado de una comunidad compleja	Buena	Análisis de genes expresados	Caro y sensible
Metaproteómica	Extracción y separación de proteínas de una comunidad compleja	Buena	Detección e identificación de diversas proteínas	Problemas de purificación
Metabolómica	Estudio de la función mediante perfiles metabólicos	Buena	Análisis de metabolitos	Complicación en el análisis en caso de varios metabolitos
Culturómica	Utiliza múltiples condiciones de cultivo con espectrofotometría de masas y/o secuenciación del 16S rRNA	Buena	Identificación de especies bacterianas previamente no cultivadas	Laborioso

*Hibridación fluorescente in situ (FISH); **PCR cuantitativa (qPCR); ***Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE). (Adaptado de Shabana et al. 2018).

4. Estudios del microbioma a gran escala. Enterotipos

Tanto el estudio europeo del metagéno del tracto intestinal humano (MetaHIT) como el Proyecto de Microbioma Humano de EE. UU (HMP Consortium) se han basado en la secuenciación masiva paralela a gran escala y han caracterizado la microbiota intestinal saludable y cómo se altera ésta en estado de enfermedad. El MetaHIT se centró en investigar la correlación entre el microbioma intestinal y las patologías intestinales, particularmente la obesidad y la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Este consorcio secuenció el ADN fecal de una cohorte de 124 individuos, incluidos sujetos sanos y aquellos con EII u obesidad, estableciendo un catálogo de genes no redundantes del tracto intestinal. Este proyecto indicó que el 40% de los genes se compartían entre la mayoría de los individuos y, por lo tanto, representaban un metagenoma central. También se encontró que el 99.1% de los genes eran de origen bacteriano, y la mayoría de los genes restantes eran de arqueas y un número relativamente pequeño de genes eucariotas y virales. El HMP se llevó a cabo en 10 años y en dos fases. En la primera fase estudió la diversidad de la microbiota en múltiples sitios del cuerpo, en sujetos sanos, para determinar la composición de referencia del microbioma humano sano. En la segunda fase, el denominado Proyecto Microbioma Humano Integrativo (HMP) estudió los cambios dinámicos del microbioma en tres situaciones: embarazo, EII y prediabetes, (Fig. 3), («The Integrative Human Microbiome Project» 2019).

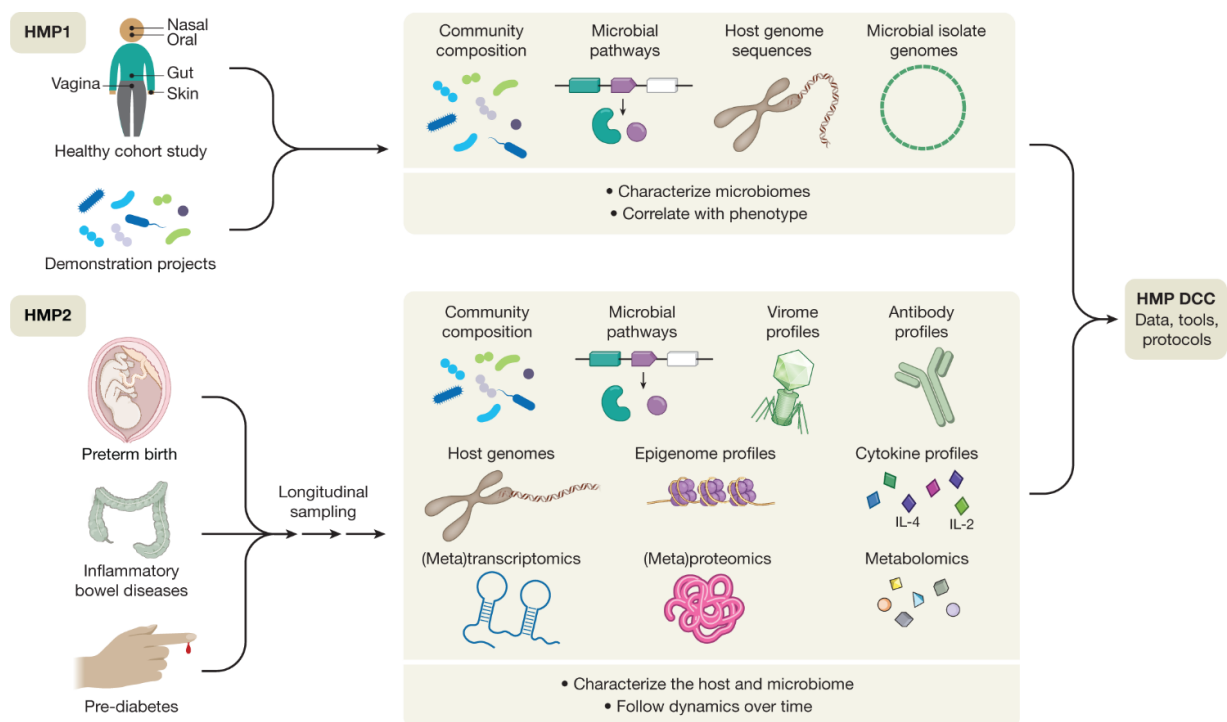


Figura 3. Describe la organización del Proyecto de Microbioma Humano (HMP) de NIH en dos fases (HMP1 y HMP2). El HMP1 se centró en la caracterización de comunidades microbianas de numerosos sitios del cuerpo (oral, nasal, vaginal, intestinal y de la piel) en un estudio de referencia de sujetos adultos sanos e incluyó un conjunto de proyectos basados en enfermedades o trastornos específicos. El HMP2 se centró en afecciones asociadas con el microbioma: embarazo y parto prematuro (microbiomas vaginales de mujeres embarazadas), enfermedades inflamatorias del intestino (microbioma intestinal) y prediabetes (intestino y microbiomas nasales) («The Integrative Human Microbiome Project» 2019).

Los datos compilados de MetaHIT y el Proyecto de Microbioma Humano identificaron 2172 especies aisladas de seres humanos, clasificadas en 12 *phylum* diferentes, de los cuales el 93.5% pertenecían a *Proteobacterias*, *Firmicutes*, *Actinobacterias* y *Bacteroidetes*. Tres de los 12 phyla identificados contenían solo una especie aislada de humanos, incluida una especie intestinal, *Akkermansia muciniphila*, el único representante conocido del *phylum Verrucomicrobia*. En los humanos, 386 de las especies identificadas son estrictamente anaeróbicas y, por lo tanto, generalmente se encuentran en regiones de la mucosa, como la cavidad oral y el tracto gastrointestinal (Thursby and Juge 2017).

Aunque la composición de la microbiota intestinal cambia de individuo a individuo y podría compararse a una huella digital, se ha propuesto la existencia de 3 enterotipos (Arumugam et al. 2011) en función de su composición. Los enterotipos se basan en la mayor abundancia de uno de los tres géneros siguientes: Enterotipo 1 (*Bacteroides*), Enterotipo 2 (*Prevotella*, un género cuya abundancia está correlacionada inversamente con *Bacteroides*) y Enterotipo 3 (*Firmicutes*, principalmente *Ruminococcus*) (Fig.4).

Los análisis se realizaron a nivel de género y las variaciones a nivel de especie pueden contribuir a las diferencias funcionales entre individuos, que son importantes en un contexto clínico (Costea et al. 2018).

La existencia de enterotipos, basados principalmente en la composición de especies sugiere, que la variación de la microbiota intestinal no es continua está estratificada y que existen diferencias funcionales entre los tres enterotipos. Así, el enterotipo 2 parece estar relacionado con dietas no occidentales y/o ricas en fibra, lo cual no es sorprendente dado que *Prevotella* está especializada en la degradación de las fibras vegetales y además se ha encontrado un potencial de fermentación lipolítico y proteolítico disminuido en este enterotipo. Por el contrario, el enterotipo 1 se ha asociado a dietas enriquecidas en proteínas animales y grasas saturadas y también a la presencia de una gran proporción de *Bacteroides* con enzimas especializados en la degradación de carbohidratos animales (hexoaminidasas y galactosidasas), así como a un aumento del potencial sacarolítico y proteolítico (Costea et al. 2018).

Se había especulado que los enterotipos serían unos patrones que nos ayudarían a comprender la complejidad de la MI e incluso podrían llegar a ser relevantes en la práctica clínica con implicaciones para el tratamiento personalizado a través de intervenciones nutricionales, microbianas y farmacéuticas, de tal forma que la estratificación puede ser un punto de inicio para áreas clínicamente relevantes análogo al índice de masa corporal donde los límites son una guía importante para el riesgo de enfermedad del paciente (Costea et al. 2018). Sin embargo, la evidencia que rodea la existencia y la formación de estos enterotipos es controvertida y no explica la distribución relativa de las diferentes clases de organismos en los diferentes individuos. Además, se ha observado que los enterotipos no son tan estables como se pensaba variando con la edad, dieta y antibióticos e incluso la estratificación es diferente dependiendo del método de estudio empleado, siendo los enterotipos continuos más que discretos, como se observa en la Figura 4 (Cheng and Ning 2019).

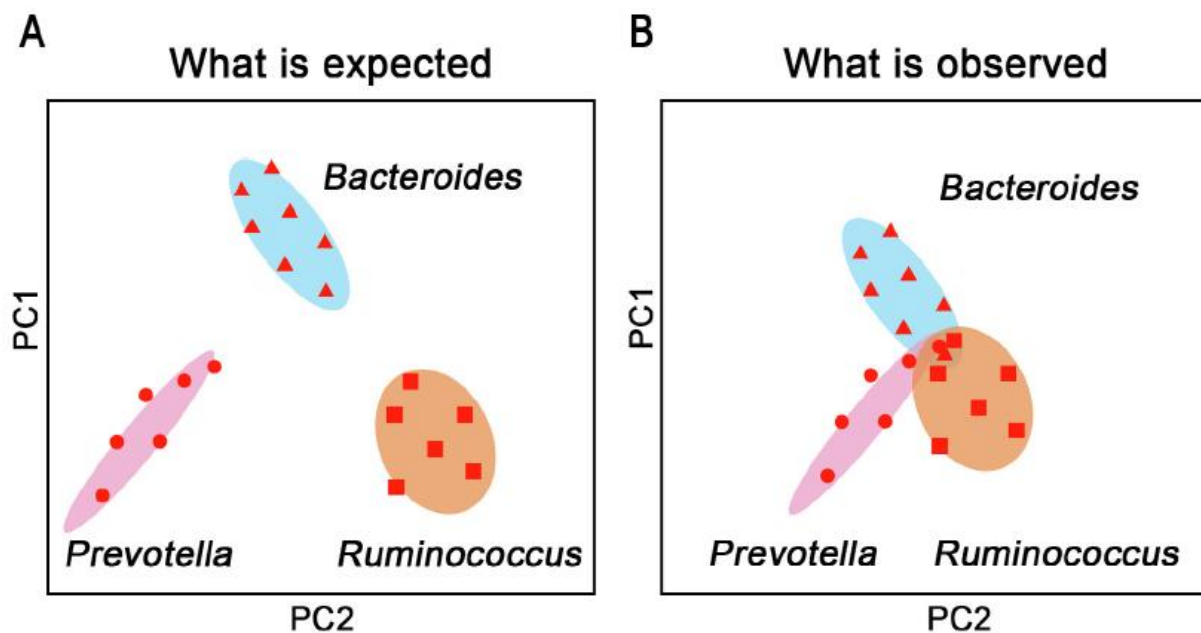


Figura 4. Describe que los enterotipos son continuos más que discretos, (Adaptado de Cheng and Ning 2019).

5. Establecimiento de la microbiota intestinal

Aunque se cree ampliamente que el intestino es colonizado por microorganismos inmediatamente después del nacimiento, hay evidencia emergente de que el intestino infantil podría ser colonizado por organismos incluso en el útero (Jandhyala et al. 2015). La evidencia experimental sugiere que, en condiciones gestacionales normales, las bacterias del intestino materno se transmiten al torrente sanguíneo de la madre y, en última instancia, pueden residir en la placenta o pasar a través de la placenta y entrar en el líquido amniótico (Duranti et al. 2017). Los intestinos de los bebés nacidos por vía vaginal son colonizados inicialmente por organismos de la vagina materna, que se ejemplifica mejor con los organismos de los géneros *Lactobacillus* y *Prevotella*. Por el contrario, en el parto por cesárea, principalmente la flora de la piel materna coloniza el intestino del bebé, como lo demuestra el dominio de *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium* (Argenio and Salvatore 2015).

El medio inicial de la microbiota intestinal del bebé después de la inoculación primaria parece inestable y carente de diversidad; pero con el tiempo se estabiliza, diversifica y adquiere un 40% - 60% de similitud con la microbiota adulta a la edad de 3 años (Jandhyala et al. 2015). Se cree que varios factores, como la edad gestacional, la dieta (p. Ej., leche materna versus leche de fórmula), el saneamiento y el tratamiento con antibióticos influyen en el desarrollo y la composición de la microbiota intestinal con la aparición y el dominio de los miembros *Firmicutes* y *Bacteroidetes* y la reducción de otros phyla, como las proteobacterias y las actinobacterias (Duranti et al. 2017).

Por el contrario, los estudios también han demostrado que los niños pequeños y los adolescentes pueden demostrar diferencias significativas en las proporciones de *Bacteroides* y *Bifidobacterium* en comparación con los adultos.

La microbiota intestinal en general descansa en un estado estable desde la tercera hasta la séptima década de la vida, a pesar de que las proporciones de *Bifidobacterium*, *Firmicutes* y *Faecalibacterium prausnitzii* tienden a disminuir con un aumento de *E. coli*, *Proteobacteria* y *Staphylococcus* (Jandhyala et al. 2015). En individuos mayores de 65 años, la comunidad microbiana cambia, con una mayor abundancia de *Bacteroidetes* y *Clostridium tipo IV*, en contraste con los sujetos más jóvenes donde el tipo XIVa es más frecuente.

La microbiota de personas centenarias también exhibió diferencias específicas de grupo, como un aumento en la abundancia de anaerobios facultativos (p. Ej., *Escherichia coli*) y la reorganización del perfil de los productores de butirato (p. Ej., disminución de *Faecalibacterium prausnitzii*) (Thursby and Juge 2017). Los estudios longitudinales pueden proporcionar información muy necesaria sobre la variabilidad temporal del microbioma intestinal dentro de un individuo. En general la microbiota se mantiene relativamente estable durante la vida adulta hasta la vejez, cuando la composición de la microbiota cambia nuevamente (Tabla 2).

Tabla 2. Composición de la microbiota intestinal humana a lo largo de la vida

Composición microbiana a nivel de <i>Phylum</i> (de más a menos)		Factores modificadores
Infante (hasta 2–3 años)	<i>Actinobacterias</i> , <i>Proteobacterias</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i>	Parto vaginal versus parto por cesárea- Edad gestacional- Hospitalización infantil- Mama versus fórmula alimentada- Edad a la introducción de alimentos sólidos- Desnutrición- tratamientos antibióticos.
Adulto	<i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Actinobacterias</i> , <i>Proteobacterias</i>	- Dieta- Ciclos hormonales- Viajes- Terapias- Enfermedad.
Ancianos (70 años)	<i>Firmicutes</i> , <i>Actinobacterias</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacterias</i>	- Cambios de estilo de vida- Cambios nutricionales- Mayor susceptibilidad a infecciones y enfermedades inflamatorias.- Uso de más medicamentos.
En condiciones saludables, la diversidad microbiana y la riqueza aumentan con la edad y alcanzan su mayor complejidad durante la edad adulta. A pesar de las variaciones inter e intra individuales, el microbioma intestinal es prácticamente estable en adultos sanos. En los ancianos, como en los bebés, el microbioma intestinal es más inestable y también tiene una menor diversidad con respecto a los adultos, (Adaptado de Argenio and Salvatore 2015).		

6. Biogeografía de la microbiota intestinal

El intestino contiene varios hábitats distintos que seleccionan la organización espacial heterogénea de los microorganismos alojados en su interior. La variación en la localización y densidad microbiana dentro del tracto digestivo se ha descrito a lo largo de la longitud del intestino (desde la boca hasta el recto) y de la sección transversal (desde la mucosa asociada a la luz). Las bacterias no están distribuidas uniformemente en toda la luz, la gran mayoría de las bacterias intestinales se encuentran dentro de la digesta transitoria que pasa a través de la luz del tracto gastrointestinal. Aunque la luz es un espacio continuo, las propiedades del microambiente local impulsan la variación tanto en la identidad como en la abundancia de taxones (Tropini et al. 2017).

Las variaciones fisiológicas a lo largo del intestino delgado y el colon incluyen gradientes químicos y de nutrientes, así como la actividad inmune compartimentada del huésped, que se sabe que influyen en la composición de la comunidad bacteriana.

Por ejemplo, el intestino delgado es más ácido y tiene niveles más altos de oxígeno y antimicrobianos que el colon. Gradientes químicos, como el pH, los niveles de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes y los efectores inmunes se encuentran entre los muchos factores hipotéticos que impulsan la heterogeneidad a lo largo de los ejes longitudinal y transversal (Tropini et al. 2017).

Por lo tanto, la comunidad microbiana del intestino delgado está dominada por anaerobios facultativos de rápido crecimiento que toleran los efectos combinados de los ácidos biliares y los antimicrobianos, mientras siguen compitiendo efectivamente con el huésped y otras bacterias por los carbohidratos simples que están disponibles en esta región del tracto gastrointestinal. Los ácidos biliares, secretados a través del conducto biliar en el extremo proximal del intestino delgado, son bactericidas para ciertas especies debido a sus propiedades tensoactivas y se sabe que dan forma a la composición de la microbiota, especialmente en el intestino delgado. Además, algunos factores del huésped conducen a una variación microbiana transversal del intestino. La pared del colon se pliega sobre sí misma y crea regiones entre pliegues que son diferentes de la luz central (Fig. 5) (Donaldson et al. 2015).

Por lo tanto hay una diferencia longitudinal y también existe una diferencia axial desde la luz hasta la superficie mucosa del intestino. Mientras que *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus* son los géneros microbianos luminales predominantes (que se pueden identificar en las heces), solo *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Akkermansia* son los géneros predominantemente detectados en la mucosa y en las criptas epiteliales del intestino delgado (Jandhyala et al. 2015). La capa mucosa, las criptas del colon y el apéndice son ejemplos de sitios anatómicos privilegiados que están protegidos de la corriente fecal y accesible solo para ciertos microorganismos. Específicamente, las familias *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* se enriquecieron en las regiones intermedias, mientras que las familias *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae* y *Rikenellaceae*, prevalecieron en el compartimento luminal. Ambos sitios contienen mucha mucosidad como fuente de nutrientes de algunas bacterias.

El ciego y el colon constituyen las comunidades más densas y diversas de todos los hábitats del cuerpo. Solo en el extremo distal del intestino delgado, en el íleon terminal, las densidades bacterianas alcanzan niveles similares a los encontrados en el intestino grueso. Además de la variación en la composición de la comunidad microbiana longitudinalmente dentro del intestino, varios factores del huésped conducen a las diferencias de la comunidad sobre el eje transversal del intestino (Fig. 6). Toda la pared del colon se pliega sobre sí misma, creando compartimentos entre los pliegues que son distintos del compartimento luminal central. En relación con la digesta, es probable que las regiones entre pliegues contengan mayores cantidades de moco, que pueden servir como fuente de nutrientes para ciertas bacterias. Además de la densidad de moco, las moléculas antimicrobianas y el oxígeno secretado por el epitelio se acumulan a altas concentraciones locales dentro de la mucosa, especialmente en el intestino delgado, lo que restringe en gran medida a los posibles habitantes microbianos. Las capas mucosas del tracto gastrointestinal crean ambientes que son hábitats distintos y protegidos para ecosistemas bacterianos específicos que prosperan cerca del tejido del huésped.

Los microhábitats como las criptas, el moco y el apéndice pueden ser cruciales para facilitar la homeostasis inmune, proteger a los habitantes microbianos de los competidores y repoblar el intestino después de perturbaciones catastróficas que alteran la estructura de la comunidad bacteriana o agotan ciertas especies de la luz.

Por lo tanto la microbiota, dentro del intestino, está estratificada biogeográficamente en diferentes escalas y ejes espaciales. El progreso hacia una comprensión funcional de la microbiota vendrá de prestar mayor atención a los microhábitats dentro del ecosistema intestinal y a las relaciones espaciales entre microorganismos y entre microorganismos y el huésped (Donaldson et al. 2015).

Dominant gut phyla:

Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia

Predominant families in the:

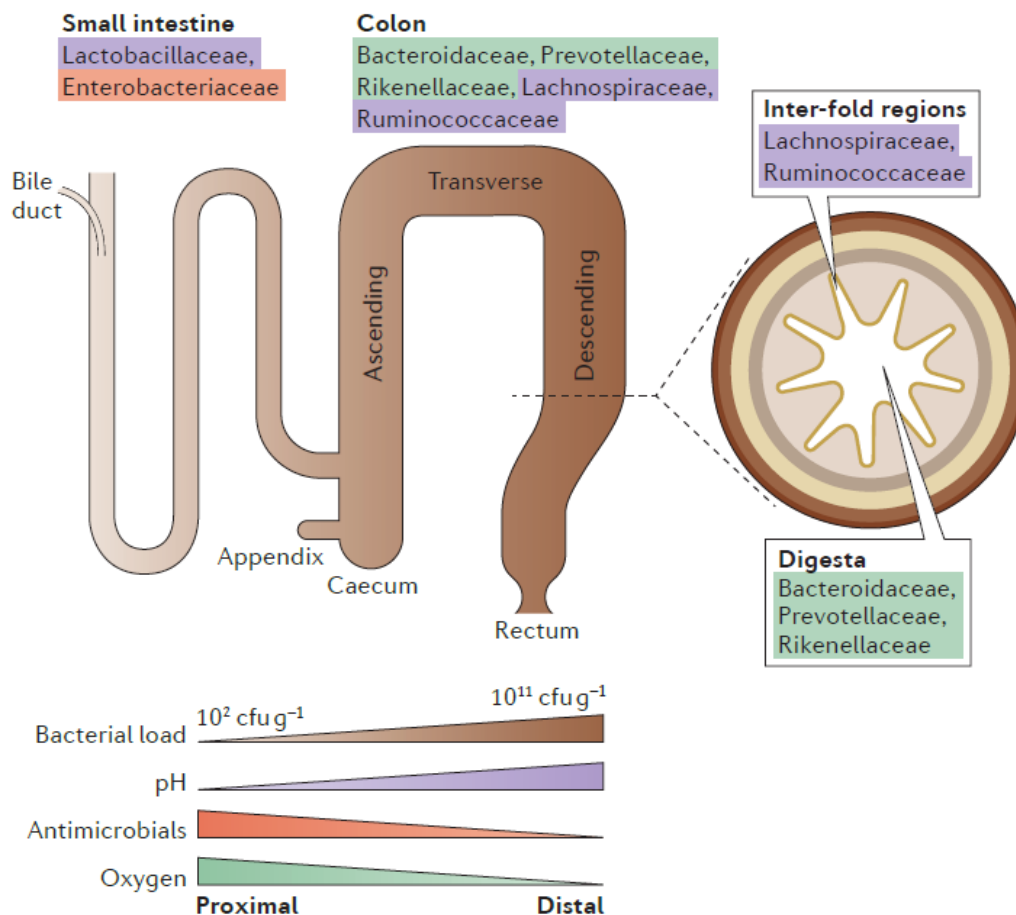


Figura 5. (Adaptado de Donaldson et al. 2015).

Figura 5. Hábitats microbianos en el tracto gastrointestinal inferior humano. Los *phylum* bacterianos dominantes en el intestino son *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Las familias bacterianas dominantes del intestino delgado y el colon reflejan diferencias fisiológicas a lo largo del intestino. Por ejemplo, un gradiente de oxígeno, péptidos antimicrobianos (incluidos los ácidos biliares, secretados por el conducto biliar) y el pH limita la densidad bacteriana en la comunidad del intestino delgado, mientras que el colon lleva altas cargas bacterianas. En el intestino delgado, dominan las familias *Lactobacillaceae* y *Enterobacteriaceae*, mientras que el colon se caracteriza por la presencia de especies de las familias *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*. Una sección transversal del colon muestra la digesta, que está dominada por *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*, y las regiones entre pliegues de la luz, que están dominadas por *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*.

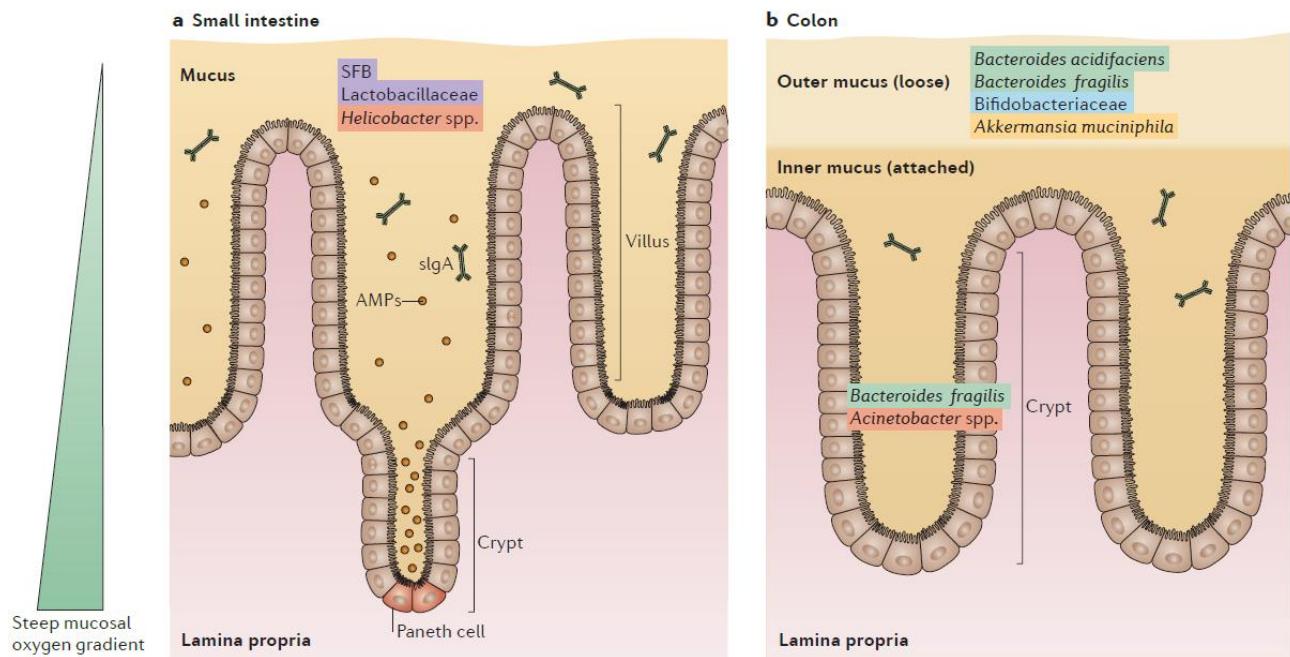


Figura 6. (Adaptado de Donaldson et al. 2015).

Figura 6. Capas mucosas del intestino delgado y del colon. Varios factores limitan la capacidad de las bacterias intestinales para acceder a las células huésped, como las capas de moco en el intestino delgado y el colon; péptidos antimicrobianos (AMP) en el intestino delgado, incluidos los producidos por las células de Paneth en la base de las criptas; inmunoglobulina secretada A (IgAs) tanto en el intestino delgado como en el colon; y un fuerte gradiente de oxígeno que influye en las bacterias capaces de sobrevivir cerca de la superficie epitelial. La superficie del intestino delgado tiene forma de vellosidades y criptas y está colonizada por ciertas especies adherentes, incluidas las bacterias filamentosas segmentadas (SFB), *Lactobacillaceae* y *Helicobacter spp.* El colon tiene dos estructuras de moco distintas: la capa externa suelta está colonizada por bacterias que degradan la mucina y se caracteriza por la presencia de *Bacteroides acidifaciens*, *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacteriaceae* y *Akkermansia muciniphila*; La capa interna de moco fuertemente adherida y las criptas son penetradas a baja densidad por una comunidad más restringida que incluye *Bacteroides fragilis* y *Acinetobacter spp.*

7. Funciones de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal mantiene una relación simbiótica con la mucosa intestinal e imparte funciones metabólicas, inmunológicas y protectoras intestinales sustanciales en el individuo sano. La microbiota intestinal es un órgano en sí mismo con una capacidad metabólica extensa y una plasticidad funcional sustancial (Jandhyala et al. 2015).

Función Metabólica: La microbiota intestinal expresa numerosas enzimas que contribuyen a la transformación y la metabolización de diferentes compuestos (Fig.7). Por ejemplo los carbohidratos no digeribles que escapan de la digestión en la parte superior del tracto gastrointestinal son fermentados por bacterias específicas, lo que conduce a la producción de productos finales como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Cani and Jordan 2018). Los AGCC como butirato, propionato y acetato, que son fuentes ricas de energía para el huésped. Además, el butirato puede prevenir la acumulación de subproductos metabólicos tóxicos como el D-lactato (Jandhyala et al. 2015). Se ha demostrado que los AGCC son reconocidos por receptores acoplados a proteína G como GPR-41 y GPR-43.

La estimulación de estos receptores desencadena la secreción de péptidos intestinales implicados en el metabolismo de la glucosa o la ingesta de alimentos, como el péptido similar al glucagón o péptido YY (PYY). Por lo tanto, al estimular las células enteroendocrinas para que produzcan hormonas clave, la microbiota actúa a distancia en diferentes órganos (Cani 2018).

La microbiota intestinal tiene un impacto positivo en el metabolismo de los lípidos al suprimir la inhibición de la actividad de la lipoproteína lipasa en los adipocitos. Además, se ha demostrado que *Bacteroides thetaiotaomicron* aumenta la eficiencia de la hidrólisis lipídica al regular la expresión de una colipasa, cofactor requerido por la lipasa pancreática para la digestión de los lípidos.

La síntesis de la vitamina K y varios componentes de la vitamina B es otra función metabólica importante de la microbiota intestinal. Se ha demostrado que los miembros del género *Bacteroides* sintetizan ácido linoleico conjugado (CLA) que se sabe que es antidiabético, antiaterogénico, antiobesogénico, hipolipidémico y tiene propiedades inmunomoduladoras. La microbiota intestinal, especialmente *Bacteroides intestinalis* y, en cierta medida, *Bacteroides fragilis* y *E. coli*, también tiene la capacidad de desconjugar y deshidratar los ácidos biliares primarios y convertirlos en ácidos biliares secundarios, deoxicólicos y litocólicos en el colon humano. La microbiota intestinal normal también juega un papel importante en el metaboloma saludable ya que aumenta las concentraciones de ácido pirúvico, ácido cítrico, ácido fumárico y ácido málico en el suero, todos los cuales son indicadores de un metabolismo de mayor energía. La microbiota intestinal también participa en la descomposición de varios polifenoles (compuestos fenólicos) que se consumen en la dieta. Los polifenoles, que generalmente permanecen inactivos en la dieta, se biotransforman en compuestos activos después de la eliminación del resto de azúcar por la microbiota intestinal, entre otros factores (Jandhyala et al. 2015).

Función en el metabolismo Xenobiótico: La capacidad del microbioma intestinal para metabolizar los xenobióticos se reconoció por primera vez hace más de 40 años. El papel de la microbiota intestinal en el metabolismo xenobiótico, podría tener un profundo impacto en la terapia para diversas enfermedades en el futuro. Un metabolito microbiano intestinal p-Cresol puede reducir la capacidad del hígado para metabolizar el acetaminofeno (paracetamol) debido a la inhibición competitiva de las sulfotransferasas hepáticas. Además, se ha demostrado que los glucósidos cardíacos como la digoxina activan un operón que contiene citocromo B en el organismo *Eggerthella lenta*, bacilo Gram positivo anaerobio del phylum *Actinobacteria*, lo que resulta en la inactivación de la digoxina. Otro ejemplo interesante es la descontaminación microbiana del fármaco anticancerígeno irinotecan, inducida por la β -glucoronidasa, que puede contribuir a diarrea, inflamación y anorexia. Por lo tanto los fitoquímicos como los xenobióticos pueden modificarse por la actividad de la microbiota intestinal. Este proceso puede activar medicamentos, cambiar su biodisponibilidad o incluso producir compuestos tóxicos (Cani and Jordan 2018).

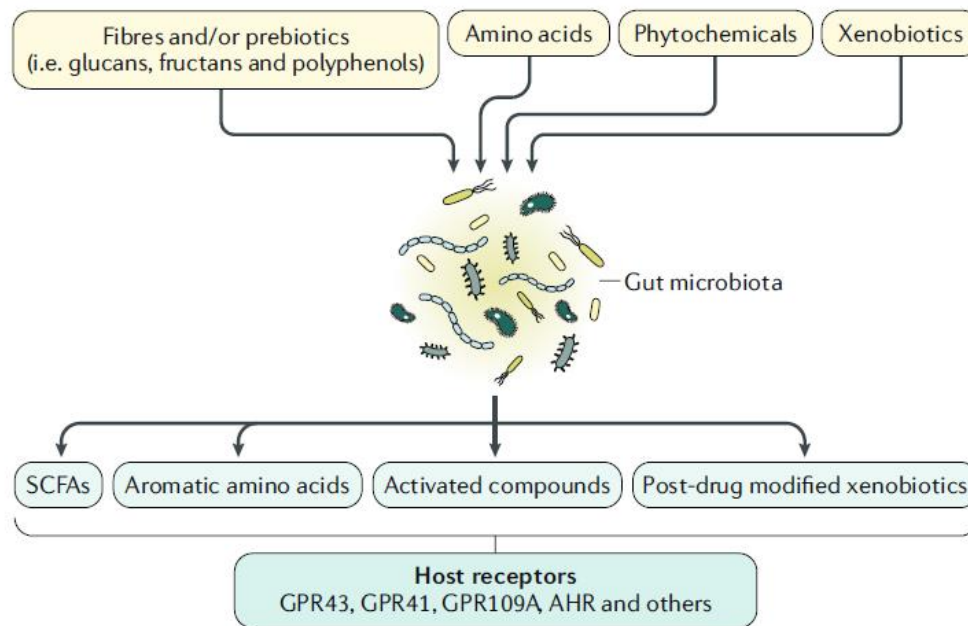


Figura 7. Producción de metabolitos activos por la microbiota intestinal, (Adaptado de Cani and Jordan 2018).

Función Antimicrobiana: El requisito de una microbiota intestinal saludable para la homeostasis normal coloca al sistema inmunitario de la mucosa intestinal en una situación desafiante, ya que debe ser tolerante con los comensales beneficiosos y, a la vez, prevenir el crecimiento excesivo de los patógenos residentes. Uno de los mecanismos más simples de protección antimicrobiana es la presencia de la capa mucosa de dos capas, que mantiene a los microorganismos luminales alejados del contacto epitelial, predominantemente en el intestino grueso. La capa interna es más densa y no contiene ningún organismo, mientras que la capa externa es más dinámica y proporciona glucanos como fuente de nutrición para los organismos.

Al contrario del intestino grueso donde el moco juega un papel importante, las proteínas antimicrobianas juegan un papel más importante en el intestino delgado ya que la capa de moco aquí es discontinua e inadecuada. La microbiota intestinal, a través de sus componentes estructurales y metabolitos, induce la síntesis de proteínas antimicrobianas (AMP) como catelicidinas, lectinas de tipo C y (pro) defensinas por las células Paneth del huésped, a través de un receptor de reconocimiento de patrones (RRP). Los RRP a su vez se activan mediante patrones moleculares asociados a microbios (PMAM) específicos de organismos. La unión RRP-PMAM resulta en la activación de varias vías de señalización que son esenciales para promover la función de barrera mucosa y la producción de AMP, glucoproteínas de mucina e IgA.

A pesar de que una microbiota sana parece ser un requisito previo para la producción de AMP, *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Lactobacillus innocua* parecen ser las especies individuales clave que impulsan esta producción. También se ha demostrado que el organismo *Bacteroides thetaiotaomicron* induce la expresión de metaloproteasa (matrilisina) que posteriormente escinde la pro-defensina producida por las células de Paneth, para formar defensina activa. Otro ejemplo de interacción microbiota huésped para proporcionar protección antimicrobiana es la capacidad del *Lactobacillus sp.* para producir ácido láctico, que puede aumentar la actividad antimicrobiana de la lisozima del huésped al alterar la membrana externa de la pared celular bacteriana.

Además de este mecanismo bidireccional interactivo de expresión de AMP, también se ha demostrado que los productos metabólicos bacterianos como los AGCC y el ácido litocólico inducen la expresión de catelicidina (péptido antimicrobiano). Además, varios transportadores de aminoácidos en la pared celular bacteriana facilitan la entrada de aminoácidos desde la luz intestinal hacia el interior de las bacterias, en donde varios productos génicos convierten los aminoácidos en pequeñas moléculas de señalización y bacteriocinas. Ejemplos importantes incluyen la conversión de L-histidina en histamina por la enzima bacteriana histamina descarboxilasa, que está codificada por los genes *hdcA*; o la conversión del glutamato a ácido gamma-aminobutírico (GABA) por acción de las descarboxilasas de glutamato codificadas por los genes bacterianos *gadB*.

La microbiota intestinal también es capaz de controlar el crecimiento excesivo de cepas patógenas induciendo inmunoglobulinas locales. Se ha demostrado que la microbiota intestinal, especialmente los organismos Gram negativos como Bacteroides, activan las células dendríticas intestinales (DC), lo que activa la expresión de IgA secretora (IgAs) por parte de las células plasmáticas de la mucosa intestinal (Jandhyala et al. 2015).

Función Inmunomoduladora: La microbiota intestinal contribuye a la inmunomodulación intestinal en conjunto con los sistemas inmunes innato y adaptativo. Los componentes y los tipos de células del sistema inmune que participan en el proceso inmunomodulador incluyen los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), las células T efectoras y reguladoras, las células B (plasma) productoras de IgA, las células linfoides innatas, los macrófagos residentes y células dendríticas en la lámina propia.

El papel de la microbiota intestinal en la formación de un GALT normal está implícito en el desarrollo de los parches de Peyer y los folículos linfoides aislados que están marcados por la abundancia de células IgE + B en lugar de las células IgA + B que se ven normalmente. Los comensales intestinales dan como resultado la activación de IL1 β mediada por la señalización TLRMyD88 que a su vez promueve el desarrollo de IL17.

La microbiota intestinal también es esencial para el desarrollo y la función normales de las células T reguladoras (Treg). Sin embargo, el mecanismo por el cual esto está mediado aún no está claro. Por ejemplo, en el caso de ciertos grupos de *Clostridium*, podría ser independiente de los RRP o dependiente de los mecanismos dependientes de My-D88. En el caso de *Bacillus fragilis*, la inducción de Tregs parece estar mediada por la señalización de TLR2 por el polisacárido A. Los AGCC, especialmente el butirato, también se han implicado en el desarrollo y la función de los Tregs. Se ha demostrado que los AGCC activan los receptores acoplados a la proteína G expresados por los CEI y regulan los Treg mediante regulación epigenética (acetilación incrementada) del locus *Foxp3*.

Como se mencionó en la sección anterior, las células plasmáticas de la mucosa producen IgA secretora tras la inducción por células dendríticas (CD). Aunque los mecanismos no están claros, se especula que esta función está mediada por la señalización My-D88 en la lámina propia y en las CD foliculares. La señalización My-D88 puede ser activada por la microbiota intestinal. La microbiota intestinal estimula el cambio de clase de IgAs, y también estimula las CD en los parches de Peyer para secretar TGF- β , CXCL13 y la proteína activadora de células B (BAFF), lo que conduce a la producción de IgA y al cambio de clase.

Se especula que la microbiota intestinal podría regular las células inmunes innatas (CLI) tanto directa como indirectamente. La evidencia a favor de la primera es proporcionada por la observación de que se estimula la CLI a través del receptor de hidrocarburos de arilo para inducir la síntesis de IL22. El mecanismo indirecto de regulación de las CLI, es a través del reclutamiento de otras células inmunes como los macrófagos. La acción inmunomoduladora de los macrófagos residentes en la lámina propia es expresar pro-IL1 β en estado estacionario, lo que ayuda a la producción rápida de IL1 β maduro en respuesta a la invasión de patógenos (Jandhyala et al. 2015).

Los exopolisacáridos de *Bifidobacterium breve* reducen la producción de citoquinas inflamatorias para amortiguar las respuestas de las células B. El polisacárido capsular de *Bacteroides fragilis*, el polisacárido A (PSA) y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producidos por muchos *Clostridium spp.* (y especies de otros géneros) estimulan la producción de la interleucina-10 antiinflamatoria (IL-10) por las células T reguladoras

(T Reg). Las bacterias filamentosas segmentadas (SFB) se intercalan entre las microvellosidades de las células epiteliales y estimulan el desarrollo de células T helper (TH17) 17, que son importantes para la inmunidad de la mucosa a los patógenos extracelulares (Donaldson et al. 2016).

Función Estructural: La microbiota intestinal participa en el mantenimiento de la estructura y función del tracto gastrointestinal. Por ejemplo *Bacteroides thetaiotaomicron* induce la expresión de una pequeña proteína rica en prolina 2A (sprr2A), que se requiere para el mantenimiento de los desmosomas en las vellosidades epiteliales. Otro mecanismo que mantiene las uniones estrechas es la señalización mediada por TLR2 que es estimulada por el peptidoglucano de la pared celular microbiana. Además, la cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG produce dos proteínas solubles, que pueden prevenir la apoptosis inducida por citoquinas de las células epiteliales intestinales.

La bacteria Gram negativa *Akkermansia muciniphilia* puede aumentar los niveles de endocannabinoides que controlan las funciones de la barrera intestinal al disminuir la endotoxemia metabólica. La microbiota intestinal contribuye al desarrollo estructural de la mucosa intestinal al inducir el factor de transcripción angiogenina3, que se ha implicado en el desarrollo de la microvasculatura intestinal. Por ejemplo, una molécula de señalización secretada por el organismo *Bacteroides thetaiotaomicron* puede estimular la expresión del resto carbohidrato fucosa en los glucoconjugados de la superficie celular (Jandhyala et al. 2015).

8. Factores que determinan el cáncer colorrectal (CCR)

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias malignas más frecuentes en el mundo occidental y precisamente debido al estilo de vida occidental se espera que su incidencia aumente en los próximos años. Su incidencia cambia con el tiempo y con las variaciones en la dieta y el estilo de vida, como lo demuestran históricamente los estudios sobre migrantes y recientemente los estudios epidemiológicos. La heterogeneidad mundial en la incidencia del CCR es un fuerte indicio de la implicación etiológica de las exposiciones ambientales, en particular el estilo de vida y la dieta.

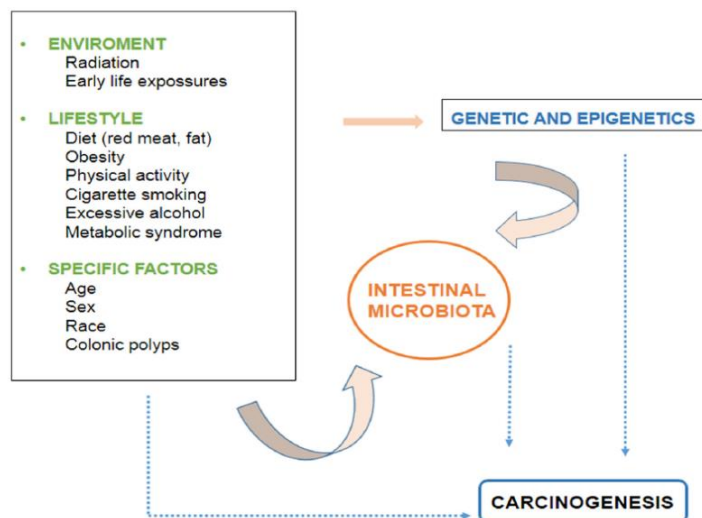


Figura 8. Factores implicados en el desarrollo del CCR, (Adaptado de Nistal et al. 2015).

Las pruebas demuestran que el estilo de vida y los componentes de la dieta que contribuyen al exceso de energía están relacionados con el aumento de CCR causado por disfunción metabólica, inflamación, estrés oxidativo, disbiosis bacteriana y ruptura de la integridad de la barrera intestinal (Murphy et al. 2019).

La degeneración maligna de las células epiteliales intestinales (CEI) y la progresión hacia el CCR implica una compleja interacción de varios tipos de factores tanto extrínsecos como intrínsecos (Nistal et al. 2015, Tilg et al. 2018) (Fig. 8). Además, se ha demostrado que la acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas en protooncogenes, genes supresores de tumores, y/o los genes de reparación del ADN, conducen a la transformación del epitelio normal en células tumorales (Saus et al. 2019). En cuanto a su origen el CCR puede tener un origen hereditario o esporádico, pero debido a que el CCR ha sido descrito como una neoplasia de múltiples factores, el tumor surge de la acumulación de múltiples mutaciones a lo largo del tiempo. Por ejemplo, las mutaciones en el gen supresor de tumores APC (*Adenomatous Polyposis Coli*) pueden ocurrir somáticamente iniciando la formación de un tumor, o ser una mutación de la línea germinal, predisponiendo así al desarrollo de un tumor (Grazioso et al. 2019).

La mayoría de los casos de CCR ocurren esporádicamente y menos del 20% de los casos de CCR son hereditarios (Saus et al. 2019). En cuanto al riesgo genético de desarrollar CCR se estima que el riesgo acumulado antes de los 75 años de edad es del 5% en la población general de un país de alta incidencia (como Corea, Noruega, Eslovaquia o Eslovenia). El riesgo de desarrollar CCR a lo largo de la vida aumenta considerablemente cuando las personas tienen antecedentes familiares de CCR o síndromes de cáncer hereditario. En el caso de los individuos con antecedentes familiares de CCR, el riesgo de CCR aumenta en 2,24 veces para aquellos con al menos un pariente de primer grado afectado (padres, hermanos o hijos) y en 3,97 veces para aquellos con al menos dos parientes de primer grado afectados. Las asociaciones se hicieron más fuertes cuando los parientes fueron diagnosticados con CCR antes de los 50 años. Excepto en los síndromes de cáncer hereditario, la mayoría de las mutaciones hereditarias conocidas, aunque genéticamente predisuestas al CCR, son de baja penetración.

Por lo tanto, una proporción sustancial de los CCR agrupados en familias no son hereditarios, pero se producen por aberraciones genómicas adquiridas, que señala la importancia de los factores de riesgo ambientales en la modulación del riesgo de CCR (Keum and Giovannucci 2019).

El CCR hereditario está vinculado a síndromes de CCR conocidos, incluyendo el cáncer de colon hereditario sin poliposis (HNPCC, o síndrome de Lynch) (Grazioso et al. 2019). El HNPCC es el síndrome hereditario más común del CCR, con una prevalencia estimada de 1 en 300 individuos en las poblaciones occidentales. El sello distintivo del HNPCC es el desarrollo de un CCR de alto nivel de MSI (*Microsatellite Instability*), localizado predominantemente en el colon proximal. El MSI se encuentra en > 95% de HNPCC y está causado principalmente por mutaciones genéticas en la línea germinal afectando a uno o más de los genes MMR (*mismatch repair*), genes de reparación de errores del ADN: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 y también en el 15-20% de los casos de CCR esporádico. El HNPCC representa entre el 2 y el 4% de todos los casos de CCR.

La segunda forma más común de síndrome de CCR hereditario es la poliposis adenomatosa familiar (PAF), que es debido a mutaciones hereditarias de la línea germinal APC (a diferencia de las mutaciones somáticas APC adquiridas). Se caracteriza por el desarrollo de cientos a miles de adenomas, principalmente en el colon distal a partir de la adolescencia. La presencia de tantos adenomas en la PAF asegura que el riesgo de CCR alcance prácticamente el 100% a la edad de 40 años, la PAF explica <1% de todos los casos de CCR. La genética contribuye al riesgo individual, pero la incidencia de la CCR en una población se ve afectada en gran medida por factores modificables de la dieta y el estilo de vida, porque las tasas pueden cambiar drásticamente en cortos períodos de tiempo y esto se observa en los inmigrantes de países con bajas tasas de CCR que asumen rápidamente las altas tasas de su país adoptivo (Keum and Giovannucci 2019). La naturaleza multifactorial de la etiología del CCR implica que es probable que los factores ambientales y genéticos interactúen en varios puntos a lo largo del proceso oncogénico del CCR, desde la iniciación hasta la promoción (Murphy et al. 2019).

Una característica fundamental del proceso de la mayoría de las carcinogénesis del CCR es la presencia de una lesión precursora benigna, definida como pólipo (Fig. 9). Los pólipos adenomatosos (adenomas) y los pólipos serrados son dos subtipos importantes que sirven como precursores directos de la mayoría de los CCR. Los adenomas representan el precursor clásico del CCR, porque aproximadamente el 85-90% de los CCR esporádicos evolucionan a partir de los adenomas (Keum and Giovannucci 2019).

La vía convencional para el CCR comienza como un pólipo adenomatoso benigno que se desarrolla progresivamente en un adenoma avanzado con displasia de alto grado y eventualmente en un tumor invasivo que lleva a la pérdida de la estructura y función epitelial. Se ha propuesto que el índice de metilación acumulado ó CMI (*Cumulative Methyl Index*) de ciertos genes específicos estén en el origen del CCR con la importante contribución de los factores microambientales que apoyan el desarrollo del tumor. Los adenomas aumentan la inestabilidad genómica de los microsatélites (MSI) y la inestabilidad cromosómica ó CIN (*Chromosome Instability*), y a medida que crecen los adenomas, adquieren mutaciones en la pequeña GTPasa KRAS, seguidas de alteraciones en la expresión de genes supresores de tumores como la pérdida de SMAD4, mutaciones inactivadoras de TP53 y la pérdida de PTEN, que en conjunto conducen a la transformación maligna del epitelio intestinal (Grazioso et al. 2019). Sin embargo, menos del 10% de los adenomas evolucionan a CCR.

Los pólipos serrados (Fig.9) representan un grupo de lesiones heterogéneas (pólipo hiperplásico, adenoma serrado tradicional, adenoma serrado sésil y pólipo mixto) que combinan el aspecto morfológico serrado de los pólipos hiperplásicos y las características displásicas de los adenomas.

Son precursores de aproximadamente el 10-15% de los CCR esporádicos. Entre los pólipos serrados, el pólipo hiperplásico es el tipo más prevalente (80-90%) (Keum and Giovannucci 2019). Los pólipos serrados se originan fundamentalmente por mutaciones BRAF e hipermetilaciones en el área promotora de las islas CpG de los genes supresores de tumores. Además, un paso importante que conduce a la inestabilidad genética es la metilación e inactivación de los genes de reparación del ADN (como el MLH1), que provocan daños en el ADN (Grazioso et al. 2019).

Se ha sugerido otra vía cancerígena distinta a las dos anteriores que implica una inflamación crónica (Fig. 9). En pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), en particular con colitis ulcerosa, se informó de un riesgo estimado 2,4 veces mayor de CCR. En estos pacientes, la carcinogénesis progresa desde la ausencia de displasia hasta la displasia indefinida, displasia de alto grado y, finalmente, el CCR (Keum and Giovannucci 2019).

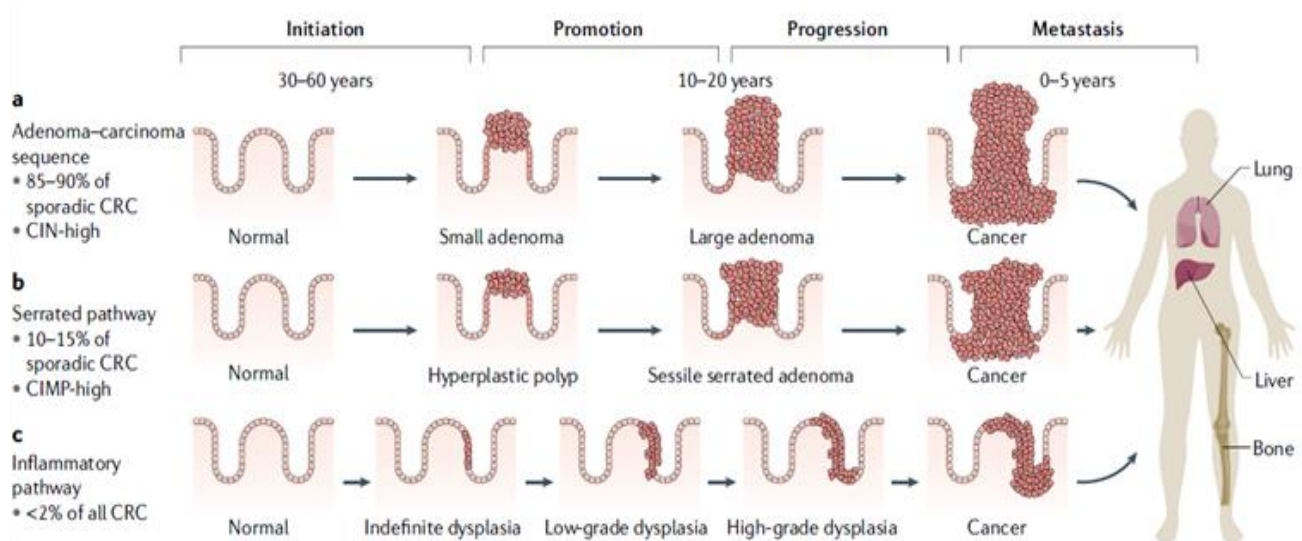


Figura 9. Vías de la carcinogénesis colorrectal, (Adaptado de Keum and Giovannucci 2019).

El cáncer colorrectal (CCR) es etiológicamente heterogéneo en cuanto a la ubicación anatómica de los tumores. Tradicionalmente, los subtipos de CCR se han definido por la localización anatómica del tumor en tres segmentos del colorrectal: colon proximal (ciego, colon ascendente, flexión hepática y colon transversal), colon distal (flexión esplénica, colon descendente y colon sigmoide) y recto. Los estudios han demostrado que los CCR en diferentes subsitios anatómicos tienen factores de riesgo distintos (por ejemplo, el fumar se asoció con un mayor riesgo de cáncer de colon proximal y de cáncer de recto, pero no con el cáncer de colon distal (Keum and Giovannucci 2019). Los bajos niveles de actividad física y un mayor índice de masa corporal (IMC) fueron principalmente asociados con un mayor riesgo de cáncer de colon distal o proximal, con relaciones más débiles o nulas encontradas para el cáncer de recto. La creciente disponibilidad de muestras de tumores ha permitido estudiar las características moleculares de los tumores y relacionarlas con los factores de riesgo del CCR (Murphy et al. 2019).

Así se ha descrito que el CCR esporádico se desarrolla principalmente por 3 eventos moleculares carcinogénicos: la inestabilidad cromosómica (CIN), la inestabilidad de microsatélites (MSI) y el fenotipo metilador o CIMP (*CpG island methylator phenotype*) (Wielandt et al. 2017). Por ejemplo, el tabaquismo se ha asociado a los tumores positivos de CIMP (CIMP+) y a los tumores con mutación BRAF y la obesidad se ha asociado con tumores estables de microsatélites (MSS) e inestables de microsatélites (MSI) tumores bajos de CCR, pero no tumores altos de MSI.

Una relación del patrón de alimentación, caracterizado por una baja ingesta de frutas y verduras y el alto consumo de alcohol y el consumo de carne roja y procesada, está positivamente asociado con los tumores localizados en la zona distal del colon y el recto, y para el tipo silvestre (no mutante) de BRAF y KRAS.

Curiosamente, los subtipos moleculares tumorales también pueden estar asociados con un enriquecimiento microbiano variable, que muestran que *Bacteroides fragilis* y el *Fusobacterium nucleatum* (Fn) sulfidogénico están significativamente más enriquecidos en tumores que son deficientes en el gen de reparación de errores del ADN (MMR) (Murphy et al. 2019). La heterogeneidad etiológica del CCR en las distintas localizaciones de los tumores podría estar relacionada, en parte, con las variaciones en las características microbianas y del intestino grueso del huésped.

A lo largo del eje colorrectal, desde el colon proximal hasta el recto, se produce un aumento progresivo del pH, de las cargas microbianas y de la abundancia de ácidos grasos de cadena corta (es decir, metabolitos microbianos), lo que podría tener implicaciones divergentes para la carcinogénesis colorrectal. Como se ha descrito anteriormente, la exposición a los principales factores de riesgo del CCR es heterogénea en base a los factores demográficos. Así, el cáncer de colon proximal es más frecuente en las mujeres, las personas mayores y las personas blancas y negras; el cáncer de colon distal en los hombres y las personas más jóvenes; y el cáncer de recto en las personas de inicio temprano (diagnóstico antes de los 50 años) y en las personas asiáticas (Fig.10).

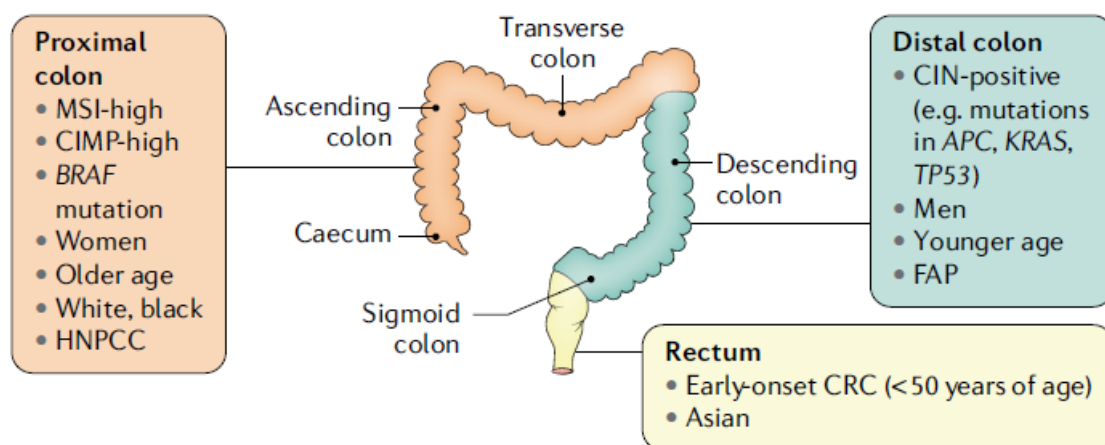


Figura 10. Subtipos anatómicos de cáncer colorrectal y sus asociaciones con las características moleculares del tumor y otros factores, (Adaptado de Keum and Giovannucci 2019).

En relación a los marcadores moleculares tumorales, el cáncer de colon proximal está enriquecido con subtipos caracterizados por MSI alto, fenotipo metilador (CIMP) alto, o mutación en BRAF, y el cáncer de colon distal por el subtipo CIN+. En el caso del síndrome de cáncer hereditario, el CCR asociado al HNPCC (cáncer de colon hereditario sin poliposis) se produce predominantemente en el colon proximal, mientras que la PAF (poliposis adenomatosa familiar) se produce en el colon distal (Keum and Giovannucci 2019).

Es muy interesante el informe elaborado en el 2017 por el Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer (WCRF) y el Instituto Americano de Investigación sobre el Cáncer (AICR), informe WCRF-AICR basado en los estudios disponibles a nivel mundial en el que se muestran las asociaciones entre los factores protectores y factores de riesgo en el cáncer colorrectal (Keum and Giovannucci 2019). También se concluyó que obesidad, baja actividad física, dietas ricas en carne roja y procesada, baja fibra, bajo contenido de granos enteros y de bajo contenido de calcio como el abuso de ingesta de alcohol, incrementan el riesgo de CCR (Tabla 3). Además en el informe se estimó que el 47% de los casos de CCR en los Estados Unidos y el 45% en el Reino Unido eran atribuibles a los factores de riesgo modificables. La incidencia y la mortalidad del CCR han ido en aumento en los países en desarrollo y en los países recientemente industrializados, como China, debido a que sus poblaciones estén adoptando dietas y estilos de vida occidentales. Las tasas de CCR se han duplicado en algunos países de Asia y Europa del Este desde mediados de la década de 1970 (Bultman 2017). También se ha aumentado la incidencia del CCR entre las personas menores de 50 años y parece estar asociada a factores dietéticos específicos que afectan a la microbiota intestinal, lo que conduce a la disbiosis. (Grazioso et al. 2019).

Aetiological factors	Level of evidence ^a	Unit increase	Colorectal cancer RR (95% CI)
Obesity	↑↑	5 kg/m ² in BMI	1.05 (1.03–1.07)
	↑↑	10 cm in WC	1.02 (1.01–1.03)
Total physical activity	↓↓	5 MET-hours per week	0.97 (0.94–0.99)
Western dietary pattern	↑↑	Highest versus lowest	1.12 (1.01–1.24)
Prudent dietary pattern	↓↓	Highest versus lowest	0.89 (0.84–0.95)
Processed meat	↑↑	50 g per day	1.16 (1.08–1.26)
Red meat	↑	100 g per day	1.12 (1.00–1.25)
Total fibre	↓	10 g per day	0.93 (0.87–1.00)
Whole grain	↓	90 g per day	0.83 (0.79–0.89)
Alcohol (as ethanol)	↑↑	10 g per day	1.07 (1.05–1.09)
Smoking ^b	↑	Current versus never smokers	1.15 (1.00–1.32)
Aspirin ^b	↑↑	75–1200 mg per day versus control	0.76 (0.63–0.94)
Total calcium ^b	↓	300 mg per day	0.92 (0.89–0.95)

Tabla 3. Resumen de las asociaciones entre los factores de riesgo o de protección y el riesgo de cáncer colorrectal (Adaptado de Keum and Giovannucci 2019).

↑↑, factor de riesgo convincente; ↑, factor de riesgo probable; ↓↓, factor de protección convincente; ↓, factor de protección probable; IMC, índice de masa corporal; IC, intervalo de confianza; CCR, cáncer colorrectal; MET, equivalente metabólico de la tarea; RR, riesgo relativo; WC, circunferencia de la cintura. a) Nivel de evidencia indicado en el informe resumido del WCRF-AICR para el CCR, excepto para el tabaquismo y la aspirina (basado en la evidencia de estudios de observación y ensayos controlados aleatorios). b) Se requirió una latencia larga para observar un efecto en el CCR.

9. Papel de la dieta y estilo de vida en el CCR

La naturaleza multifactorial de la etiología del CCR implica que es probable que factores ambientales y genéticos interactúen en varios puntos a lo largo del proceso oncogénico del CCR, desde la iniciación hasta la promoción (Murphy et al. 2019). Las pautas de incidencia del CCR varían considerablemente en el mundo, con cambios notables en las últimas décadas, aumentando con el desarrollo económico, riqueza, edad, la occidentalización de la dieta y el estilo de vida.

La obesidad se perfila como uno de los factores más relevantes que aumenta el riesgo de desarrollar CCR. Varios estudios han establecido un vínculo entre el desarrollo de la adiposidad y la creación de microambientes que son favorables para la tumorigénesis y la progresión metastásica (Raskov, et al. 2017). El exceso de adiposidad es un factor de riesgo establecido para el CCR (más fuerte para el cáncer de colon que para el cáncer rectal), que está sistemáticamente respaldado por estudios epidemiológicos que utilizan diversas medidas antropométricas. Las dos medidas más utilizadas son el IMC, y la circunferencia de la cintura (CC), que refleja en gran medida la grasa abdominal.

Algunas pruebas sugieren que la CC es un factor de riesgo más fuerte para el CCR que el IMC. Así un aumento de 10 cm en la CC se asoció con un aumento del 4% del riesgo de cáncer de colon. Además, la grasa abdominal se clasifica en dos compartimentos distintos: el tejido adiposo visceral (TAV) y el tejido adiposo subcutáneo (TAS). El TAV secreta más adipocinas proinflamatorias (como el TNF) y menos adiponectina (una hormona insensibilizante), y está más infiltrado por células inmunes (como los macrófagos). Todos estos rasgos contribuyen al desarrollo de una inflamación sistémica crónica de bajo grado y a la resistencia a la insulina. Los estados inflamatorios de bajo grado asociados con la obesidad y el cáncer comparten factores desencadenantes similares, y el LPS es uno de los ejemplos mejor estudiados de estos desencadenantes (Cani and Jordan 2018). En este estado de inflamación crónica aumentan los factores inflamatorios derivados del tejido adiposo y las adipocinas como el TNF, la leptina, la IL-1beta y la IL- 6, los cuales promueven el estrés oxidativo, la supresión del sistema inmunológico, la señalización celular aberrante, el aumento del crecimiento celular y la angiogénesis (Raskov et al. 2017).

Sin embargo, se desconoce si la inflamación relacionada con la obesidad aumenta el riesgo de CCR de forma directa o secundaria a través de procesos como la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina y la consiguiente hiperinsulinemia conducen a un aumento del factor de crecimiento insulínico libre 1 (IGF1), y se ha sugerido que la vía de señalización del IGF1 de la insulina promueve la carcinogénesis colorrectal al aumentar la proliferación celular y disminuir la apoptosis. En cualquier IMC, la obesidad visceral es más frecuente en los asiáticos que en las poblaciones blancas y en los hombres que en las mujeres, posiblemente debido a las variaciones genéticas y a las hormonas sexuales.

Esta susceptibilidad de la obesidad visceral se corresponde a un riesgo muy elevado de CCR en los individuos asiáticos dentro del rango normal de IMC, y una asociación más fuerte entre el IMC y el riesgo de CCR observado en los hombres. La evidencia sugiere que los altos niveles de estrógenos endógenos confieren protección contra el CCR a las mujeres y los altos niveles de testosterona endógena podrían reducir el riesgo en los hombres (Keum and Giovannucci 2019). Curiosamente, el aumento de la adiposidad con el envejecimiento tiene efectos diferenciales en estas hormonas; los adipocitos se convierten en el sitio principal para la producción de estrógenos después de la menopausia en las mujeres, mientras que los niveles de testosterona disminuyen con la adiposidad en los hombres.

Así, la relación positiva entre la obesidad y el riesgo de CCR podría atenuarse en la postmenopausia en las mujeres con aumento de estrógenos por exceso de adiposidad, pero se amplifica en los hombres con la disminución de la testosterona (Keum and Giovannucci 2019).

Otros posibles mecanismos relacionados con la obesidad son la disminución de la diversidad del microbioma intestinal, el aumento de la permeabilidad de la barrera mucosa intestinal a los compuestos proinflamatorios y tóxicos del medio colónico y la alteración de la inmunidad derivada del intestino (Murphy et al. 2019).

La obesidad y exceso de adiposidad se relaciona con un estilo de vida sedentario y falta de ejercicio físico. La falta de actividad física en el CCR, especialmente el cáncer de colon, es uno de los pocos cánceres en los que se reconoce como un factor de riesgo. No existe una respuesta definitiva sobre la intensidad y las dosis óptimas de actividad física para la prevención del CCR, pero la Sociedad Americana del Cáncer recomienda que los adultos realicen al menos 150 min de actividad de intensidad moderada (3-5,9 (MET) unidad de medida del índice metabólico equivalentes de tarea), 75 min de actividad de intensidad vigorosa (≥ 6 MET) o una combinación equivalente de ambos a lo largo de la semana.

Un aumento de la cantidad de ejercicio de 5 METs por semana se asoció con una reducción de aproximadamente un 8% del riesgo de cáncer de. La actividad física podría reducir el riesgo de CCR a través de sus efectos beneficiosos sobre la motilidad intestinal, el sistema inmunológico, la inflamación y las hormonas metabólicas.

Estas respuestas podrían ser, en parte, las consecuencias directas de la actividad física, pero podrían estar mediadas en gran medida por la pérdida de TAV. Independientemente del nivel de actividad física, la permanencia prolongada en sedestación, reflejada por las largas horas que se pasan viendo la televisión, se está convirtiendo en un factor de riesgo para el CCR, ya que cada aumento de 2 h por día de televisión se asocia a un riesgo elevado de CCR del 7% (Keum and Giovannucci 2019).

Dentro del estilo de vida occidentalizado se incluyen como factores de riesgo el tabaco y alcohol donde el etanol de las bebidas alcohólicas de cualquier tipo es un factor de riesgo establecido para el CCR, con su primer metabolito, el acetaldehído, evaluado como cancerígeno para los seres humanos por el Organismo Internacional de Investigación. Incluso el consumo ligero de alcohol (≤ 1 bebida alcohólica por día) se asoció con un riesgo de CCR ligero pero significativamente mayor en comparación con el consumo nulo u ocasional de alcohol. El etanol luminal es metabolizado por la alcohol deshidrogenasa microbiana en acetaldehído que causa lesiones en la mucosa y proliferación celular regenerativa. El acetaldehído tóxico también entra en las células epiteliales intestinales y se acumula debido a la baja actividad de la alcohol deshidrogenasa (ALDH) de la mucosa colónica. El acetaldehído intracelular podría promover la carcinogénesis colorrectal al causar daños en el ADN y destruir el folato intracelular, necesario para la síntesis y metilación adecuadas del ADN (Keum and Giovannucci 2019).

Un consumo diario de 10g de etanol se asocia en un aumento del riesgo de 7% (Murphy et al. 2019). En cuanto al tabaco el humo del cigarrillo contiene una mezcla de compuestos que pueden llegar fácilmente a la mucosa colorrectal a través del sistema circulatorio o por ingestión directa e inducir aberraciones genéticas y epigenéticas. El riesgo de CCR aumenta con los años de consumo, y disminuye aproximadamente un 4% por cada 10 años de retraso en la edad de iniciación en el hábito de fumar.

Fumar podría afectar el riesgo de CCR de manera diferente según los subsitios anatómicos. El tabaquismo actual se asoció con un riesgo elevado de cáncer de colon proximal y de cáncer de recto, pero no con el cáncer de colon distal. El cáncer de colon proximal está enriquecido con subtipos de MSI alto, CIMP alto, BRAF mutante. El tabaquismo actual se asoció con un riesgo aproximadamente doble de estos subtipos de CCR, pero no se asoció con sus homólogos. El tabaquismo se asoció más fuertemente con los pólipos serrados que con los adenomas clásicos. En el caso del cáncer de recto, fumar parece tener un efecto irreversible que requiere mucho tiempo para emerger por vías diferentes al CIMP alto del colon proximal.

El efecto retardado sugiere que el tabaquismo podría actuar tempranamente sobre la patogénesis del cáncer de recto. Los carcinógenos del tabaco (como los hidrocarburos aromáticos policíclicos) forman aductos de ADN, que causan daños irreversibles al ADN. Es poco probable que este daño del tabaco se vea mitigado por el hecho de dejar de fumar.

En cuanto a la dieta óptima, ha crecido el interés en el estudio de los patrones de alimentación y puntuaciones de riesgo dietético generadas por la combinación de alimentos específicos o hábitos de estilo de vida (Murphy et al. 2019). Entre los patrones alimentarios, está la dieta mediterránea es la que ha atraído más atención, con un riesgo de CCR notablemente reducido y una mayor adherencia al patrón dietético.

Por el contrario, una dieta occidental se ha asociado con un mayor riesgo de CCR (Murphy et al. 2019). Un estudio reciente valoró tres patrones dietéticos, incluyendo dietas ricas en almidón, en vitaminas y fibra, y en grasas insaturadas (tanto de origen animal como vegetal), e identificó que las dietas ricas en almidón actúan como un riesgo desfavorable predisponiendo al cáncer de colon y recto, mientras que las vitaminas y las grasas insaturadas se asociaron con un riesgo reducido de CCR (Grazioso et al. 2019).

La evidencia actual es más fuerte para las carnes procesadas que para las carnes rojas, probablemente debido a la exposición cancerígena de los métodos de preservación (ahumado, curado o salado). El hierro libre puede participar en las reacciones de Fenton, produciendo altos niveles de especies reactivas de oxígeno y productos de peroxidación de lípidos. Además, algunos mecanismos novedosos relativos al papel de las carnes en la carcinogénesis colorrectal, es la capacidad del ácido N-glicolil neuraminico (un ácido siálico no humano de la carne) para desencadenar respuestas inmunológicas, inflamación y el subsiguiente estrés oxidativo (Murphy et al. 2019). La influencia de las carnes rojas y procesadas en el CCR (Fig. 11) puede producirse a través de compuestos cancerígenos como el hierro hemo de las carnes rojas, los compuestos exógenos N-nitroso de las carnes procesadas, los ácidos grasos ionizados y los ácidos biliares secundarios atribuibles a la grasa de las carnes, las aminas heterocíclicas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos que se forman cuando las carnes se cocinan a altas temperaturas (Keum and Giovannucci 2019).

El alto consumo de alimentos que contienen fibra dietética y granos enteros se ha asociado sistemáticamente con asociaciones inversas de riesgo de CCR. Mecanismos potenciales que subyacen a las propiedades beneficiosas de la fibra dietética para la prevención de la CCR incluye un aumento de la consistencia de materia fecal, reducción del tiempo de tránsito y, en consecuencia, reducción del tiempo de contacto entre los posibles tóxicos carcinógenos y el epitelio colónico. La fibra dietética también puede aglutinar subproductos perjudiciales de la digestión, incluidos los ácidos biliares secundarios.

Además, los sustratos fermentables derivados de la fibra dietética pueden promover la diversidad microbiana y aumentar la biomasa de bacterias beneficiosas, disminuyendo así la permeabilidad intestinal y reduciendo la exposición de los colonocitos a compuestos nocivos. Por ejemplo, la fermentación de la fibra dietética produce AGCC que pueden influir en las vías de señalización metabólica y la inflamación en el intestino. Las bacterias intestinales son responsables de la fermentación de la fibra alimentaria, y se ha formulado la hipótesis de que el efecto protector de los alimentos que contienen fibra está parcialmente relacionado con la producción bacteriana de ácidos grasos de cadena corta como acetato, propionato y butirato (Murphy et al. 2019).

Aunque la fibra ha sido investigada durante muchos años, sigue siendo estudiada y proporciona nuevos conocimientos. Un estudio recientemente publicado en el que los nativos africanos y los afroamericanos participaron en una intervención dietética de dos semanas. Los nativos africanos, que tienen una baja tasa de CCR (<5 por 100.000), cambiaron sus dietas tradicionales altas en fibra por dietas occidentales bajas en fibra, mientras que los afroamericanos (tasa >10 veces más alta a 65 por 100.000) cambiaron sus dietas occidentales a dietas tradicionales con alto contenido en fibra. Los cambios en la dieta afectaron al microbioma intestinal y provocaron cambios recíprocos en los metabolitos como los AGCC, incluidos los biomarcadores de butirato y mucosa con mayor riesgo de cáncer (Bultman 2017).

En un metaanálisis de estudios observacionales prospectivos, la fibra de cereales se asoció inversamente con el riesgo de CCR, pero las fibras de frutas, verduras y legumbres no. Se observó el mismo patrón con el resultado del adenoma. Reflejando la incertidumbre, el informe del CCR de WCRF-AICR degradó el nivel de evidencia que apoyaba un papel protector de la fibra dietética de "convinciente" en 2011 a "probable" en 2017, y añadió el grano entero como un factor protector probable (Keum and Giovannucci 2019).

El grupo de expertos del WCRF/AICR también han llegado a la conclusión de que existen "pruebas contundentes" que vinculan un mayor consumo de productos lácteos con un menor riesgo de CCR, asociación que se ha atribuido en gran medida a su contenido de calcio. Se cree que el calcio puede unirse a compuestos como los ácidos grasos libres y los ácidos biliares en el medio colónico, limitando su potencial cancerígeno, pero también se ha demostrado que inhibe la proliferación celular, induce la diferenciación y la apoptosis, y suprime el daño al ADN. Otro nutriente a menudo relacionado con el calcio es la vitamina D y curiosamente se ha demostrado que un alto nivel de vitamina D antes del diagnóstico está asociado con una mayor supervivencia en los pacientes con CCR (Murphy et al. 2019).

Múltiples formas de vitamina B, como el folato (B9), la riboflavina (B2), la piridoxina (B6), la cobalamina (B12) y los aminoácidos (aa), como la metionina, son esenciales para la metilación, síntesis, estabilidad y reparación del ADN y, por lo tanto, se cree que desempeñan un papel beneficioso en el mantenimiento de la homeostasis intestinal. Entre ellos, el folato ha demostrado tener un papel protector contra el desarrollo del CCR. Vitaminas como la A, C y E tienen potentes efectos antioxidantes y antiinflamatorios. La capacidad antioxidante total está inversamente relacionada con el riesgo de CCR, lo que demuestra la reducción del riesgo de desarrollo de tumores con la administración de suplementos vitamínicos (Grazioso et al. 2019).

El microbioma intestinal responde a intervenciones dietéticas a corto plazo. Por ejemplo, cambiar de una dieta tradicional que es alta en polisacáridos vegetales incluyendo fibra y baja en grasa animal y azúcar procesado a una dieta occidental recíproca que es baja en polisacáridos/fibra vegetal y alta en grasa animal y azúcar procesado, da lugar a un rápido cambio (en el plazo de un día) en el microbioma. Muchos observaron que los cambios son los esperados y reflejan la selección natural o un proceso similar en el que ciertos géneros bacterianos crecen a expensas de otros en respuesta a un entorno alterado. Por ejemplo, el mencionado cambio de dieta a una dieta occidental dio lugar a un florecimiento de bacterias tolerantes a la bilis como la *Bifidobacteria* y los bacteroides con una disminución concomitante de *Firmicutes* como la *Roseburia* que metabolizan los polisacáridos de las plantas.

Sin embargo, las intervenciones dietéticas a corto plazo tienden a afectar transitoriamente al microbioma intestinal y, por lo general, no se mantienen tras el regreso a la dieta a largo plazo. Por esta razón, es poco probable que las intervenciones dietéticas a corto plazo tengan éxito en la remodelación del microbioma de manera estable para la prevención del CCR, como se sabe que sucede con la pérdida de peso.

Cabe señalar que nuestros conocimientos son limitados porque la dieta probablemente tiene un efecto mucho mayor en la transcripción del microbioma (metatranscriptoma) y la producción de metabolitos (metaboloma) que la abundancia relativa de bacterias específicas. Por ejemplo, las cepas de *Escherichia coli* que contienen una isla de patogenicidad *pks*, *Fusobacterium nucleatum* y *Providencia* están sobrerrepresentadas en los casos de CCR, mientras que el *Lactobacillus* y las bacterias productoras de butirato como *Roseburia* y *Fecalibacterium* están subrepresentadas. Los factores alimentarios y digestivos son metabolizados por la microbiota en supuestos oncometabolitos y metabolitos supresores de tumores (Bultman 2017).

Para ejemplificar la promoción de la carcinogénesis, las bacterias intestinales convierten los ácidos de la carne roja y la bilis producidos en respuesta a la digestión de las grasas animales en SH2 y ácidos biliares secundarios como el ácido deoxicólico (DCA), respectivamente. Para ejemplificar la prevención del cáncer, los polifenoles y la fibra de origen vegetal son convertidos por la microbiota intestinal en equol (antioxidante) o urolitinas (antiinflamatorias) y AGCC como el butirato. El microbioma intestinal afectará a muchos componentes específicos de nuestras dietas, incluyendo los aditivos y conservantes de los alimentos procesados. Un ejemplo es el papel de nuestra microbiota intestinal en la observación de que los edulcorantes artificiales (por ejemplo, los refrescos dietéticos) inducen la intolerancia a la glucosa. La dieta a largo plazo puede conducir a cambios irrevocables en el microbioma y el metabolismo que son relevantes tanto para la fibra y AGCC y la susceptibilidad al cáncer. Por lo tanto, es lógico que muchos metabolitos derivados de la dieta y de la microbiota influyen en el cáncer colorrectal (Bultman 2017).

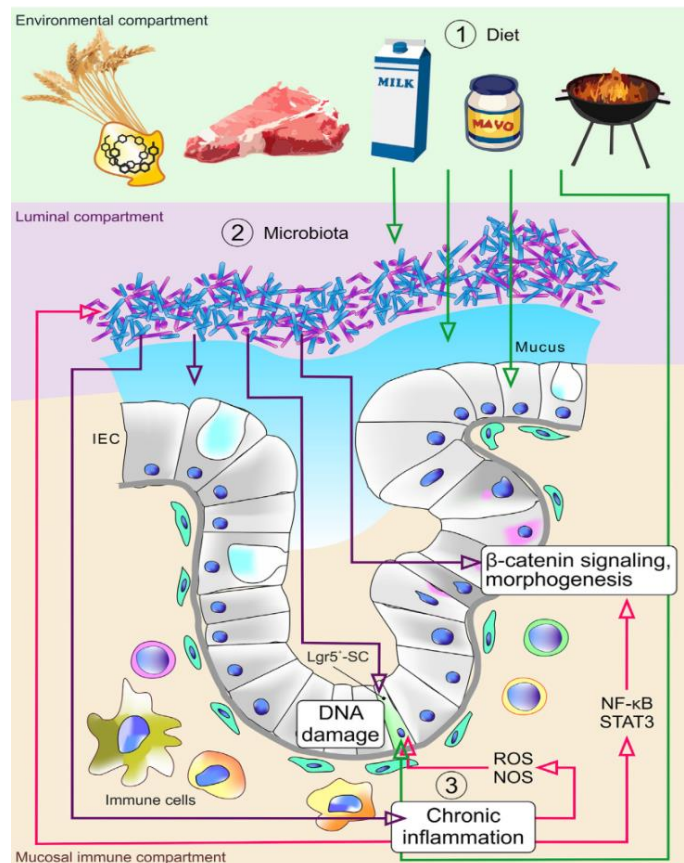


Figura 11. Impactos nutricionales en el intestino implicados en el desarrollo del CCR. (Adaptado de Tilg et al. 2018).

1). Factores nutricionales externos pueden dañar el DNA, modular la composición de la microbiota intestinal e interferir con las funciones de barrera del intestino. 2). Daños en el DNA y progresión a tumorigénesis también puede ser inducidos por la microbiota intestinal. 3) La inflamación crónica es un factor intrínseco que promueve la carcinogénesis debido a daños en el DNA y la producción de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno.

10. Microbiota intestinal asociada al CCR

La mayoría de los estudios realizados en humanos con el fin de investigar el papel de la microbiota intestinal en el CCR han adoptado un enfoque metagenómico o metataxonómico comparativo. Estos estudios demostraron que la microbiota intestinal relacionada con el CCR era diferente en comparación con la microbiota intestinal de los individuos sanos usados como controles, con una mayor riqueza de especies, menor abundancia de taxones potencialmente protectores (por ejemplo, *Roseburia*) y mayor abundancia de taxones procarcinógenos (como *Bacteroides*, *Escherichia*, *Fusobacterium* y *Porphyromonas*). Estos datos proporcionan pruebas de la importancia funcional de la comunidad microbiana sobre la carcinogénesis, y señalan un posible conjunto central de microorganismos que podrían ser cancerígenos. Además de bacterias específicas, incluidas cepas de *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus gallolyticus*, que están vinculadas individualmente al CCR en diversos estudios de asociación, los estudios metagenómicos en humanos han identificado nuevas asociaciones con otras bacterias. Estas bacterias incluyen *Fusobacterium nucleatum*, así como bacterias de los géneros *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* y *Prevotella* que mostraron una mayor abundancia en muestras fecales y tumorales de pacientes con CCR (Wong and Yu 2019).

A pesar de las variaciones geográficas de la microbiota intestinal, varios metaanálisis han mostrado asociaciones consistentes del CCR con varias bacterias en diferentes poblaciones. Estudios de la microbiota fecal identificaron un núcleo microbiano de siete bacterias que estaban enriquecidas en el CCR. Este conjunto básico incluía: *B. fragilis*, una bacteria con capacidades enterotoxigénicas asociadas al CCR; cuatro bacterias orales de *F. nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Porphyromonas asaccharolytica* y *Prevotella* intermedia; y otras dos bacterias, *Alistipes fingoldii* y *Thermanaerovibrio acidaminovorans*. Estas bacterias enriquecidas están negativamente correlacionadas con bacterias mutualistas no asociadas al CCR, incluidas varias especies que se han desarrollado como bacterias probióticas, como la productora de butirato *Clostridium butyricum* y la bacteria del ácido láctico *Streptococcus thermophilus*. Posteriormente, basándose en datos obtenidos desde el análisis de metagenomas fecales, el núcleo de 7 bacterias fue ampliado a 29 especies procedentes de ocho regiones geográficas diferentes (Wong and Yu 2019).

Cada día está más aceptado que el CCR suele aparecer tras una disbiosis de la microbiota intestinal inducida por componentes de la dieta junto a alteraciones genéticas en oncogenes y en genes supresores de tumores. El microbioma en los pacientes con CCR normalmente está enriquecido en patógenos oportunistas proinflamatorios y microorganismos asociados a desórdenes metabólicos y desprovistos de bacterias productoras de butirato, ácido graso de cadena corta esencial para el mantenimiento de la homeostasis intestinal. Otro hecho interesante es el de los adenomas colorrectales múltiples en los que se observó que especies como *F. nucleatum* y *Solobacterium moorei* mostraron un aumento progresivo en las etapas tempranas y tardías de la carcinogénesis, sin embargo especies como *Atopobium parvulum* y *Actinomyces odontolyticus* sólo se elevaron en la etapa temprana de la carcinogénesis (Wong and Yu 2019).

Se propuso un modelo dinámico basado en la ecología microbiana, el cual explicaría la participación bacteriana en el inicio y progresión del CCR. Este modelo bacteriano es conocido con el nombre de *driver-passenger* (Fig. 12).

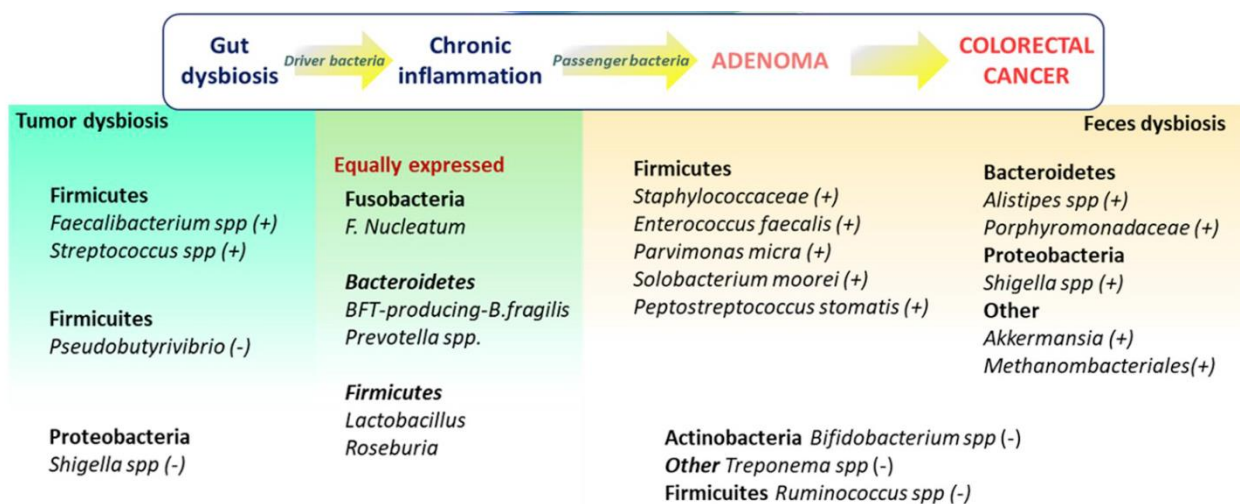


Figura 12. (Adaptado de Saus et al. 2019).

En la figura 12 vemos la disbiosis del microbioma intestinal en el CCR. Desequilibrios en la microbiota intestinal ó disbiosis intestinal que favorecen la colonización de bacterias *driver* que inducen la inflamación crónica del epitelio intestinal. Esta inflamación cambia el microambiente y permite una nueva colonización por bacterias *passenger*, las cuales pueden contribuir al proceso de carcinogénesis.

En este modelo, las bacterias patógenas autóctonas que colonizan el intestino grueso producen genotoxinas. Algunos ejemplos son la toxina de *B. fragilis* (BFT, también llamada fragilisina), la colibactina y la toxina de distensión citoletal (CDT). Las alteraciones en el microambiente tumoral causadas presumiblemente por un patógeno *driver* inducen respuestas proinflamatorias que pueden contribuir a la presión selectiva e inducir cambios posteriores en la abundancia de miembros patógenos intrínsecos (ETBF u otros patógenos *driver*) en la comunidad microbiana del colon. Esto a su vez podría conducir a un aumento del número de patógenos oportunistas (los patógenos *passenger*), como *Fusobacterium spp.* e *Streptococcus spp.*, que gradualmente superan al patógeno *driver* dentro de toda la comunidad microbiana, lo que resulta en una mayor progresión hacia la CCR. El *driver* como el ETBF, por ejemplo, podría inicialmente colonizar la mucosa intestinal y posteriormente inducir una respuesta inmunológica dependiente de la Th17. Esto daría lugar a una mayor proliferación en el epitelio intestinal, por ejemplo, mediante la activación del protooncogen K-Ras (KRAS) y el B-Raf (BRAF), o mediante mutaciones de pérdida de función en los genes supresores de tumores como el gen de la poliposis adenomatosa del colon (APC). Al mismo tiempo, el microambiente alterado podría permitir que los patógenos *passenger*, como *Fusobacterium spp.* o *Streptococcus spp.*, colonizaran la mucosa, promoviendo la progresión del CCR y superando al ETBF. Las bacterias *drivers* quedarían sustituidas por las bacterias *passenger*, las cuales muestran una ventaja adaptativa y competitiva en el microambiente tumoral, siendo capaces de favorecer la progresión tumoral (Li et al. 2017, Saus et al. 2019).

Además del modelo *driver-passenger*, se propuso otro modelo el denominado α -bug. En este modelo las bacterias " α -bugs", bacterias pro-oncogénicas que poseen determinantes de virulencia únicos y que pueden desencadenar cáncer de colon, como el *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF), no sólo inducen genotoxicidad directa en las células epiteliales intestinales sino que también provoca remodelación en la composición de la microbiota colónica (ETBF ha sido propuesto como un patógeno *keystone* o *driver* en la iniciación del CCR). Al superar a los simbiontes antioncogénicos, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, se evocan las respuestas inmunes pro-oncogénicas Th17. En esta línea de razonamiento estos patógenos claves podrían ser considerados como una importante causa de la carcinogénesis del CCR y que curiosamente, pueden desaparecer durante la transformación oncogénica del epitelio normal en una lesión neoplásica durante la progresión del CCR porque son superados por bacterias oportunistas mejor adaptados al microambiente tumoral del CCR humano (Li et al. 2017).

La microbiota intestinal puede contribuir a la oncogénesis a través de varios mecanismos (Fig. 13): a) por un efecto oncogénico directo de los microorganismos y sus productos, b) por la alteración de los metabolitos circulantes que, a su vez, se convierten en pro-carcinógenos, c) por la estimulación de la síntesis de los factores tróficos por parte del huésped y, por último, d) por la interrupción de la inmunovigilancia del cáncer por el huésped mediante la inducción de vías pro-inflamatorias e inmunosupresoras (Drewes et al. 2016, Villéger et al. 2019). La microbiota alberga el potencial de formar un microambiente inflamatorio y, viceversa, la inflamación podría afectar a la composición microbiana. La carcinogénesis en el intestino es impulsada por la presencia de disbiosis, inflamación y la modulación de la inmunidad intestinal (Saus et al. 2019).

La inflamación crónica es un sello distintivo y un factor de riesgo establecido para el CCR, ya que los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal tienen sistemáticamente un mayor riesgo que la población general de desarrollar el cáncer. Interactuando estrechamente con el sistema inmunológico del huésped, la microbiota intestinal puede afectar el proceso inflamatorio en el tracto gastrointestinal (Wong and Yu 2019).

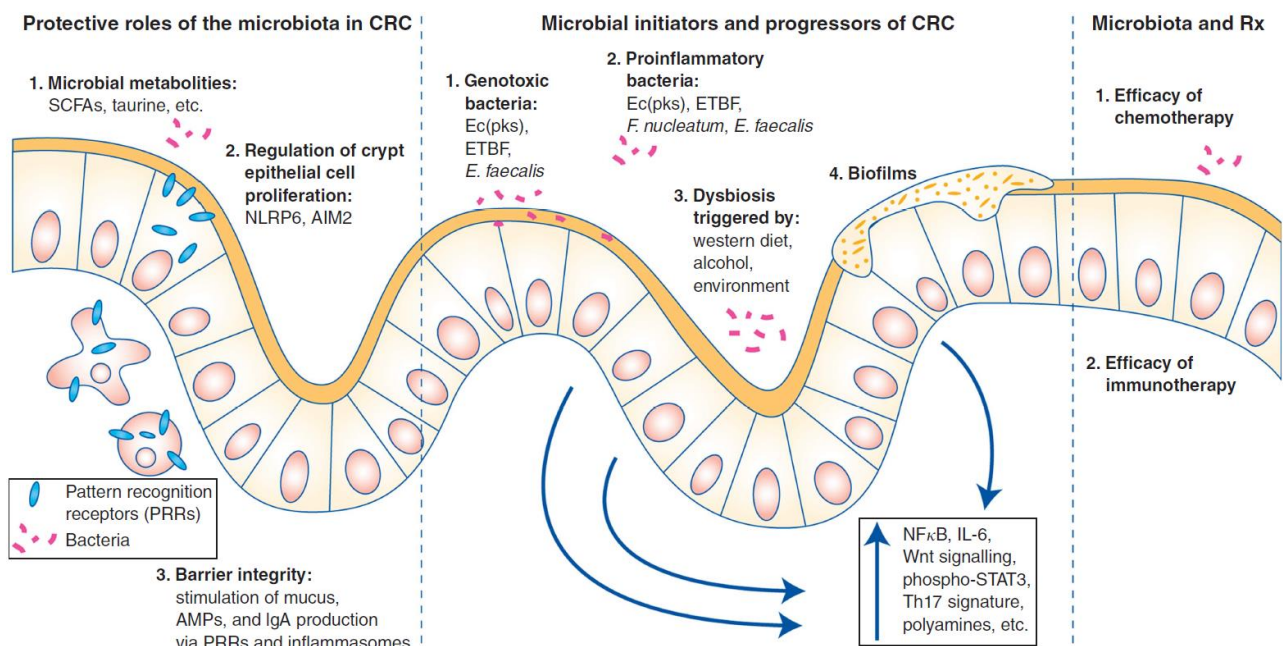


Figura 13. Papel de la microbiota en la prevención, iniciación, progresión y terapia del CCR, (Adaptado de Drewes et al. 2016).

El sistema inmune es capaz de diferenciar entre los microorganismos potencialmente patógenos y los comensales gracias a los receptores que reconocen patrones ó RRP (PRR, pattern recognition receptors).

Es curioso que mientras que los RRP tratan de mantener la función de la barrera epitelial reforzando las uniones celulares, las citoquinas pro-inflamatorias producen el efecto opuesto, al causar un aumento de la permeabilidad de la mucosa debido a la contracción citoesquelética del anillo periférico permitiendo así el paso de microorganismos. Tanto las citoquinas como los factores de crecimiento (TNF- α , VEGF y TGF- β), impulsan el proceso inflamatorio influyendo negativamente en la diferenciación celular y promoviendo el crecimiento y la supervivencia de las células displásicas. Si se desarrolla un estado de inflamación persistente, las continuas cascadas de señales inflamatorias dan lugar a la proliferación, la angiogénesis, la inhibición de la apoptosis y el aumento de la liberación de los factores de crecimiento, todo lo cual prepara el camino para el cáncer (Raskov et al. 2017).

El RRP reconoce principalmente las moléculas de superficie derivadas de los microbios, especialmente los lipopolisacáridos bacterianos, las lipoproteínas, el ADN procariótico y los ácidos nucleicos extraños, los llamados MAMP: patrones moleculares asociados a microorganismos; o PAMP: patrones moleculares asociados a patógeno. La interrupción o las mutaciones en el RRP resultan en un dramático adelgazamiento de la capa de moco y una reacción inflamatoria sostenida. Especialmente las mutaciones NOD2 están asociadas con la enfermedad de Crohn, el aumento del riesgo y peor pronóstico del CCR (Raskov et al. 2017).

Hay cinco clases principales de RRP: TLRs, lectinas C-type (CTLs; por ejemplo, DC-SIGN), receptores similares a RIG-I, receptores similares a Melanoma 2 (AIM2) (también conocidos como la familia de receptores HIN-200), y receptores similares a NOD (NLRs).

Estos receptores detectan diversos antígenos extraños y desencadenan respuestas igualmente diversas, como la activación del NF- κ B, la activación del MAPK y la producción de citoquinas proinflamatorias, que a su vez modulan las respuestas inmunitarias adaptativas posteriores (Drewes et al. 2016).

Los patrones moleculares asociados a los microorganismos (MAMP) son reconocidos por los receptores TLR en varios tipos de células. La activación de los TLR por los MAMP y otros productos microbianos contribuye a la carcinogénesis. Por ejemplo, el TLR4, el receptor del componente LPS de la pared celular bacteriana Gram-negativa, promueve el cáncer de colon también el hepatocelular y de páncreas. La activación de NF- κ B y STAT3 inducida por TLR son vías de señalización clave que promueven el cáncer. La desregulación inmunológica inducida por la microbiota puede iniciar la respuesta inmune asociada a los inflamasomas y autofagia activada por los TLR (Rajagopala et al. 2017).

Debido a que todos los CCR muestran un exceso de inflamación subclínica, también es importante tener en cuenta las características únicas del tejido linfoide asociado al intestino (GALT), ya que la interacción entre el GALT y el microbioma intestinal probablemente impacte en la inflamación implicada en el inicio, la progresión y el tratamiento del CCR. Es importante señalar que este medio de supresión puede ser superado por la IL-6 en el intestino, que en combinación con el TGF β desencadena la diferenciación de células TCD4 naive en células proinflamatorias Th17. Un estado inflamatorio dominado por Th1 parece ser protector en los pacientes con CCR y potencia las respuestas antitumorales de las células T mediante la producción de IFN- γ .

Por el contrario, se ha demostrado que Th17 (o la IL-17 producida por otros tipos de células) es un impulsor clave del CCR en la neoplasia intestinal múltiple. Además, la firma Th17 se asocia con un peor pronóstico en los pacientes con CCR (Drewes et al. 2016).

El equilibrio Treg/Th17 es crítico para el mantenimiento de la homeostasis intestinal, ya que los Tregs son uno de los tipos de células fundamentales responsables de mantener la inflamación del colon bajo control. La dependencia de las respuestas del Th17 de Tregs sólo se requería durante los primeros eventos, lo que demuestra que no sólo es importante el tipo de inflamación (Th1 vs. Th17) sino también el momento (infección temprana vs. tardía) después del desafío con patógenos específicos (Drewes et al. 2016). Con el aumento de la edad y la pérdida de células T CD4 relacionada con la edad, la microbiota se desplaza hacia un perfil más pro-inflamatorio y menos diverso vinculado a problemas de salud adversos y tumorogénesis. Pérdida de la diferenciación de células T disminuye la capacidad de los sistemas inmunes para suprimir la inflamación que promueve el tumor en el colon.

Infiltración de células Th17 en el tejido del CCR y niveles elevados de citoquinas mitógenas Th17, especialmente la IL-17 y la IL-22, están asociadas a un peor pronóstico y la reducción de la supervivencia. Es interesante que la displasia y ciertos tipos de bacterias comensales, especialmente las especies del género *Clostridium*, promueven la acumulación de Th17 en la mucosa intestinal e impulsan la producción de IL-17 en las células epiteliales intestinales (Raskov et al. 2017). Además del mecanismo inmuno-inflamatorio, la microbiota intestinal en su conjunto también puede aumentar la susceptibilidad al cáncer, en gran parte a través de interacciones con la dieta y el metabolismo del huésped y productos genotóxicos.

Recientemente se revisó en profundidad el potencial procarcinógeno de los productos bacterianos, incluidas las toxinas, sulfuro de hidrógeno (SH₂), poliaminas, ácidos biliares secundarios y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Drewes et al. 2016). El metagenoma microbiano codifica genes que pueden metabolizar muchos nutrientes de la dieta, incluidos los carbohidratos no digeribles como los galacto-oligosacáridos y los fructo-oligosacáridos, así como compuestos del huésped como los ácidos biliares (Wong and Yu 2019).

Las elevaciones en muchos de estos factores se han relacionado con dietas ricas en grasas saturadas y azúcares, y con dietas bajas en fibra. Por ejemplo, los altos niveles de grasas saturadas provocan un aumento de producción de ácidos biliares por parte del hígado, y estos, a su vez, son metabolizados por las bacterias en ácidos biliares secundarios, como ácido litocólico y ácido desoxicólico (un ácido biliar secundario incrementado por la dieta de tipo occidental), que tienen propiedades proinflamatorias y propiedades procarcinógenas (Drewes et al. 2016).

Los ácidos biliares secundarios, aumentaron en el contenido del colon de las personas que consumen dietas altas en grasas, lo que se correlaciona con un alto riesgo de CCR. Se ha demostrado que el ácido desoxicólico induce daños oxidativos en el ADN in vitro y promueve la formación de tumores in vivo (Wong and Yu 2019). Además, estas dietas con alto contenido en grasas, azúcar y fibra pueden también dar lugar a una microbiota menos diversa en general, lo que también se asocia con un mayor riesgo de CCR. Por el contrario, el vasto potencial metabólico de la microbiota intestinal también puede aprovecharse para prevenir el CCR. Por ejemplo, a corto plazo los AGCC tienen potentes propiedades antiinflamatorias, incluida la promoción de la expansión del Treg colónico.

Más recientemente, metabolitos microbianos como taurina e histamina, se encontraron alterando los procesos inflamatorios ya sea positiva o negativamente, y puede representar otros objetivos (Drewes et al. 2016).

Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC, como el butirato y el propionato) representan una importante clase de metabolitos producidos a partir del metabolismo microbiano de los componentes de la dieta (Wong and Yu 2019). En los últimos años, los metabolitos bacterianos, incluido el butirato (AGCC), surgieron como reguladores de las respuestas inmunitarias. Los AGCC se producen cuando la fibra dietética se fermenta en el colon y representan una importante fuente de energía para los colonocitos.

Se han identificado diferentes bacterias como potenciales productoras de butirato, entre ellas *Fusobacterium*. La eliminación de los carbohidratos de la dieta promueve el crecimiento de las bacterias que utilizan la mucosidad y altera la microbiota. Aunque la mayoría de los estudios sugieren que el butirato suprime tanto la inflamación y carcinogénesis en el colon, algunos estudios revelaron resultados opuestos (la paradoja del butirato). Mecánicamente, el butirato promovió la hiperproliferación de las células epiteliales del intestino delgado, lo que puede explicar el fenotipo del tumor (Tilg et al. 2018).

El butirato podría inducir una disfunción en la barrera epitelial intestinal, activando así mediadores proinflamatorios como las citoquinas, la IL-6 y el TNF- α , que dañan las células epiteliales y sus uniones (Saus et al. 2019). En línea con un potencial efecto anticancerígeno del butirato se podría demostrar que el butirato y su receptor Gpr109a suprimen la inflamación del colon y la carcinogénesis.

Los nativos americanos con un bajo riesgo de CCR muestran niveles totales de AGCC en heces más bajos en comparación con los americanos afro-caucásicos que tienen un riesgo de CCR considerablemente más alto. La paradoja del butirato permanece, y probablemente varios factores, entre ellos las concentraciones locales de este metabolito podría determinar sus funciones biológicas (Tilg et al. 2018).

Con la edad se observa que se produce una reducción en la producción de butirato por parte de la microbiota (especialmente el *phylum Firmicutes*), lo que resulta en una disminución de la fuente de energía primaria para los colonocitos así como un aumento de los valores del pH intracolónico. Los valores más altos de pH, la inflamación y la disbiosis crean un ambiente hostil para los colonocitos y contribuyen a la tumorigénesis (Raskov et al. 2017).

En general, las interacciones entre la microbiota intestinal y el CCR son complejas. Aspectos patógenos de la microbiota son tan variados como la actividad genotóxica directa, la producción de toxinas dañinas para el ADN como la toxina distensiva citoletal (CDT) y la colibactina (Drewes et al. 2016). La CDT es cancerígena al inducir roturas de doble cadena de ADN a través de su actividad de desoxirribonucleasa. La colibactina es producida por miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y también puede inducir la ruptura de cadenas de ADN. Además, la toxina de Bf y las especies reactivas de oxígeno, producidas por *E. faecalis*, se han asociado con daños en el ADN (*in vitro*) e inestabilidad genómica. La unión o inactivación de estas toxinas podría tener implicaciones terapéuticas o profilácticas en el CCR (Wong and Yu 2019). Alternativamente, la microbiota intestinal también puede tener un papel protector contra el CCR a través de mantenimiento de la barrera epitelial/mucosa (en gran parte a través de la estimulación de los RRP) y la producción de metabolitos protectores como los AGCC (Drewes et al. 2016).

11. Microorganismos relacionados con el CCR

11.1. *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium nucleatum es una bacteria anaeróbica Gram-negativa ligada al CCR. La secuenciación del ARNr 16S y del genoma completo ha demostrado el enriquecimiento de *F. nucleatum* en la mucosa asociada al CCR y en la mucosa de los pacientes con adenoma, en comparación con los individuos sanos (Raskov et al. 2017). En condiciones normales, *F. nucleatum* no se encuentra en la microbiota intestinal, sino que es un comensal de la cavidad oral, pero en condiciones patológicas (desde una inflamación a un tumor) puede formar parte de la microbiota intestinal (Bullman et al. 2017).

El aumento de los niveles tumorales de *F. nucleatum* se ha correlacionado con una menor infiltración de células T, con un estadio avanzado de la enfermedad y una menor supervivencia del paciente, y con características clínicas y moleculares como la localización anatómica del lado derecho (la abundancia de *F. nucleatum* aumenta desde el recto (2,5%) hasta el ciego (11%)), la mutación del BRAF y la hipermutación con la MSI (Bullman et al. 2017, Tilg et al. 2018). Los mecanismos carcinogénicos sugeridos han variado desde una mayor adhesión e invasión de células tumorales, hasta la modulación de la respuesta inmunológica del huésped, y la activación del receptor TLR-4 (Bullman et al. 2017). *F. nucleatum* también activa la autofagia (proceso de reciclado celular que afecta a la supervivencia celular) a través del TLR-4 expresado en las células del CCR (Fig.14) haciendo que se hagan resistentes al tratamiento quimioterápico con oxaliplatino (Garrett 2019).

F. nucleatum es capaz de promover directamente la carcinogénesis cuando la adhesina de anclaje FadA se une al dominio extracelular de la E-cadherina en las células epiteliales activando la vía de señalización β -catenina lo que resulta en la inducción de respuestas oncogénicas e inflamatorias y haciendo que el complejo de adhesión sea disfuncional (Raskov et al. 2017, Tilg et al. 2018). Es importante destacar que la expresión del gen *fadA* en el tejido del CCR humano es extraordinariamente alta en comparación con los controles sanos, y que la inhibición de esta vía protege contra la actividad pro oncogénica (Tilg et al. 2018). El resultado es la apertura de pasajes paracelulares para los patógenos a los tejidos submucosos.

La parte intercelular disfuncional de los complejos de adhesión no pueden unir la beta-catenina citoplasmática libre, que en cambio se traslada al núcleo de la célula. La β -catenina regula la señalización mitogénica a través de la vía Wnt, lo que conduce a una mayor expresión de los factores de transcripción, los genes *Wnt*, los genes inflamatorios y la estimulación del crecimiento de las células del CCR. FadA puede incluso comprometer la reparación del ADN ya que la colonización de altos niveles de *F. nucleatum* se ha asociado significativamente con la MSI.

La presencia y los recuentos bacterianos aumentaron a medida que se producía la transformación maligna de pólipo adenomatoso a CCR. Los niveles de FadA en el tejido del colon de los pacientes con adenomas y adenocarcinomas son >10-100 veces más altos que en los individuos normales y se está investigando su potencial como marcador diagnóstico. El examen de los tejidos adenomatosos y carcinomatosos demostró un elevado número de copias del gen *fadA* y altos niveles de ADN de *F. nucleatum* en el tumor. El tejido se asoció con un aumento de metástasis en los nódulos linfáticos y un resultado más pobre en términos de menor supervivencia para los pacientes con CCR. *F. nucleatum* se encuentra a menudo en el microambiente del tumor, y parece que la capacidad de infiltración de las células NK se inhibe en presencia de *F. nucleatum*.

Además, la citotoxicidad de las células NK parece inhibirse a través de una interacción directa entre la proteína Fap2 producida por *F. nucleatum* y el receptor inmunitario inhibidor TIGIT (inmunoreceptor de células T con Ig y motivos de inhibición basados en la tirosina del inmunoreceptor) presente en todas las células humanas NK y en varias células T.

Por otro lado, se ha observado que los tumores explotan la proteína Fap2 del *F. nucleatum* para evadir el sistema inmunológico e inhibir la actividad de las células inmunes a través de TIGIT (Raskov et al. 2017). Además, Fap2 se puede unir al disacárido Gal-GalNAc (galactosa-N-acetil-D-galactosamina), altamente expresado en la superficie de muchos tumores y facilita la unión del *F. nucleatum* a las células del CCR (Garrett, 2019). Estos datos indican que los factores derivados de *F. nucleatum* son capaces de regular la evasión inmunológica de los tumores. Además, la infección de las células NK con *F. nucleatum* aumenta su tasa de proliferación, su actividad invasiva y su potencial para inducir tumores (Tilg et al. 2018).

F. nucleatum es capaz de potenciar la tumorogénesis del CCR en ratones *Apc min* (ratones que tienen un alelo mutante del locus *Apc* y desarrollan una neoplasia intestinal múltiple) comportándose como una verdadera bacteria driver. Sin embargo, *F. nucleatum* no puede colonizar el colon por sí sola, sino que necesita la interacción de otras especies, como *Peptostreptococcus* y *Porphyromonas*, que soporten su crecimiento (Raskov et al. 2017). Se ha observado que *F. nucleatum* está altamente asociado a lesiones metastásicas del CCR lo que confirma la relación entre los microorganismos del intestino y el desarrollo del cáncer colorrectal (Bullman et al, 2017).

El tratamiento con metronidazol de ratones con xenografías derivadas de pacientes con CCR redujo en gran medida la cantidad de *F. nucleatum*, la proliferación celular y el crecimiento del tumor. Sin embargo, el metronidazol también eliminaba a otros anaerobios de la microbiota intestinal, lo ideal sería poder utilizar un antibiótico que eliminase solamente al *F. nucleatum* (Bullman et al, 2017). Dado que las lesiones cancerosas necesitan para su desarrollo años o incluso décadas, los antibióticos no son útiles para la prevención del CCR (Garrett 2019).

11.2. *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF)

Bacteroides fragilis es una bacteria anaerobia comensal muy común en la mayoría de los humanos y representa aproximadamente entre el 1-2% de la microbiota intestinal. Un subgrupo de *B. fragilis* es el enterotoxigénico ETBF, una causa común de diarrea en los niños. El ETBF sólo tiene un factor de virulencia reconocido, la toxina BFT o fragilisina es una metaloproteasa dependiente de zinc de 20kDa que se une a receptores epiteliales en los colonocitos y causa diarrea inflamatoria y tumorigénesis relacionada con la inflamación (Raskov et al. 2017, Tilg et al. 2018). La fragilisina altera rápidamente la estructura y la función de las células epiteliales incluyendo la ruptura de la E-cadherina aumentando así la permeabilidad de la mucosa y la secreción de citoquinas, aumento de la señalización Wnt, activación de NF- κ B, proliferación celular y daño del ADN.

Modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*, junto con los primeros datos humanos, apoyan que el ETBF puede promover la carcinogénesis de colon. Pequeñas cantidades de fragilisina se pueden demostrar en hasta el 40% de los adultos sanos. La colonización persistente con ETBF puede resultar en una colitis subclínica dominada por IL-17 y con la activación concomitante de STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3 signaling). Por otra parte, la BFT regula la espermina oxidasa, enzima involucrada en el catabolismo de la poliaminas, generando así ROS y daños en el ADN, promoviendo la inflamación y la tumorigénesis (Tilg et al. 2018). El aumento de las cantidades de ETBF y de fragilisina se ha demostrado en el 100% de casos avanzados de CCR. En ratones Min (Apc min/+) la colonización con ETBF rápidamente resultó en adenoma y tumores de colon visibles ya después de sólo un mes. Por lo tanto, el ETBF puede representar el óptimo conductor bacteriano para el CCR (Raskov et al. 2017). Además, ETBF fue detectado en biofilms que recubrían tanto lesiones cancerosas del CCR como en los adenomas (Fig.14).

11.3. *E. coli* con isla genómica de la policétido sintetasa (productor de colibactina)

E. coli es una bacteria comensal anaerobia facultativa perteneciente a las proteobacterias, no muy abundante en el colon pero fácilmente cultivable. Hay varios grupos filogenéticos de los cuales la cepa B2 es patógena y a menudo está involucrada en la EII y el CCR. La cepa B2 alberga una isla genómica llamada "pks", que codifica para la producción de la genotoxina, colibactina (péptido policétido). La colibactina es capaz de penetrar en la membrana celular de los colonocitos y translocarse al núcleo de la célula y funcionar como una DNasa causando roturas en el DNA de doble cadena, detención del ciclo celular y reparación incompleta del DNA, todo lo cual conducirá a aberraciones cromosómicas, ejemplo de ello son micronúcleos, aneuploidía o cromosomas en anillo. La colibactina se comporta como un agente alquilante, formando aductos del ADN, una forma del ADN altamente mutagénico en las células epiteliales del colon (Fig.14) de hecho las células infectadas con *E. coli* tipo B2 mostraron una frecuencia de mutación significativa que demostraba el potencial mutagénico y transformador de la bacteria (Garrett 2019).

La IgA es importante para la exclusión de patógenos y la neutralización de toxinas. Los ratones libres de gérmenes tienen muy pocas células productoras de IgA en su mucosa intestinal. Si estos ratones son colonizados con *E. coli* tipo B2 o *E. faecalis*, ambos desarrollan inflamación, pero sólo aquellos colonizados con *E. coli* tipo B2 desarrollaron tumores de colon que caracterizan a la colibactina como un metabolito bacteriano cancerígeno (Raskov et al. 2017). *E. coli* asociado a la mucosa es significativamente más prevalente en el tejido del CCR y se correlaciona con el estadio del tumor y el pronóstico y las cepas de *E. coli* que expresaban la colibactina eran más prevalentes en la enfermedad avanzada (Tilg et al. 2018).

Además, el *E. coli* B2 que alberga la isla *pks* representa otro ejemplo típico de bacteria driver perfecta y la colonización con la cepa B2 puede contribuir al desarrollo del CCR esporádico. La cepa B2 y la colibactina representan el candidato más fuerte para la contribución bacteriana a la carcinogénesis del CCR (Raskov et al. 2017).

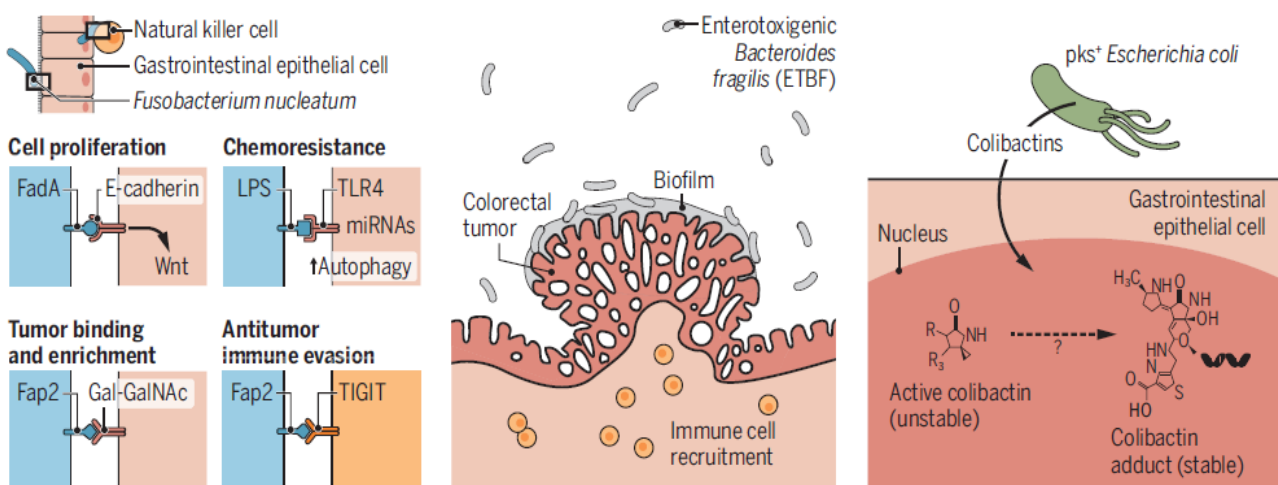


Figura 14. Mecanismos implicados en la fisiopatología del CCR. *F. nucleatum* expresa adhesinas y LPS que afectan al comportamiento celular. ETBF recubre tumores y atrae otras bacterias para formar un biofilm. Además, atrae células inmunes provocando inflamación. *E. coli* (*pks*⁺) genera aductos de DNA potencialmente mutagénicos implicados en la carcinogénesis, (Adaptado de Garrett 2019).

No se sabe si estas 3 especies son capaces de interactuar en la fisiopatología del CCR y en caso de que lo hagan si es secuencialmente o lo hacen a la vez. Lo que sí se sabe es que no son las únicas especies relevantes en el CCR por ello son importantes los estudios de microbiota CCR para observar que microorganismos están presentes en un tumor o si están dentro del tumor o sobre él, o cómo interactúan entre ellos y con el hospedador, que microorganismos llegan al tumor y cuales se van para configurar el microambiente del tumor (Garrett 2019).

Recientemente se ha publicado un meta-análisis (Wirbel et al. 2019) correspondiente a 8 estudios realizados por secuenciación “shotgun” de metagenomas fecales de 386 pacientes con CCR y 392 controles sin tumores, procedentes de Francia, Austria, Italia, Alemania, USA, China y Japón. En estos estudios identificaron un conjunto de 29 especies que estaban incrementadas en los metagenomas de CCR. Esas especies pertenecían a los géneros *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Gemella*, *Prevotella*, and *Solobacterium*. Las 29 especies se podían agrupar en 4 grupos relacionadas con la localización del tumor y con el sexo del paciente. El cluster 1 estaba formado exclusivamente de *Porphyromonas*. El 2 contenía especies con prevalencia intermedia en CCR y más abundante en pacientes con CCR del sexo femenino. El 3 incluía especies con la prevalencia más alta en los casos de CCR.

El 4 formado exclusivamente por miembros del orden *Clostridiales*, de los que 11 especies eran prácticamente desconocidas hasta la realización del estudio (Fig. 15).

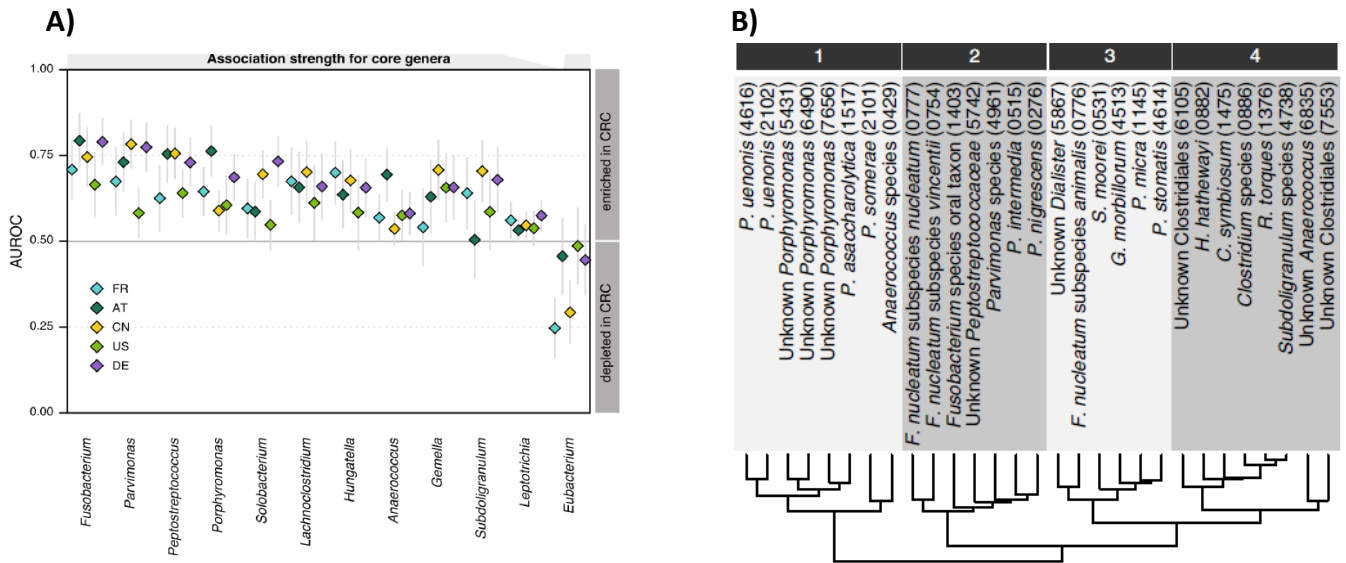


Figura 15. (Adaptado de Wirbel et al. 2019).

Figura 15. Meta-análisis de metagenomas fecales de pacientes con CCR. A) Géneros microbianos identificados en el meta-análisis relacionados con el CCR. B) Descripción de los 4 grupos de especies de la microbiota intestinal asociadas al CCR. AT: Austria, CN: China, DE: Alemania, FR: Francia, US: Estados Unidos.

Otro dato interesante obtenido del estudio fue la realización de análisis funcionales de los metagenomas de CCR revelando un incremento en rutas metabólicas para la degradación de proteínas y mucinas (glicoproteínas), producción elevada de ácidos biliares secundarios sugiriendo una relación entre microbiota intestinal asociada al CCR y una dieta rica en carne y grasa (Fig. 16), (Wirbel et al. 2019).

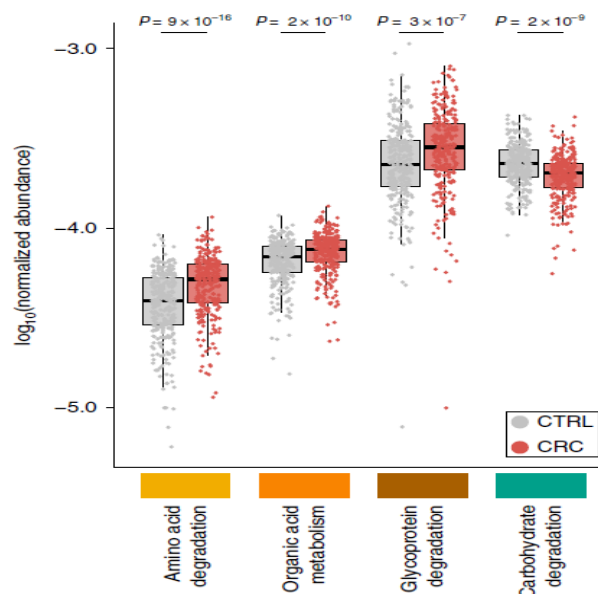


Figura 16. Cambios funcionales identificados en los metagenomas de pacientes con CCR, (Adaptado de Wirbel et al. 2019).

12. Papel del biofilm en la incidencia del CCR

Las bacterias se comunican internamente usando moléculas químicas en un proceso llamado quorum sensing (QS) y por medio de nanotubos, ambos de gran importancia para la virulencia bacteriana.

Las bacterias usan la detección de quórum para contarse a sí mismas, sincronizar su comportamiento y expresar genes específicos al mismo tiempo. Esperan hasta que su número excede una masa crítica (umbral de moléculas señal) para una invasión exitosa secretando sus toxinas simultáneamente. Una vez que la expresión génica se regula, varias bacterias producen exopolisacáridos para pegarse en una capa protectora pegajosa denominada biofilm que tiene una importancia significativa para la virulencia y la resistencia. Las bacterias han desarrollado formas de percibir los cambios ambientales y de calibrar si es beneficioso permanecer como organismos planctónicos (de flujo libre) o si es más seguro dentro de un biofilm.

La formación de biofilms permite a los patógenos bacterianos colonizar una amplia variedad de nichos del huésped y persistir en ambientes hostiles, haciendo que su erradicación por el sistema inmunológico innato sea particularmente difícil (Raskov et al. 2017). Los biofilms bacterianos a lo largo del eje colorrectal han demostrado estar presentes en aproximadamente el 15% de los pacientes sanos tras la colonoscopia, pero recientemente se ha demostrado que son una característica de casi el 100% del CCR del lado derecho.

Los biofilms pueden proporcionar un grado de estabilidad a la microbiota intestinal frente a la rápida renovación de la capa de moco intestinal. También pueden proteger la microbiota luminal de factores del huésped como la IgA, los AMP (péptidos antimicrobianos) e incluso los antibióticos, que pueden ser inactivados o no difundirse bien a través de la matriz del biofilm.

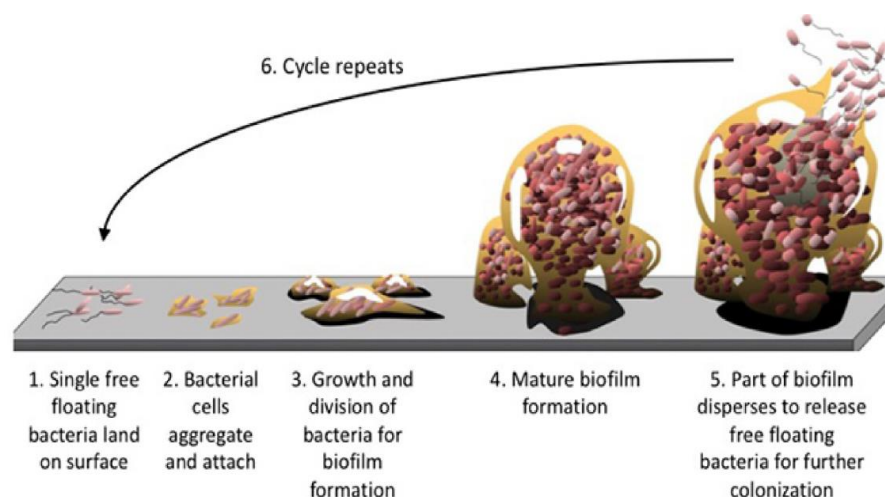


Figura 17. Formación del Biofilm, (Adaptado de Raskov et al. 2017).

Las especies bacterianas que componen los biofilms de la mucosa colorrectal son claramente un pequeño subconjunto de lo que se encuentra en la microbiota fecal, con sólo unas 100 especies presentes en los biofilms del colon en comparación con las casi 1000 especies detectadas en las heces.

El *phylum Bacteroidetes* (que abarca *Bacteroides* y *Prevotella*) es típicamente el constituyente predominante de los biofilms, aunque también se detectan comúnmente proteobacterias (incluyendo enterobacterias como *E. coli*), bacterias anaerobias como *Clostridium spp* y *Eubacterium*, actinobacterias (por ejemplo, bifidobacterias), bacilos (incluyendo los lactobacilos supuestamente protectores) y fusobacterias. Aunque los biofilms del colon se observan esporádicamente en los controles sanos, tienden a ser mucho más delgados y más desarticulados en comparación con los biofilms gruesos y continuos que se observan en los pacientes con CCR.

Los biofilms bacterianos no son carcinógenos per se, sino sólo en el contexto de bacterias invasoras específicas, especialmente las fusobacterias. Así pues, una firma polimicrobiana de bacterias anaeróbicas Gram-negativas como *Fusobacterium*, *Campylobacter* y *Leptotrichia* parece estar significativamente asociada con CCR. En conjunto, estas observaciones sugieren que la bacteria que posee propiedades de invasión y de coagregación podría ser necesaria para la formación de biofilms promotores de tumores (Li et al. 2017).

Es importante destacar que el 100% de los pacientes con CCR examinados hasta la fecha que tenían tumores con biofilm positivo también presentaban biofilms en el tejido normal. Se demostró que los tejidos subyacentes a los biofilms en los pacientes con CCR y en los individuos sanos tenían una disminución o alteración de la E-cadherina, una mayor expresión de IL-6 y Ki67 (una medida de la proliferación de las CEI) junto con fosfo-Stat3, lo que sugiere que los biofilms estaban provocando un efecto procarcinógeno.

Esto tal vez no sea sorprendente, dado que una característica de los biofilms es la invasión de la capa de moco por las bacterias, lo que permite que éstas interactúen directamente con los coloncitos y puedan desencadenar respuestas inflamatorias, así como mecanismos oncogénicos en la capa de CEI. Alternativamente, las CEI y/o los leucocitos podrían invadir los biofilms, sugiriendo que son inmunogénicas e implican interacciones muy dinámicas entre bacterias y huéspedes. Además, los biofilms pueden contribuir a aumentar la permeabilidad intestinal y a mejorar la pérdida de la función de barrera inducida por las bacterias, lo que, a su vez, es una de las alteraciones fisiopatológicas tempranas más importantes en la carcinogénesis colorrectal (Drewes et al. 2016).

La invasión bacteriana está presente en todos los tumores colorrectales humanos biofilm-positivos, incluidos los CCR y los adenomas, pero las características invasivas están ausentes en los tumores de colon biofilm-negativos. Se ha observado que en el CCR humano hay correlación entre la abundancia de *Fusobacterium spp.* intratumoral y niveles de proteínas de varias citoquinas inflamatorias (como el TNF- α , la IL-6, IL-23/IL-17) sin embargo, tal correlación no se encontró en la mucosa colónica de los controles normales, lo que implica que la carcinogénesis inducida por las fusobacterias puede depender del potencial del biofilm para provocar la inflamación de la mucosa. En consecuencia, la inducción de respuestas inmunitarias mediadas por citoquinas inflamatorias como la IL-23/IL-17 en el epitelio intestinal podría vincularse al supuesto potencial pro oncogénico de las bacterias del biofilm. Las pruebas acumuladas también apoyan la idea de que los biofilms de la mucosa aumentan el potencial pro oncogénico de la disbiosis microbiana al provocar respuestas inflamatorias (Li et al. 2017).

De los demás posibles mecanismos por los que los biofilms bacterianos pueden promover enfermedades oncológicas, el estrés genotóxico resultante de las toxinas bacterianas parece ser el más evidente de la transformación per se.

Por ejemplo, diferentes bacterias producen varias toxinas, de las cuales la BFT y la CDT contribuyen a la genotoxicidad y a la iniciación del CCR humano.

Por otro lado, el ácido desoxicólico, parece ser el metabolito endógeno más importante asociado con la carcinogénesis del CCR. Dado que es posible que los biofilms proporcionen una interfaz muy eficaz para la desconjugación y deshidroxilación de los ácidos biliares, es probable que las células de un epitelio cubierto por un biofilm estén expuestas a concentraciones muy elevadas de ácidos biliares secundarios. También, los biofilms pueden ser fuentes de SH₂ y nitrosamina, compuestos que son genotóxicos y carcinógenos al inducir daños en el ADN e inestabilidad genómica (Li et al. 2017).

Los biofilms bacterianos también podrían contribuir al CCR humano mediante la síntesis y acetilación de poliaminas, tal es el caso de los biofilms multiespecíficos que expresan la espermidina /espermina bacteriana SSAT (N1-acetiltransferasa) que es indispensable para la acetilación de la poliamina. De hecho, las poliaminas acetiladas están sustancialmente reguladas tanto en el cáncer de colon humano cubierto por biofilms como en los tejidos normales del colón desprovistos de biofilm, lo que sugiere que el biofilm mejora el catabolismo y la acetilación de las poliaminas, lo que a su vez induce la proliferación de células no deseadas y el crecimiento del cáncer.

Además, en el CCR humano se observan niveles elevados de metabolitos de poliaminas acetiladas, entre ellas la N1-acetilespermidina, la N1-acetilespermina y especialmente la N1, N12-diacetilespermina, en comparación con los tejidos no tumorales de los mismos pacientes. En concordancia con ello, se ha encontrado que metabolitos de poliamina en el borde de la mucosa (donde comienza el biofilm) de las muestras de tejido canceroso del colon, emitían señales más fuertes que las detectadas en el centro de células cancerosas, tal como se ha demostrado por espectrometría de masas de imágenes de nanoestructuras (NIMS). Este resultado sugiere además que el biofilm puede ser la fuente más importante de poliamina acetilada. Además, el análisis metabolómico específico mostró que no había metabolitos de poliamina acetilada presentes en biopsias de colon biofilm negativos de individuos sanos (Li et al. 2017).

En definitiva, la presencia de biofilms polimicrobianos parece estar vinculada al crecimiento de tumores en el colon estando además asociados a niveles elevados de metabolitos de poliamina acetilada. Los biofilms bacterianos intestinales y su composición parecen desempeñar un papel importante en el desencadenamiento y el mantenimiento de la progresión del CCR.

Por lo tanto, la iniciación y la progresión del CCR surgen como consecuencia de las actividades prooncogénicas de los biofilms compuestos por bacterias invasoras (Li et al. 2017).

The Biofilm-Driven Colorectal Cancer (CRC) Carcinogenesis Model

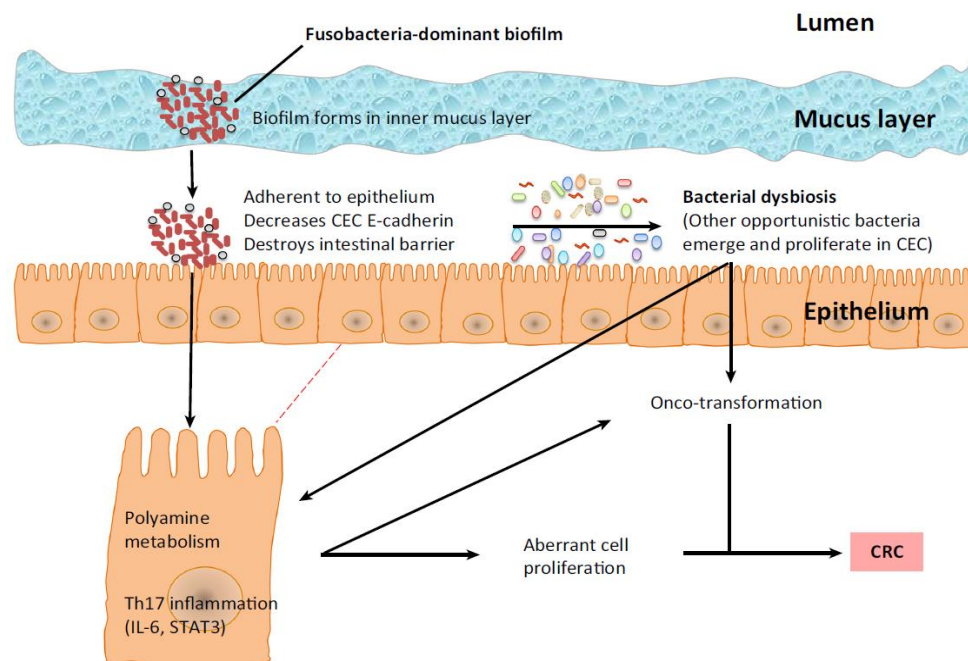


Figura 18. Modelo de la carcinogénesis inducido por el Biofilm, (Adaptado de Li et al. 2017).

13. Impacto de la microbiota intestinal en la eficiencia y toxicidad de las terapias contra el CCR

Además de sus propiedades pro-carcinógenas, la microbiota intestinal parece afectar a la eficacia de diferentes estrategias terapéuticas como, la quimioterapia, la inmunoterapia, la radioterapia y la cirugía y (Villéger et al. 2019). La microbiota intestinal puede contrarrestar los efectos anticancerígenos de algunos agentes quimioterapéuticos, entre ellos el 5-fluorouracilo, la ciclofosfamida, la gemcitabina o el oxaliplatino, mediante varios mecanismos como la translocación microbiana, la inmunomodulación, el metabolismo, la degradación enzimática y la reducción de la diversidad ecológica (Wong and Yu 2019).

Se ha observado que el microbioma intestinal participa en la resistencia a una amplia gama de tratamientos contra el cáncer, así el *F. nucleatum* puede activar la autofagia y conferir resistencia al oxaliplatino y al 5-fluorouracilo. El metabolismo xenobiótico mediado por la microbiota podría estar relacionado con un aumento de la toxicidad de la quimioterapia. Especies del género *Bacteroides* podrían convertir la sorivudina en un componente intermedio (5-(2-bromovinil) uracilo ó BVU), que inhibe la degradación del 5-FU, lo que lleva a su acumulación tóxica en la sangre y por tanto una toxicidad mucho más alta (Villéger et al. 2019).

Bacterias del género *Bacteroides* y otras productoras de glucuronidasa como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Clostridium spp.*, podrían inducir un aumento del metabolito activo del irinotecán (SN-38), un inhibidor de la topoisomerasa usado para tratar el CCR (Villéger et al. 2019). Farmacológicamente, el SN-38 es glucuronado por las enzimas del hígado huésped en un conjugado inactivo (SN-38G).

Al llegar al intestino a través de la excreción biliar, las enzimas glucuronidasas bacterianas del intestino hidrolizan SN-38G de vuelta a SN-38 lo que se asocia con daño intestinal y severa diarrea (Wong and Yu 2019). El tratamiento con quimioterapia podría inducir a la disbiosis de la microbiota intestinal tal como se ha observado en el caso de la doxorubicina, el 5-FU, la ciclofosfamida o el irinotecán. Una disbiosis podría afectar la eficacia de la quimioterapia y/o los efectos secundarios (diarrea, mucositis, etc.). La disbiosis inducida por tratamiento con antibióticos también podría disminuir la eficacia de la ciclofosfamida. Del mismo modo, la inactivación de la gemcitabina y del oxaliplatino (quimioterápicos usados en el tratamiento del CCR) podría deberse a bacterias que albergan la citidin deaminasa. Además, la activación de la autofagia a través de la estimulación de la vía inmune innata TLR4/MyD88 por bacterias intratumoral, como el *F. nucleatum*, también podría estar involucrado en la quimiorresistencia al 5-FU o al oxaliplatino (Villéger et al. 2019).

Cada día es más evidente que hay un *Crosstalk* entre la microbiota intestinal y el sistema inmune del huésped en cuanto a la eficacia y toxicidad de las estrategias de inmunoterapia. Esto se puso de manifiesto con los inhibidores del punto de control inmunológico (ICI) a través de la modulación de las células linfoides y mieloides remotas llevada a cabo por la microbiota intestinal (Villéger et al. 2019). Los inhibidores del punto de control inmunológico eliminan las señales inhibitorias de la activación de las células T para permitir que las células T reactivas al tumor monten una respuesta antitumoral eficaz. La microbiota intestinal es necesaria para una respuesta inmunológica eficaz en la inmunoterapia, y puede afectar a la respuesta a los inhibidores del punto de control inmunológico que se dirigen al ligando 1 de la muerte celular programada (PD-1) y al antígeno 4 asociado a los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) (Wong and Yu 2019).

Bacterias como *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis* y *Burkholderia cepacia* fueron aisladas y se asociaron con un aumento de Th1 y células dendríticas (DC) en los órganos linfoides, lo que lleva a un aumento de la respuesta anti-CTLA-4. Esta respuesta de inmunoterapia mediada por microbiota también podría ser apoyada por el reclutamiento de CD8 maduras en el microambiente del tumor. Además, la presencia de estas bacterias específicas podría estar asociada con una disminución de los efectos secundarios del anti-CTLA-4. El género *Bifidobacterium* se vinculó a una respuesta eficaz anti-PD-L1 debido a la elevación de CTL (células T citotóxicas intratumorales) y las DC (células dendríticas) intratumorales (Villéger et al. 2019).

La radioterapia es uno de los tratamientos comunes para pacientes con cánceres sólidos. La respuesta del tumor después de la radioterapia sigue siendo muy heterogénea, con diferencias significativas de un paciente a otro y resultados oncológicos muy variables. El papel de la microbiota intestinal en la radiosensibilidad es un concepto nuevo que genera mucho interés pero todavía con pocos estudios. Los estudios preclínicos emergentes realizados en modelos de ratones han tratado de comprender el vínculo entre la microbiota intestinal y la radio-resistencia. La microbiota se relaciona con la autofagia y esta con la radio-resistencia. De hecho, como se ha descrito anteriormente, se ha demostrado el papel de *F. nucleatum* en la quimiorresistencia mediante la activación de la autofagia. La radiación ionizante es responsable de la disbiosis en varias patologías como enteritis por radiación donde *Roseburia* rectal y el *Propionibacterium* estaban inversamente correlacionados con la tasa de IL-15 o diarrea después de radiación pélvica con alteración de la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* (Villéger et al. 2019). Sin embargo, el impacto directo de la microbiota intestinal en la eficacia de la radioterapia aún no ha sido realmente demostrado.

En relación a la cirugía, el impacto potencial de la microbiota intestinal solo se ha demostrado en el CCR, probablemente dada la interacción directa entre los microbios intestinales y el lugar de la resección. El desarrollo de estrategias preventivas para disminuir las complicaciones postoperatorias después de la cirugía colorrectal sigue siendo un desafío. En particular, las fugas anastomóticas son la complicación postoperatoria más común que amenaza la vida. La implicación del microbioma en las fugas anastomóticas ya fue sugerida por primera vez en la década de 1950 cuando se observó una disminución de las tasas de fugas con la administración Intraluminal de antibióticos en un modelo canino de anastomosis colónica desvascularizada, específicamente en el lugar de la anastomosis. Desde entonces, muchos estudios han investigado el papel de una preparación antibiótica oral en la cirugía colorrectal electiva y han concluido que existe un efecto protector potencialmente significativo de las complicaciones postoperatorias, incluyendo las fugas anastomóticas. Se observó de que el desarrollo de las fugas se asociaba con una baja diversidad microbiana y, en consecuencia, con una gran abundancia de las familias dominantes *Bacteroidaceae* y *Lacnospiraceae* y una baja abundancia de *Prevotella oralis*. Después de la cirugía colorrectal, las capas de tejido intestinal subyacentes pueden estar excesivamente expuestas a factores intraluminales perjudiciales, como las bacterias, que pueden comprometer la curación anastomótica adecuada, lo que puede llevar al desarrollo de una fuga (Villéger et al. 2019).

Después de una resección colónica baja, los animales que desarrollaron fugas en anastomosis desvascularizadas fueron colonizados en el sitio anastomótico por cepas de *Enterococcus faecalis* con una alta actividad de colagenasa, mientras que los tejidos anastomóticos curados fueron colonizados por *Enterococcus faecalis* con baja actividad de colagenasa. Estas cepas de *E. faecalis* con una alta actividad de colagenasa fueron capaces de degradar directamente el colágeno I, e indirectamente cortar el colágeno IV activando la metaloproteinasa 9 de la matriz del tejido del huésped (MMP9). La inhibición de esta actividad de la colagenasa, ya sea por la erradicación colónica de *E. faecalis* utilizando antibióticos o mediante la supresión farmacológica de la colagenasa MMP9, previno eficazmente las fugas en las anastomosis desvascularizadas. Además, en las anastomosis vascularizadas inoculadas con alta actividad de colagenasa las cepas de *E. faecalis* exhibieron mayores tasas de fugas, similares a las de las anastomosis desvascularizadas (Villéger et al. 2019).

14. Integración de los datos del microbioma en la medicina de precisión para la prevención, diagnóstico y tratamiento del CCR

El microbioma intestinal está siendo considerado como un biomarcador de enfermedad, pronóstico y respuesta al tratamiento; además de las alteraciones en la estructura de la comunidad microbiana observada en diferentes estados de la enfermedad (Kashyap et al. 2017).

Un biomarcador es un indicador de la presencia o gravedad de una enfermedad. Dada la considerable evidencia de que el examen de los individuos de riesgo promedio puede reducir la incidencia y la mortalidad del CCR, una prueba de detección precisa y no invasiva podría reducir sustancialmente la carga de salud mundial del CCR. Se necesitan biomarcadores precisos para la detección del CCR, especialmente para el CCR precoz. La gran cantidad de datos metagenómicos de los que se disponen sobre el CCR son de gran ayuda para el desarrollo de marcadores microbianos fecales a utilizar para el diagnóstico de enfermedades.

Varios estudios han utilizado la abundancia de múltiples especies bacterianas para distinguir a los pacientes con CCR de los individuos sanos utilizando para ello 22 y 34 marcadores microbianos obteniendo áreas bajo la curva ROC (AUC) de 0.84 y 0.85, respectivamente.

En un estudio se asoció un conjunto de 20 genes al CCR y posteriormente este conjunto de marcadores genéticos se redujo a dos biomarcadores: butiril-CoA deshidrogenasa de *F. nucleatum* y la subunidad β de la ARN polimerasa (*rpoB*) de *Parvimonas micra* (Wong and Yu 2019). Entre varios candidatos, *F. nucleatum* surgió como un marcador clave, ya sea al ser cuantificado solo o combinado con otras bacterias específicamente *Clostridium symbiosum*, *C. hathewayi* y la bacteria productora de colibactina (*clbA*⁺) (Wong and Yu 2019).

F. nucleatum ha sido implicado en el cáncer colorrectal a través de su adhesión FadA que sirve tanto como un marcador diagnóstico como terapéutico (Kashyap et al. 2017). En múltiples estudios, se observó que *F. nucleatum*, como una bacteria individual específica, era más abundante en los adenomas colorrectales, aunque la magnitud de las diferencias de abundancia era menor que la de pacientes con CCR y personas sanas. Se ha demostrado que la cuantificación de *F. nucleatum* en muestras fecales permite diferenciar a los pacientes con adenomas colorrectales de los individuos sanos (controles), ya sea con otros marcadores microbianos o combinados con test inmunoquímico fecal TIF, aunque las diferencias entre los casos de adenoma y los controles fueron menos distintivas. Más allá de las muestras fecales, varios estudios han reportado asociaciones entre el CCR y la microbiota oral, como *Streptococcus* y *Prevotella spp.*, y han planteado la posibilidad de hacer un perfil de las bacterias orales para predecir el CCR. La sólida asociación del CCR con *S. gallolyticus* ha llevado al desarrollo de una prueba serológica múltiple. Además, la evaluación de los anticuerpos séricos contra *F. nucleatum* también podría ser un biomarcador potencial para detectar el CCR (Wong and Yu 2019).

Como ya se ha mencionado, varios productos metabólicos microbianos están asociados con el CCR, lo que hace del metaboloma un rico inventario para el descubrimiento de biomarcadores. En varios estudios se han encontrado niveles diferenciados de AGCC y ácidos biliares en extractos fecales, incluido un nivel más alto de acetato y niveles más bajos de butirato y ácido ursodesoxicólico en pacientes con CCR en comparación con los controles sanos. Estos metabolitos podrían servir como "huellas dactilares" para buscar el CCR (Wong and Yu 2019).

Las asociaciones entre biomarcadores bacterianos y resultados clínicos del CCR se han intentado utilizar como marcadores de pronóstico. Varios estudios de epidemiología molecular han mostrado relaciones inversas entre las cantidades tumorales de *F. nucleatum* en el tejido, medidas por PCR cuantitativa, y la supervivencia del CCR (Wong and Yu 2019). En comparación con los casos negativos de *F. nucleatum*, el cociente de riesgo de mortalidad específica del CCR fue de 1,25 entre los casos con recuento bajo de *F. nucleatum* y de 1,58 entre los casos con recuento alto de *F. nucleatum*. Este hallazgo pone de relieve el potencial de la cuantificación de *F. nucleatum* en el tejido tumoral como marcador de pronóstico y, lo que es más importante, proporciona esperanza que la erradicación de la bacteria podría mejorar el pronóstico y la supervivencia de la enfermedad (Wong and Yu 2019). El perfil de la microbiota intestinal de los pacientes con CCR podría ser útil en el futuro para predecir las respuestas al tratamiento y/o los efectos secundarios de las quimioterapias e inmunoterapias para el cáncer. Todos estos datos podrían conducir a la "medicina personalizada 2.0" que se está desarrollando en un estudio en curso que investiga el impacto del microbioma intestinal sobre las respuestas al tratamiento y la toxicidad de la capecitabina o de las quimioterapias TAS-102 en pacientes con CCR metastásico y/o irresecable (Villéger et al. 2018).

15. Modulación de la microbiota intestinal con fines terapéuticos

Dadas las posibles relaciones de la microbiota intestinal con el origen y el desarrollo del CCR que se han mencionado anteriormente, existe un creciente interés en explorar terapias relacionadas con los microorganismos para ayudar en la prevención y el tratamiento de este cáncer. Hasta ahora, las estrategias en desarrollo para el tratamiento y prevención del CCR incluyen el trasplante de microbiota fecal (TMF), el uso de pre/probióticos y la dieta, así como la terapia fágica (Fig.19).

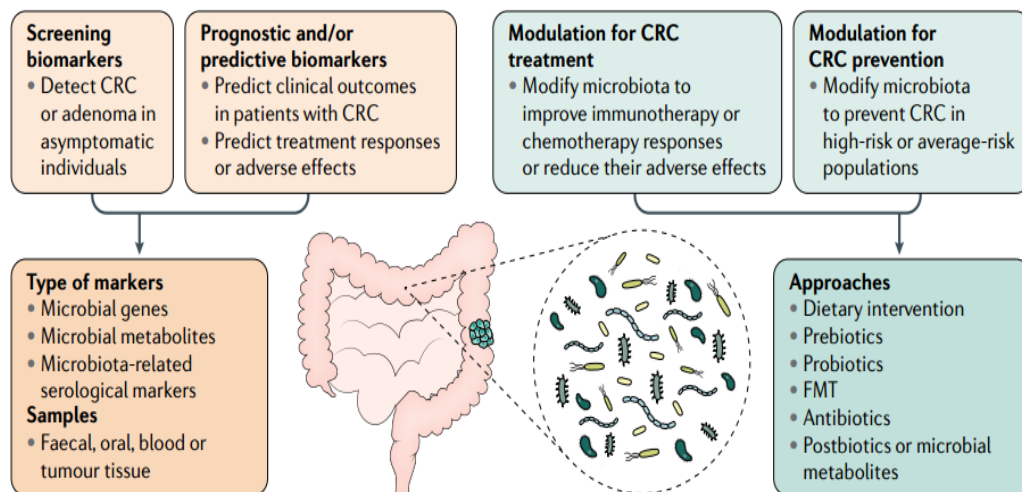


Figura 19. Potenciales aplicaciones clínicas así como la modulación de la microbiota en el CCR, (Adaptado de Wong and Yu et al. 2019).

El trasplante de microbiota fecal (TMF) se destaca como una estrategia prometedora en el tratamiento de los pacientes con CCR, aunque todavía hay cuestiones abiertas que deben ser discutidas y posibles riesgos que necesitan una revisión más profunda. Se demostró que la microbiota fecal de pacientes con CCR promovía la tumorigénesis en ratones libres de gérmenes y en ratones provistos de un carcinógeno. En cuanto al uso del TMF en esta y otras enfermedades, el debate sigue abierto con respecto a factores como las condiciones óptimas de almacenamiento de las heces, la normalización de los procesos, la selección de donantes y receptores, así como el establecimiento de un ciclo adecuado de administración, dosis y frecuencia del TMF.

Entre las estrategias futuras deseables están la combinación de TMF con pruebas de ADN fecal para la precisión en la detección del CCR, así como una transición del trasplante de microbiomas completos a combinaciones más precisas de microbios (Saus et al. 2019) Actualmente se están llevando a cabo otros ensayos que utilizan el TMF para reducir los efectos adversos de los tratamientos anticancerígenos. Aunque la relevancia clínica de la TMF parece prometedora, todavía hay que ir con cautela con estos ensayos y se están buscando enfoques estandarizados (Villéger et al. 2019).

Una estrategia más directa es dirigirse específicamente a las bacterias asociadas al desarrollo del CCR (es decir, *F. nucleatum*, *B. fragilis* o *E. coli*). Se han utilizado con éxito antibióticos para modular el microbioma y afectar indirectamente a la progresión del CCR. Como ya se mencionó anteriormente, la utilización de metronidazol para tratar ratones xenoinjertados con CCR mostró que el tratamiento reducía tanto la carga de *F. nucleatum* como el crecimiento general del tumor. Sin embargo, el uso de antibióticos generalmente tiene amplios efectos en la microbiota intestinal, a menudo llevando a la disbiosis y facilitando la adquisición de resistencia a los medicamentos.

Por lo tanto, hay una necesidad de nuevos productos que se dirijan más específicamente a las bacterias asociadas al CCR. En este contexto, algunas moléculas han mostrado efectos prometedores en el CCR y otras enfermedades. Por ejemplo, un glicopolímero, antagonista del factor de virulencia FimH de *E. coli*, mostró una reducción en la adherencia de *E. coli* al epitelio intestinal, y por lo tanto a su capacidad de invasión en un modelo de ratón (Saus et al. 2019).

Además, la exposición a una dosis baja de una enterotoxina recombinante BFT-2 (un importante factor de virulencia de *B. fragilis*) disminuyó la formación de tumores en un modelo de ratón (Saus et al. 2019). En varios estudios se ha evaluado el papel de un preparado antibiótico oral en la cirugía colorrectal electiva y se ha llegado a la conclusión de que existe un efecto protector potencialmente significativo de las complicaciones postoperatorias. Sin embargo, debido a la falta de especificidad y a la inducción de una disbiosis, se requieren más investigaciones para reducir el impacto del uso de antibióticos durante el tratamiento del cáncer. Es necesario abordar las perspectivas prometedoras de la coadministración de probióticos durante la terapia de antibióticos. Como alternativa, podrían considerarse estrategias muy específicas, como la fagoterapia (para atacar algunas bacterias intestinales) e incluso la administración de toxinas bacterianas procarcinógenas (Villéger et al. 2019). En modelos preclínicos, se ha demostrado que para atacar taxones bacterianos específicos, los bacteriófagos tienen una eficacia igual a la de los antibióticos, e incluso con una menor perturbación de las bacterias comensales (Helmink et al. 2019).

La dieta se ha propuesto como uno de los factores más influyentes en la formación del microbioma del intestino humano. En particular, los datos actuales muestran que la microbiota intestinal cambia rápidamente en respuesta a los cambios de la dieta. La observación de que la dieta puede modular las interacciones huésped-microbio, sugiere un enfoque terapéutico prometedor, con efecto en la respuesta inmunológica y las vías metabólicas. Estudios realizados en modelos de ratones han demostrado que las alteraciones de la comunidad microbiana inducidas por el ácido desoxicólico fomentan la carcinogénesis intestinal, y que la suplementación con fibras alimentarias elevadas y bacterias productoras de butirato puede reducir significativamente el crecimiento de tumores de colon. Se ha informado de que el desequilibrio de los esfingolípidos en la dieta puede tener un gran impacto en la eficacia terapéutica de la quimioterapia y la radiación. En este contexto, varios autores han sugerido la necesidad de desarrollar métodos más personalizados para estudiar las intervenciones dietéticas que podrían aumentar la eficiencia de los tratamientos de la CCR (Saus et al. 2019).

Cada vez más datos sugieren también el papel clave del estilo de vida en el pronóstico del cáncer, más específicamente en los pacientes con CCR. La disbiosis podría afectar la integridad del músculo esquelético, llevando a la atrofia muscular. Esta última es un factor clave de morbilidad y mortalidad en varias entidades cancerosas y un importante predictor de la supervivencia general de los pacientes, incluido el CCR. Recientemente ha surgido el supuesto de un nuevo eje de diálogo interorgánico, "microbiota intestinal-músculo esquelético". El uso de un tratamiento simbiótico para restaurar una microbiota "sana" ha reducido la proliferación del cáncer y la atrofia muscular caquexia y prolongó la supervivencia de los ratones. Por ejemplo, el restablecimiento de los niveles de lactobacilos contrarrestó la atrofia muscular y disminuyó la inflamación sistémica en los modelos preclínicos de caquexia por cáncer. Estos modelos se caracterizan por una firma microbiana común que da como resultado principalmente un aumento de las especies de *Enterobacteriaceae*, concretamente de *Klebsiella oxytoca* y una reducción de tres familias microbianas productoras de butirato (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* y *Porphyromonadaceae*) (Villéger et al. 2019).

El concepto de probiótico como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped", se ha convertido en un importante campo de investigación. Un reciente metaanálisis que evalúa la eficacia y la seguridad de los probióticos en pacientes adultos y pediátricos diagnosticados con cáncer sugiere que los probióticos pueden ser beneficiosos, aunque los mecanismos que subyacen a las propiedades antitumorales siguen sin estar claros y todavía se necesitan más estudios.

Diferentes probióticos pueden inhibir el CCR por diferentes mecanismos: la liberación de agentes desintoxicantes, factores antiinflamatorios, compuestos anticancerígenos (antiangiogénesis, promoción de fármacos anti-PDL1) y AGCC que mejoran la función de la barrera intestinal. Hasta ahora, varias líneas de evidencia apoyan un papel protector de los probióticos contra el CCR. Por ejemplo, se ha demostrado que las especies productoras de butirato *Clostridium butyricum* y *Bacillus subtilis* pueden tener un efecto antitumoral en un modelo de ratón con CCR.

El probiótico *Lactobacillus casei* (cepa BL23) inhibió no sólo el CCR en un modelo de ratón, sino que también, reestableció la disbiosis intestinal alterada en el CCR, mientras que *L. casei* (cepa ATCC 334) ha sido reportada por producir una molécula: el ferricromo, que ha demostrado inhibir la progresión del cáncer de colon por medio de la apoptosis mediada por la vía de la quinasa c-Jun N-terminal. Otra cepa de *L. casei* (variedad rhamnosus, Lcr35) previno la mucositis intestinal inducida en ratones con CCR. Recientemente se observó que los probióticos de *Bifidobacterium* podían restablecer el equilibrio de la disbiosis intestinal y reducir el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado inducido en pacientes con CCR (Saus et al. 2019).

En cuanto a la quimioterapia, se centró en el papel que desempeñaba la microbiota intestinal en el tratamiento de tumores sólidos con ciclofosfamida y los resultados de estos estudios ponen de relieve cepas comensales específicas que podrían utilizarse como probióticos en combinación con la terapia CTX para mejorar la eficacia del tratamiento en pacientes con cáncer. Las bifidobacterias se asociaron con un crecimiento lento del tumor y respuestas beneficiosas a la terapia anti-PD-L1. La administración oral de probióticos que contienen *Bifidobacterium* a ratones que albergan microbiota intestinal desfavorable aumentó la eficacia antitumoral del bloqueo de PD-L1 y casi abolió el crecimiento del tumor. Un estudio clínico aleatorio de fase IV mostró que la suplementación oral diaria con *Saccharomyces boulardii* durante siete días antes de la resección colorrectal en pacientes con CCR condujo a una reducción de las citoquinas inflamatorias en la mucosa colónica sin afectar las tasas de infección postoperatoria (Villéger et al. 2019).

Muchos componentes de los alimentos actúan como el verdadero alimento de las bacterias intestinales pudiendo metabolizarlas en metabolitos supresores de tumores. El uso de prebióticos, conocidos como fibras dietéticas no digeribles o absorbibles por el huésped y utilizadas específicamente por los microbios intestinales, debería aumentar la colonización y la expansión relativa de determinadas bacterias y sus metabolitos específicos, lo que puede tener un efecto beneficioso en el tratamiento antitumoral. Sin embargo, el posible efecto de los prebióticos depende de la presencia de bacterias beneficiosas ya en el intestino del huésped. Por lo tanto, la combinación de probióticos y prebióticos, conocida como simbiótico, parece prometedora (Villéger et al. 2019). Además, una intervención simbiótica consistente en inulina prebiótica y los probióticos *Lactobacillus rhamnosus GG* y *Bifidobacterium lactis Bb12* indujo cambios en la microbiota fecal (aumento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, disminución de *Clostridium perfringens*), con una reducción de la proliferación celular y una mejora de la función de la barrera epitelial en pacientes con antecedentes de pólipos colónicos (Wong and Yu 2019).

16. Conclusiones

El CCR aparece tras una disbiosis de la microbiota intestinal que puede estar inducida por la dieta, por cambios ambientales y por alteraciones genéticas tanto en oncogenes como en genes supresores de tumores.

La interacción entre la microbiota disbiótica y el CCR implica varios mecanismos, ya sea por efecto directo genotóxico de los microorganismos y sus metabolitos, o la conversión de los metabolitos de la dieta en pro-oncogénicos, alteración inmunológica del huésped con inducción de vías inmunosupresoras y proinflamatorias y estimulando la síntesis de factores tróficos por el huésped.

La microbiota puede generar un microambiente inflamatorio y la inflamación a su vez podría alterar la microbiota, de tal forma que la microbiota disbiótica enriquecida en patógenos oportunistas favorece la colonización por bacterias *driver* tipo ETBF, inductoras de una inflamación crónica, que cambian el microambiente intestinal favoreciendo una nueva colonización por bacterias *passenger* como el *Fusobacterium spp.* que contribuyen a la iniciación y promoción del CCR.

La desregulación inmunológica inducida por la microbiota puede iniciar la respuesta inmune asociada a los inflamasomas y autofagia activada por los TLR.

Estudios metagenómicos y metataxonómicos recientes identificaron un núcleo de 29 especies que estaban enriquecidas en el CCR. Este conjunto incluía bacterias como el *F. nucleatum* que expresa adhesinas que afectan al comportamiento celular así como proteínas para inhibir el sistema inmunitario. ETBF que es un patógeno *driver* por excelencia del proceso proinflamatorio e iniciador atraería a otras bacterias tipo *passenger* dando lugar a la formación de un biofilm. *E. coli* (pks+) que sintetiza genotoxinas potencialmente mutagénicos del DNA también estaría implicado en el CCR.

La microbiota metaboliza muchos componentes de la dieta y del metabolismo del huésped en metabolitos bacterianos con efecto oncogénico como las poliaminas, el sulfuro de hidrogeno, los ácidos biliares secundarios como el desoxicólico y especies reactivas de oxígeno. Pero el vasto abanico metabolómico de la microbiota también puede prevenir el CCR como es el caso entre otro de los AGCC con efectos antiinflamatorios e inmunológicos.

El 15% del lado izquierdo y el 100% de los pacientes con CCR del colon derecho examinados hasta la fecha tenían tumores con biofilm positivo. Los biofilms bacterianos no son carcinógenos en sí, sólo en el contexto de bacterias invasoras específicas, como las fusobacterias. Pueden ser fuentes de SH₂, nitrosaminas y síntesis y acetilación de poliaminas, compuestos genotóxicos y carcinógenos al inducir daños en el ADN e inestabilidad genómica.

Muy esperanzador es el hecho de que el microbioma y su metaboloma intestinal están siendo investigados como posibles biomarcadores del CCR tanto para su diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento.

El perfil de la microbiota intestinal de los pacientes con CCR podría conducir a la "medicina personalizada 2.0" investigando el impacto del microbioma intestinal sobre las respuestas del tratamiento del CCR y sus efectos secundarios. En esa dirección se están desarrollando múltiples estrategias que incluyen el trasplante de microbiota fecal, el uso de pre/probióticos y simbióticos en la dieta, uso de antibióticos, así como la terapia fágica, con el fin de modular la microbiota para ayudar a la prevención y tratamiento del CCR.

Agradecimientos

Agradezco a mi tutora y directora del TFG, Asunción Seoane Seoane, toda la ayuda, orientación y la gran implicación durante todo el trabajo. También agradecer el esfuerzo y apoyo invaluable de mi familia y allegados.

Bibliografía

- Amrane, Sophie, Didier Raoult, and Jean Chrisophe Lagier. 2018. «Metagenomics, culturomics, and the human gut microbiota». *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 16 (5): 373-75. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1467268>.
- Argenio, Valeria D, and Francesco Salvatore. 2015. «Clinica Chimica Acta The role of the gut microbiome in the healthy adult status». *Clinica Chimica Acta* 451: 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.01.003>.
- Arumugam, Manimozhiyan, Jeroen Raes, Eric Pelletier, Denis Le Paslier, Jean-michel Batto, Marcelo Bertalan, Natalia Borruel, and Francesc Casellas. 2013. «Europe PMC Funders Group Enterotypes of the human gut microbiome» 473 (7346): 174-80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>.Enterotypes.
- Bullman, Susan, Chandra S. Peadamallu, Ewa Sicinska, Thomas E. Clancy, Xiaoyang Zhang, Diana Cai, Donna Neuberg, et al. 2017. «Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic response in colorectal cancer». *Science* 358 (6369): 1443-48. <https://doi.org/10.1126/science.aal5240>.
- Bultman, SJ. 2017. «Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer.» *Mol Nutr Food Res* 61 (1). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500902>.
- Cani, Patrice D. 2018. «Human gut microbiome: Hopes, threats and promises». *Gut* 67 (9): 1716-25. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316723>.
- Cani, Patrice D., and Benedicte F. Jordan. 2018. «Gut microbiota-mediated inflammation in obesity: a link with gastrointestinal cancer». *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 15 (11): 671-82. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0025-6>.
- Cheng, Mingyue, and Kang Ning. 2019. «Stereotypes About Enterotype : the Old and New Ideas». *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 17 (1): 4-12. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.02.004>.
- Costea, Paul I., Falk Hildebrand, Manimozhiyan Arumugam, Fredrik Bäckhed, Martin J. Blaser, Frederic D. Bushman, Willem M. de Vos, et al. 2018. 2018. «“Enterotypes in the Landscape of Gut Microbial Community Composition”». *Nature Microbiology* 3 (1): 8-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41564-017-0072-8>.
- Donaldson, Gregory P., S. Melanie Lee, and Sarkis K. Mazmanian. 2015. «Gut biogeography of the bacterial microbiota». *Nature Reviews Microbiology* 14 (1): 20-32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>.
- Drewes, Julia L., Franck Housseau, and Cynthia L. Sears. 2016. «Sporadic colorectal cancer:

Microbial contributors to disease prevention, development and therapy». *British Journal of Cancer* 115 (3): 273-80. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.189>.

Duranti, Sabrina, Chiara Ferrario, Douwe Van Sinderen, Marco Ventura, and Francesca Turrone. 2017. «Obesity and microbiota: an example of an intricate relationship», 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12263-017-0566-2>.

Garrett, Wendy S. 2019. «The gut microbiota and colon cancer». *Science* 364 (6446): 1133-36. <https://doi.org/10.1126/science.aaw2367>.

Grazioso, Tatiana P., Marta Brandt, and Nabil Djouder. 2019. «Diet, Microbiota, and Colorectal Cancer». *Science* 21: 168-87. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.10.011>.

Gutleben, Johanna, Maryam Chaib De Mares, Jan Dirk Van Elsas, Jörg Overmann, and Detmer Sipkema. 2018. «Critical Reviews in Microbiology The multi-omics promise in context : from sequence to microbial isolate». *Critical Reviews in Microbiology* 44 (2): 212-29. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1332003>.

Helmink, Beth A., M. A. Wadud Khan, Amanda Hermann, Vancheswaran Gopalakrishnan, and Jennifer A. Wargo. 2019. «The microbiome, cancer, and cancer therapy». *Nature Medicine* 25 (3): 377-88. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0377-7>.

Integrative, The, and Human Microbiome. s. f. «The Integrative Human Microbiome Project», 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>.

Jandhyala, Sai Manasa, Rupjyoti Talukdar, Chivkula Subramanyam, Harish Vuyyuru, Mitnala Sasikala, and D. Nageshwar Reddy. 2015. «Role of the normal gut microbiota». *World Journal of Gastroenterology* 21 (29): 8836-47. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>.

Kashyap, Purna C., Nicholas Chia, Heidi Nelson, Eran Segal, and Eran Elinav. 2017. «Microbiome at the Frontier of Personalized Medicine». *Mayo Clinic Proceedings* 92 (12): 1855-64. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.10.004>.

Keum, Na Na, and Edward Giovannucci. 2019. «Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies». *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 16 (12): 713-32. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0189-8>.

Li, Shan, Sergey R. Konstantinov, Ron Smits, and Maikel P. Peppelenbosch. 2017. «Bacterial Biofilms in Colorectal Cancer Initiation and Progression». *Trends in Molecular Medicine* 23 (1): 18-30. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.004>.

Malla, Muneer Ahmad, Anamika Dubey, Ashwani Kumar, and Shweta Yadav. 2019. «Exploring the Human Microbiome : The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment» 9 (January): 1-23. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02868>.

Moore-Connors, Jessica M., Katherine A. Dunn, Joseph P. Bielawski, and Johan Van Limbergen. 2015. «Novel Strategies for Applied Metagenomics». *Inflammatory Bowel Diseases* 22 (3): 709-18. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000717>.

- Murphy, Neil, Victor Moreno, David J. Hughes, Ludmila Vodicka, Pavel Vodicka, Elom K. Aglago, Marc J. Gunter, and Mazda Jenab. 2019. «Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility». *Molecular Aspects of Medicine* 69 (March): 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.06.005>.
- Nistal, Esther., Nereida, Fernández-Fernández, Santiago, Vivas and José Luis, Olcoz. 2015. "Factors determining colorectal cancer: the role of the intestinal microbiota" *Frontiers in oncology* 5 (October). e220. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00220>
- Rajagopala, Seesandra V., Sanjay Vashee, Lauren M. Oldfield, Yo Suzuki, J. Craig Venter, Amalio Telenti, and Karen E. Nelson. 2017. «The human microbiome and cancer». *Cancer Prevention Research* 10 (4): 226-34. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-16-0249>.
- Raskov, Hans, Jakob Burcharth, and Hans Christian Pommergaard. 2017. «Linking gut microbiota to colorectal cancer». *Journal of Cancer* 8 (17): 3378-95. <https://doi.org/10.7150/jca.20497>.
- Saus, Ester, Susana Iraola-Guzmán, Jesse R. Willis, Anna Brunet-Vega, and Toni Gabaldón. 2019. «Microbiome and colorectal cancer: Roles in carcinogenesis and clinical potential». *Molecular Aspects of Medicine* 69 (March): 93-106. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.05.001>.
- Sender, Ron, Shai Fuchs, and Ron Milo. 2016. «Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body», 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>.
- Shabana, null, Saleem U. Shahid, and Uzma Irfan. 2018. «The Gut Microbiota and Its Potential Role in Obesity». *Future Microbiology* 13: 589-603. <https://doi.org/https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0179>.
- Thursby, Elizabeth, and Nathalie Juge. 2017. «Introduction to the human gut microbiota». *Biochemical Journal* 474 (11): 1823-36. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.
- Tilg, Herbert, Timon E. Adolph, Romana R. Gerner, and Alexander R. Moschen. 2018. «The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer». *Cancer Cell* 33 (6): 954-64. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>.
- Tropini, Carolina, Kristen A. Earle, Kerwyn Casey Huang, and Justin L. Sonnenburg. 2017. «The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function». *Cell Host and Microbe* 21 (4): 433-42. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.010>.
- Villéger, Romain, Amélie Lopès, Guillaume Carrier, Julie Veziant, Elisabeth Billard, Nicolas Barnich, Johan Gagnière, Emilie Vazeille, and Mathilde Bonnet. 2019. «Intestinal microbiota: A novel target to improve anti-tumor treatment?» *International Journal of Molecular Sciences* 20 (18): 1-25. <https://doi.org/10.3390/ijms20184584>.
- Villéger, Romain, Amélie Lopès, Julie Veziant, Johan Gagnière, Nicolas Barnich, Elisabeth Billard, Delphine Boucher, and Mathilde Bonnet. 2018. «Microbial markers in colorectal cancer detection and/or prognosis». *World Journal of Gastroenterology* 24 (22): 2327-47. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i22.2327>
- Wielandt, Ana María, Villarroel, Cynthia, Hurtado, Claudia, Simian, Daniela, Zamorano, Diego,

Martínez, Maripaz, Castro, Magdalena, Vial, María Teresa, Kronberg, Udo, López-Kostner, Francisco. 2017. «Caracterización de pacientes con cáncer colorrectal esporádico basado en la nueva subclasificación molecular de consenso». *Revista médica de Chile* 145 (4): 419-30. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872017000400001>.

Wirbel, Jakob., Paul Theodor, Pyl, Ece, Kartal and Georg Zeller. 2019. "Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer". *Nature Medicine* 25: 679-689. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0406-6>

Wong, Sunny H., and Jun Yu. 2019. «Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications». *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 16 (11): 690-704. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0209-8>.

Anexos: Índice de Abreviaturas

CCR: Cáncer Colorrectal	Fn: <i>Fusobacterium nucleatum</i>
ETBF: <i>Bacteroides fragilis</i> enterotoxigénico	Bf: <i>Bacteroides fragilis</i>
MetaHIT: Metagenoma del sistema intestinal humano (Unión Europea)	CIN: Inestabilidad molecular cromosómica
HMP: Proyecto de Microbioma Humano	MSI: Inestabilidad microsátélites
EII: Enfermedad inflamatoria intestinal	CIMP: Fenotipo metilador de islas CgG
SNG: Secuenciación de Nueva Generación	HNPCC: Cáncer de colon hereditario no polipósico
AMP: Péptidos antimicrobianos	DCA: ácido desoxicólico
SFB: Bacterias filamentosas segmentadas	NEAC: capacidad antioxidante no enzimática
IgAs: Inmunoglobulina A secretada	HCA: aminas heterocíclicas
OTU: Unidad taxonómica operacional	PAH: hidrocarburos policíclicos aromáticos
RRP: Receptor de reconocimiento de patrones	COX: ciclooxigenasa
PMAM: patrones moleculares asociados a microbios	IL: interleucina
CLI: Células linfoides innatas	AGCC: ácidos grasos de cadena corta
CEI: Células del epitelio intestinal	IMC: índice de masa corporal
RTL: receptores Toll-like	APC: gen de la poliposis adenomatosa del colon
NLR: receptores de tipo NOD	MMR: reparación por mismatch
CLR: Receptores de lectinas tipo C	NF-κB: factor de transcripción nuclear kappa
RLR: Receptores tipo RIG-1	VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular
PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos	TNF: factor de necrosis tumoral
WCRF: World Cancer Research Fund	TNF-α: factor de necrosis tumoral-α
AICR: American Institute for Cancer Research	TGF-β: Factor de Crecimiento Transformante β
CDT: toxina de distensión citoletal	ROS: especies reactivas de oxígeno
BFT: toxina de <i>Bacteroides fragilis</i>	MAPK: proteínas quinasas activadas por mitógenos
IFN-γ: interferón gamma	CC: circunferencia de la cintura
GALT: tejido linfoide asociado al intestino	ALDH: acetaldehído deshidrogenasa
PAF: poliposis adenomatosa familiar	TAS: tejido adiposo subcutáneo
TAV: tejido adiposo visceral	TMF: trasplante de microbiota fecal
ROC: Característica Operativa del Receptor	MMP9: metaloproteinasas 9
AUC: Área bajo la curva	NIMS: espectrometría de masas de imágenes de nanoestructuras
TIF: test inmunoquímico fecal	

Glosario

Microbiota: este término se refiere a una colección de todos los taxones que constituyen comunidades microbianas, como bacterias, arqueas, hongos. Cuando se refiere a un entorno específico, el término está precedido por dicha ubicación, por ejemplo, "la microbiota intestinal" se refiere al tracto intestinal y la "microbiota oral" se usa cuando se habla de todos los microorganismos de la cavidad oral.

Microbioma: este término se usó inicialmente para referirse a los genes que albergan los microorganismos; sin embargo, actualmente, el término "microbioma" también se usa comúnmente para referirse a los microorganismos mismos (es decir, la microbiota).

Probióticos: son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped.

Prebióticos: estos son sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del hospedador y que confieren beneficios para la salud. Una molécula que sirve como nutriente que estimula el crecimiento de bacterias intestinales comensales o mutualistas. En muchos casos, los prebióticos pueden ser específicos para grupos discretos de bacterias en función de sus necesidades metabólicas (es decir, nutricionales).

Metagenoma: este término se refiere a todo el material genético presente en una muestra. El metagenoma está compuesto por los genomas de varios organismos individuales presentes en una muestra ambiental.

Metagenómica: Estudio del material genético de las muestras recuperadas directamente de un determinado entorno biológico para conocer su composición microbiana, evitando la necesidad de aislamiento y cultivo individual de sus componentes.

Enterotipo: Clasificación de la comunidad de la microbiota intestinal humana en tres grupos, de acuerdo a la distinta composición del ecosistema.

Metaboloma: este término se refiere al complemento cuantitativo de todas las moléculas de bajo peso molecular presentes en una muestra biológica.

Viroma: este término se refiere a todo el material genético viral presente en una muestra. El viroma consiste en los genomas de virus.

Interacciones sintróficas: son las relaciones metabólicas en las que un miembro proporciona nutrientes a otro.

Simbiontes: en ecología se denominan a los organismos que participan en una relación cercana con otros organismos. El término abarca organismos que participan en diferentes tipos de relación, incluidos mutualistas, comensales y parásitos.

Comensales: en ecología son los organismos que participan en una relación simbiótica en la que una parte se beneficia de la otra sin afectar a la otra parte. Históricamente, los comensales también se usan como un término para las bacterias intestinales residentes, aunque muchos de estos pueden ser mutualistas.

Mutualistas: en ecología son los organismos que participan en una relación simbiótica en la que ambas partes se benefician.

Animales gnotobióticos: son animales libres de gérmenes que ahora llevan una microbiota definida. La composición de la microbiota en estos animales generalmente se determina experimentalmente.

Digesta: Son el grueso de las fibras dietéticas que se digieren a medida que transitan por el tracto gastrointestinal.

Biofilm: Es una agregación de bacterias que se localizan en una matriz y residen en una superficie. Los biofilms pueden incluir especies individuales de bacterias o comunidades polimicrobianas.

Patógeno: Es un simbionte con el potencial para promover la patología en condiciones que se desvían de la homeostasis, como en individuos inmunocomprometidos o privados de nutrientes.

Disbiosis: Es la desviación de una comunidad microbiana normal, por un desequilibrio en la abundancia, composición o localización de los microorganismos.

Xenobiótico: Sustancia cuya estructura química es extraña a la naturaleza, poco frecuente o inexistente ya que es sintetizada artificialmente por el hombre en el laboratorio.