



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Papel de la microbiota intestinal y de la vitamina D en el desarrollo del
cáncer colorrectal**

**The role of gut microbiota and vitamin D in colorectal cancer
development**

Autor/a: María Ruiz Cosgaya

Director/es: Asunción Seoane Seoane

Santander, junio 2022

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Objetivos.....	2
Metodología.....	2
Microbiota intestinal.....	2
Métodos de detección de la microbiota intestinal.....	3
Establecimiento de la microbiota intestinal.....	5
Biogeografía de la microbiota intestinal.....	6
Variación global de los metagenomas intestinales. Enterotipos.....	8
Funciones de la microbiota intestinal.....	10
Factores que determinan el cáncer colorrectal (CRC).....	14
Papel de la dieta y el estilo de vida en el cáncer colorrectal.....	17
Microbiota intestinal asociada al cáncer colorrectal.....	20
Papel del biofilm en la iniciación del cáncer colorrectal.....	23
Microorganismos relacionados con el CRC.....	26
Impacto de la microbiota intestinal en la eficiencia y toxicidad de las terapias contra el CCR.....	30
Mecanismos de acción de la vitamina D y su impacto en la microbiota intestinal.....	34
Relación entre déficit en vitamina D y disbiosis de la microbiota intestinal.....	36
Alteración de la expresión del receptor de la vitamina D (VDR) en el CCR.....	37
Mecanismos de acción del calcitriol en el CCR.....	40
Modulación de la microbiota intestinal con fines terapéuticos.....	42
Integración de los datos del microbioma en la medicina de precisión para la prevención, diagnóstico y tratamiento del CCR.....	45
Conclusiones.....	46
Abreviaturas.....	47
Bibliografía.....	49
Agradecimientos.....	54

RESUMEN

El estudio de la microbiota intestinal ha recibido una importancia creciente durante los últimos años; reconociéndose cada vez más la relación entre la microbiota intestinal y la salud humana. Actualmente está bien establecido que una microbiota intestinal saludable es en gran parte responsable de la salud general del huésped, y su alteración se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades más allá de las enfermedades infecciosas clásicas. Entre ellas destacamos el carcinoma colorrectal (CCR) siendo cada vez más claros los roles de los microorganismos intestinales que inician y facilitan el proceso de CCR mediante diferentes mecanismos.

Además, el CCR es la neoplasia que con mayor frecuencia se asocia al déficit de vitamina D. Muchos estudios muestran que la vitamina D inhibe la proliferación y promueve la diferenciación epitelial de líneas celulares que expresan el receptor de vitamina D.

La importancia de estos estudios radica en que el CCR ocupa el tercer cáncer más incidente en hombres y el segundo en mujeres. Siendo el segundo en mortalidad causando hasta 690.000 muertes/año.

ABSTRACT

The study of the intestinal microbiota has received increasing importance in recent years; increasingly recognizing the relationship between the gut microbiota and human health. It is now well established that a healthy intestinal flora is responsible for the general health of the host, and its alteration has been related to the development of diseases beyond classical infectious diseases. Among them, we highlight colorectal carcinoma (CRC), with the roles of intestinal microorganisms that initiate and facilitate the CRC process through different mechanisms becoming increasingly clear.

In addition, CRC is the neoplasm most frequently associated with vitamin D deficiency. Many studies show that vitamin D inhibits proliferation and promotes epithelial differentiation of cell lines that express the vitamin D receptor.

The importance of these studies lies in the fact that CRC is the third most common cancer in men and the second in women. It ranks second in mortality causing up to 690,000 deaths/year.

INTRODUCCIÓN

La Microbiota es clave en el mantenimiento de la salud humana ejerciendo un papel crucial en la homeostasis inmunológica y metabólica. Su alteración (disbiosis), se ha asociado con la patogenia de muchas enfermedades e infecciones y actualmente se considera una fuente potencial de terapias novedosas (Thursby & Juge, 2017). Aunque la microbiota intestinal se ha estudiado durante varias décadas ha sido durante los últimos 15 años cuando ha recibido una atención creciente (Cani, 2018).

En esta revisión trataremos el impacto de la microbiota intestinal en el cáncer colorrectal (CCR) al ser una de las enfermedades gastrointestinales malignas más estudiadas por su elevada prevalencia y debido a la evidencia experimental del papel clave que ejerce la microbiota intestinal en su desarrollo (Tilg et al., 2018). Además, trataremos también el efecto antitumoral de la vitamina D debido a los hallazgos de que la microbiota intestinal se ve alterada por deficiencias en vitamina D y que la disfunción del receptor de la vitamina D origina disbiosis (Song et al., 2020).

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El objetivo de este trabajo es realizar una exhaustiva revisión bibliográfica sobre los artículos y estudios publicados hasta la fecha acerca del papel de la microbiota intestinal en el cáncer colorrectal y del papel que juega la microbiota intestinal y las deficiencias de vitamina D en el desarrollo de disbiosis y tumorigénesis. Para recopilar toda esta información se han usado bases de datos como PubMed y UptoDate, haciendo una selección de artículos que son citados en el apartado de bibliografía. Además, para el desarrollo de la revisión se han consultado también libros y fuentes de soporte digital.

LA MICROBIOTA INTESTINAL

El tracto gastrointestinal humano presenta un microbioma diverso y dinámico que comprende bacterias, arqueas, virus y microbios eucariotas, que varían en composición de un individuo a otro (Shabana et al., 2018). Esta población de microorganismos se denomina microbiota intestinal y ha evolucionado conjuntamente con el huésped durante miles de años para formar una relación compleja y mutuamente beneficiosa. Se ha estimado que el número de microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal supera los 10^{14} . Anteriormente se había estimado que había 10 células procariotas por cada célula eucariota, pero cálculos recientes han demostrado que la proporción es aproximadamente 1:1 (Thursby & Juge, 2017). Este dato viene de que la microbiota intestinal del colon es la que más contribuye al número total de bacterias: $3,8 \times 10^{13}$ (el resto de bacterias en otros órganos es menor de 10^{12}) y algo parecido ocurre con las células humanas: 3×10^{13} , de las que las células sanguíneas son las que más contribuyen con 25×10^{12} y las demás células con 5×10^{12} , total células humanas: 3×10^{13} .

Los dominios *Eukarya* y *Archaea* también están presentes en el intestino, pero son las bacterias las que predominan claramente. Los humanos adultos son colonizados por microbios de 12 phylum y al menos una división de *Archaea*. La microbiota intestinal 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 & Juge 2017).

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Antes de la llegada de las tecnologías de secuenciación masiva, la elaboración de perfiles precisos de la composición microbiana era un desafío siendo solo una pequeña proporción los microorganismos que podían cultivarse (Malla et al., 2019). Utilizando técnicas basadas en cultivos, se pueden aislar solo entre el 10% y el 25% de la microbiota, y esto se debe a que la mayoría de los microorganismos en el intestino son anaeróbicos. Posteriormente, con las mejoras en las técnicas de cultivo anaeróbico, se identificaron géneros como *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* (Jandhyala, 2015).

La presunción de que una gran proporción de la microbiota intestinal humana no estaba aún cultivada impulsó el desarrollo de enfoques independientes del cultivo como la metagenómica, metatranscriptómica, metaproteómica y metabolómica para descubrir las identidades y funciones de los microorganismos no cultivados hasta ahora (Milani et al., 2017).

Una técnica que se sigue empleando basada en el cultivo es denominada culturómica. Consiste en la siembra de diluciones seriadas de la misma muestra en agar con diferentes condiciones de cultivo y después del crecimiento se aísla cada colonia. El primer paso de identificación de cada colonia se completa mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF). Cuando no es posible la identificación por MALDI-TOF, la colonia bacteriana se analiza mediante amplificación de ARN 16S y se secuencia, proporcionando su denominación taxonómica (Amrane et al., 2018). Con este avance se ha conseguido que la diferencia entre las especies bacterianas que residen en el intestino humano y que aún no habían sido cultivadas y las que se han aislado y cultivado disminuya. Se ha informado que aproximadamente el 56% de las bacterias intestinales detectadas mediante enfoques NGS tienen representantes cultivados (Milani et al., 2017).

Con la disponibilidad de tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, el estudio de la microbiota intestinal actualmente consta de dos etapas principales: secuenciación de genes bacterianos y análisis bioinformático (Jandhyala, 2015). La secuenciación dirigida (ARN 16Sr) y la secuenciación del metagenoma completo son dos enfoques de secuenciación diferentes utilizados para estudiar la microbiota (Malla et al., 2019).

La secuenciación del gen de ARNr 16S como marcador filogenético conservado representa la metodología estándar actual para identificar la taxonomía microbiana (Milani et al., 2017). Esta técnica hace coincidir la secuencia de ADN amplificada usando un conjunto de cebadores universales basados en el ARNr 16S altamente conservado

con secuencias de taxones bacterianos conocidos (Malla et al., 2019). La secuenciación de genes bacterianos implica el análisis metagenómico del ADN que codifica el ARNr 16S. La región 16S del gen bacteriano es pequeña (tamaño de 1,5 Kb) y muy conservada, con 9 sitios hipervariables que son suficientes para diferenciar varias especies bacterianas. Las regiones comunes para la identificación bacteriana en el ARNr 16S son V3, V4, V6 y V8 (Jandhyala, 2015).

Las regiones del gen ARNr 16S bacteriano, se agrupan por dos enfoques principales. Primero, las secuencias se pueden agrupar en filotipos de acuerdo con su similitud con secuencias previamente anotadas en una base de datos de referencia. En segundo lugar, las unidades taxonómicas operativas (OTU) que representan microorganismos similares se pueden construir agrupando secuencias de novo, basado puramente en su similitud. Por tanto, se recomienda un método híbrido que combine ambos enfoques (Jovel et al., 2016).

Con el desarrollo de la tecnología biomédica, la secuenciación de genes bacterianos ha evolucionado rápidamente desde la secuenciación de Sanger a varias variaciones de secuenciación de nueva generación (NGS) (Jandhyala, 2015). Las técnicas basadas en NGS se pueden usar para secuenciar el gen 16s ARN y para la secuenciación de todo el ADN mediante el método “shotgun” que consiste en secuenciar fragmentos aleatorios (Malla et al., 2019).

Con el método *shotgun* se puede secuenciar todo el ADN mediante fragmentos extraídos de la muestra a analizar. Supone una ventaja respecto a la amplificación del ARNr 16S al proporcionar más información al incluir aspectos funcionales de la composición microbiana y al no sufrir los sesgos de amplificación del ARNr 16S. Los datos que aporta esta técnica se pueden emplear para explorar genes que participan en procesos metabólicos como los involucrados en la biosíntesis, para establecer aspectos funcionales del microbioma intestinal, como la resistencia a los antibióticos y para reconstruir genomas completos o parciales de taxones no cultivados hasta ahora (Milani et al., 2017).

Se han desarrollado varias plataformas NGS diferentes de uso común. Algunas de ellas son Roche 454 GS FLX, Illumina (MiSeq y HiSeq), Ion Torrent, Ion Proton, SOLiD 5500 series y Oxford Nanopore (Malla et al., 2019).

Aunque las tecnologías NGS son muy potentes tienen el inconveniente de que usan lecturas cortas de unos 150-300 bp. Los NGS dependen de la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y cuando el contenido en G+C es alto, la PCR es ineficiente. Además, los genomas a veces tienen secuencias repetidas que pueden dar lugar a ensamblajes incorrectos.

Recientemente se ha introducido la secuenciación Single-Molecule Real-Time Sequencing (SMRT) o secuenciación de tercera generación (TGS) comercializada por Pacific Biosciences (PacBio) con capacidad para generar lecturas largas de hasta 30,000 pb que no requiere amplificación por PCR y permite secuenciar DNAs que contienen elementos altamente repetitivos (van Dijk et al., 2018). Otra tecnología introducida recientemente que permite lecturas largas y que no requiere amplificación por PCR es

la secuenciación con nanoporos de Oxford Nanopore (ONT). Ambas tecnologías permiten obtener ensamblajes de genomas de una altísima calidad y detectar directamente modificaciones epigenéticas en el DNA.

La metabolómica es otro campo en rápida expansión de la investigación de la microbiota intestinal que evalúa las pequeñas moléculas asociadas con el metabolismo bacteriano huésped que tiene implicaciones en la salud y la enfermedad. Los datos compuestos de la microbiota intestinal y el metaboloma proporcionan actualmente la mejor evidencia que puede demostrar la asociación de la salud y con los diferentes estados de enfermedad (Jandhyala, 2015). Otras técnicas de alto rendimiento son la metatranscriptómica para analizar los genes expresados y la metaproteómica para la detección e identificación de proteínas (Shabana et al., 2018).

ESTABLECIMIENTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Anteriormente se pensaba que el tracto gastrointestinal (TGI) era colonizado por microbios después del nacimiento, sin embargo, se ha visto que hay una translocación de bajo nivel de algunas bacterias de la madre al feto a través de la placenta, ya que se han detectado muchos microbios no patógenos de los *phyla Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria* en las primeras heces (meconio) de bebés recién nacidos sanos. El intestino del bebé es colonizado rápidamente por microorganismos de la madre y del medio ambiente (Shabana et al., 2018). Los tipos de microorganismos que colonizan varían influidos por factores placentarios en la etapa prenatal, por el modo de parto y la edad gestacional en la etapa neonatal y en la etapa postnatal es modificado por diferentes factores destacando la lactancia materna (Milani et al., 2017).

Los bebés nacidos por vía vaginal entran en contacto con la microbiota vaginal y fecal materna, lo que resulta en la colonización del intestino neonatal por microorganismos asociados a la vagina como *Lactobacillus y Prevotella*. Por el contrario, los bebés que nacen por cesárea tienen más probabilidades de ser colonizados por microorganismos ambientales de la piel materna, el personal del hospital o el entorno hospitalario predominando *Staphylococcus, Corynebacterium y Propionibacterium* (Milani et al., 2017).

Como hemos comentado, la leche materna ejerce un papel crucial en la composición de la microbiota a través de la transmisión de la microbiota de la leche al intestino del lactante. Además, sirve de protección contra especies nocivas gracias a los anticuerpos maternos secretados y además, los oligosacáridos de la leche seleccionan ciertas especies (Donaldson et al., 2016).

En las primeras etapas del desarrollo, la microbiota es generalmente baja en diversidad y está dominada por dos *phyla* principales: *Actinobacteria* y *Proteobacteria*. Durante el primer año de vida, la diversidad microbiana aumenta y la composición de la microbiota converge hacia un perfil microbiano distinto similar al de un adulto con patrones temporales que son únicos para cada bebé. Alrededor de los dos años y medio, la composición, diversidad y capacidades funcionales de la microbiota infantil se asemejan

a las de la microbiota adulta. Aunque, en la edad adulta, la composición de la microbiota intestinal es relativamente estable, todavía está sujeta a cambios (Thursby & Juge, 2017).

En general, la microbiota intestinal sana está constituida predominantemente por los *phyla Firmicutes* y *Bacteroidetes*. A esto le siguen los *phyla Actinobacteria* y *Verrucomicrobia*. Aunque este perfil general permanece constante, la microbiota intestinal presenta diferencias temporales y espaciales en la distribución a varios niveles (Jandhyala, 2015).

BIOGEOGRAFÍA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Se ha descrito una variación en la localización y densidad microbiana dentro del tracto digestivo tanto a lo largo del intestino (desde la boca hasta el recto) como en la sección transversal (desde el lumen hasta la superficie mucosa del intestino), siendo influida por gradientes químicos como el pH, niveles de oxígeno, disponibilidad de nutrientes y efectores inmunes (Tropini et al., 2017).

A medida que se avanza desde el esófago distalmente al recto, hay una marcada diferencia en el número de bacterias que van desde 10^1 por gramo de contenido en el esófago y el estómago a 10^{12} por gramo de contenido en el colon y el intestino distal (Jandhyala, 2015).

El intestino delgado es más ácido y tiene niveles más altos de oxígeno y antimicrobianos que el colon. Por lo tanto, la comunidad microbiana del intestino delgado está dominada por anaerobios facultativos de rápido crecimiento como *Proteobacteria* y *Lactobacillales* que toleran los efectos combinados de los ácidos biliares y los antimicrobianos mientras compiten de manera efectiva tanto con el huésped como con otras bacterias por los carbohidratos simples que están disponibles en esta región del tracto gastrointestinal (Donaldson et al., 2016, Tropini et al., 2017).

Por el contrario, en el intestino grueso el flujo es más lento y el metabolismo favorece la fermentación de polisacáridos complejos derivados del material vegetal no digerido (fibra) o del moco del huésped (Tropini et al., 2017). Los *phyla* predominantes que habitan el intestino grueso incluye *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (Jandhyala, 2015). Y los órdenes predominantes son Bacteroidales y *Clostridiales* (Tropini et al., 2017).

El colon humano también alberga patógenos primarios como *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis*, pero con poca abundancia (0,1% o menos de todo el microbioma intestinal). La abundancia del *phylum Proteobacteria* es generalmente baja; y su ausencia junto con una gran abundancia de géneros como *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* sugiere una microbiota intestinal saludable (Jandhyala, 2015).

Además de la variación en la composición microbiana longitudinalmente, varios factores del huésped impulsan las diferencias sobre el eje transversal desde el lumen hasta la superficie mucosa del intestino (Donaldson et al., 2016) (Fig.1). *Bacteroides*,

Bifidobacterium, *Streptococcus*, géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus* son los géneros microbianos luminales predominantes (se pueden identificar en las heces). *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Akkermansia* son los géneros predominantes asociados a la mucosa (detectados en la capa mucosa y en las criptas epiteliales del intestino delgado) (Jandhyala, 2015).

La asociación cercana de bacterias con la superficie epitelial y las criptas parecen ser características comunes del colon proximal y ciego donde la capa interna de moco es menos densa y más penetrable por bacterias que el colon distal (Tropini et al., 2017).

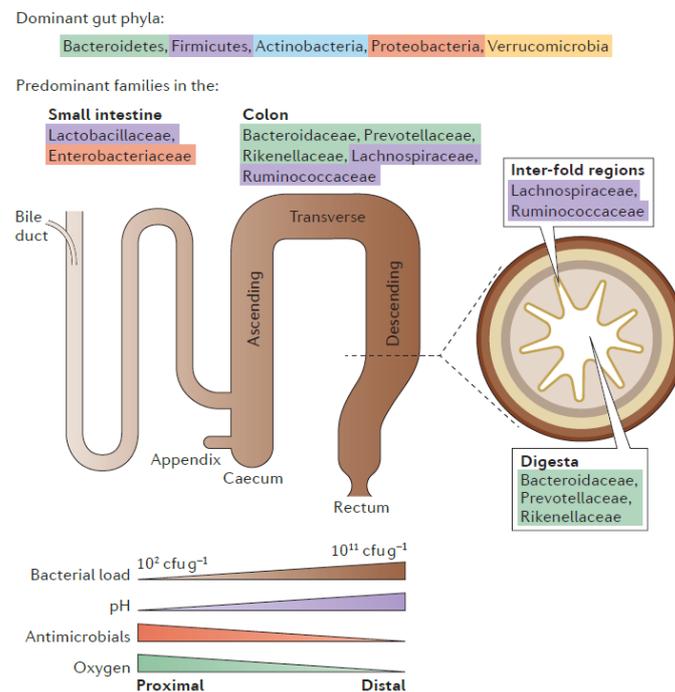


Figura 1. Hábitats microbianos en el tracto gastrointestinal inferior humano. Los *phyla* dominantes en el intestino son *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Las familias bacterianas dominantes del intestino delgado y del colon reflejan diferencias fisiológicas a lo largo del intestino. Gradiente de oxígeno, péptidos antimicrobianos (incluidos los ácidos biliares, secretados por el conducto biliar) y el pH limitan la densidad bacteriana en el intestino delgado, sin embargo, en el colon se observa una alta carga bacteriana. 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*.. (Adaptado de Donaldson, et al 2016).

VARIACIÓN GLOBAL DE LOS METAGENOMAS INTESTINALES. ENTEROTIPOS

La secuenciación masiva de ADN ha sido empleada en estudios a gran escala como el Proyecto Human Microbiome (HMP) con sede en EE. UU (HMP Consortium) y el metagenoma del tracto gastrointestinal humano (MetaHit) con sede en Europa. Tanto el MetaHit como el HMP han caracterizado la microbiota intestinal saludable y cómo se altera ésta en estado de enfermedad (Costea et al., 2018). El HMP tuvo una duración de 10 años organizándose en 2 fases: HMP1 y HMP2. El HMP1 se centró en la caracterización de los microorganismos de diversos sitios del cuerpo en sujetos adultos sanos e incluyó un conjunto de proyectos que se centraron en enfermedades o trastornos específicos. El HMP2 estudió los cambios en tres situaciones: embarazo, enfermedades inflamatorias del intestino y prediabetes (Fig. 2), (The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, 2019).

El MetaHIT se centró en la correlación entre el microbioma y las enfermedades intestinales sobre todo la obesidad y la EII. El MetaHIT mostró que el 40% de los genes se compartían entre la mayoría de los individuos y representaban un metagenoma central. Además, demostró 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 (The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, 2019).

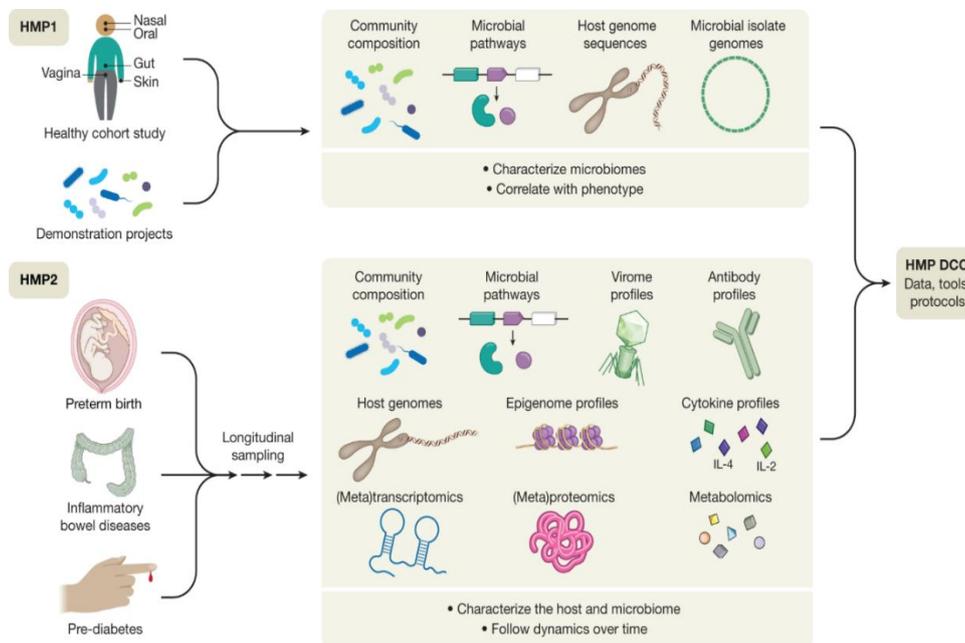


Figura 2. Organización del Proyecto de Microbioma Humano (HMP) de NIH en dos fases (HMP1 y HMP2). El HMP1 se centró en caracterizar comunidades microbianas de numerosos sitios del cuerpo (oral, nasal, vaginal, intestinal y de la piel). El HMP2 se centró en afecciones asociadas con el microbioma: embarazo, enfermedades inflamatorias intestinales y prediabetes («The Integrative Human Microbiome Project», 2019).

Los datos de MetaHIT y del Proyecto de Microbioma Humano identificaron 2172 especies, clasificadas en 12 *phyla*, de las cuales el 93,5% pertenecen a *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. Tres de los 12 *phyla* identificados contenían sólo una especie aislada de humanos, incluida una especie intestinal, *Akkermansia muciniphila*, el único representante conocido del *phylum Verrucomicrobia*. En los seres humanos, 386 de las especies identificadas son estrictamente anaeróbicas y por tanto, se encuentran generalmente en regiones mucosas como cavidad oral y tracto gastrointestinal (Thursby & Juge, 2017).

La microbiota se puede estratificar en enterotipos lo que resulta útil para comprender mejor los procesos que participan en la salud y enfermedad humana. El concepto enterotipo fue establecido en 2011 por Arumugam y colaboradores (Arumugam et al., 2011) al observar que la microbiota intestinal se podría estratificar en 3 enterotipos según la abundancia de los 3 géneros siguientes: *Bacteroides* (enterotipo 1), *Prevotella* (enterotipo 2) y *Ruminococcus* (enterotipo 3). Estos enterotipos pueden diferir en propiedades funcionales y ecológicas. Se ha demostrado que *Prevotella* aumenta en individuos con dietas no occidentales y/o ricas en fibras ya que las hidrolasas de *Prevotella* están especializadas en la degradación de fibras vegetales. *Bacteroides* se ha asociado con dietas enriquecidas en proteínas animales y grasas saturadas debido a la presencia de enzimas especializadas en degradar carbohidratos animales (Cheng & Ning, 2019).

Esta estratificación es a nivel de género sin tener en cuenta las variaciones a nivel de especie y cepa. Existen limitaciones ya que la estratificación sólo refleja la estructura más compleja dentro del espacio poblacional (Costea et al., 2018). Además, el enterotipo está influenciado por varios factores no siendo constantes para los individuos. La ingesta dietética y la administración de antibióticos tienen un impacto significativo en la microbiota. Otros factores como la dieta, el estilo de vida y el estrés ambiental varían con la edad haciendo de la edad una combinación de estos factores con influencia en los enterotipos (Cheng & Ning, 2019). Se había especulado que la estratificación en enterotipos se podría utilizar en la práctica clínica de forma análoga al índice de masa corporal donde los límites son una guía 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 distintos individuos observándose incluso que los enterotipos son más continuos que discretos, como se ve en la Figura 3 (Cheng & Ning, 2019).

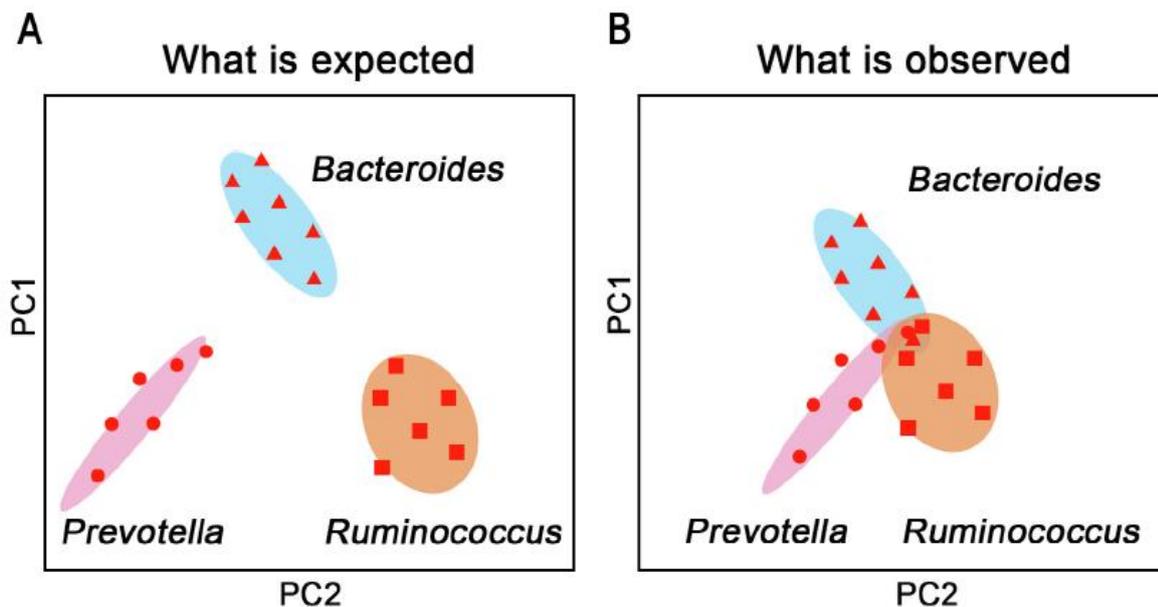


Figura 3. Los enterotipos podrían ser continuos más que discretos, (Adaptado de Cheng and Ning 2019).

FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota intestinal mantiene una relación simbiótica con la mucosa intestinal e imparte funciones metabólicas, inmunológicas y protectoras que son fundamentales para una correcta homeostasis (Jandhyala, 2015). La disbiosis puede provocar alteraciones inmunológicas y una mayor susceptibilidad a presentar infecciones y otras patologías como obesidad, síndrome metabólico, diabetes, enfermedades cardiovasculares...

La composición y la diversidad funcional de la microbiota sigue siendo objeto de estudio. Se ha visto que los perfiles de genes funcionales presentan una gran similitud entre individuos, en contraste con la alta diversidad de la composición de la microbiota. Por tanto, se está intentando identificar los microorganismos que tienen funciones similares y puedan sustituirse entre sí (Shabana et al. 2018).

Protección

La microbiota proporciona una barrera física contra los patógenos mediante la producción de compuestos antimicrobianos y la exclusión competitiva como la ocupación de los sitios de unión y el consumo de nutrientes (Sekirov et al., 2010).

Por medio de los componentes estructurales y metabolitos, la microbiota induce la síntesis de proteínas antimicrobianas (AMP). Los AMP ejercen su función por vía de un mecanismo mediado por el receptor de reconocimiento de patrones (PRR) que incluye receptores tipo Toll (TLRs) y receptores tipo NOD (NDR) y estos a su vez se activan por patrones moleculares asociados a microbios específicos del organismo (MAMP). La

interacción de PRR-MAMP provoca la activación de varias vías de señalización esenciales para la producción de AMP, glicoproteínas e IgA. Dado que las células de Paneth residen en la base de las criptas del intestino delgado, la concentración de AMP es máxima en esta ubicación (Jandhyala, 2015)

Varias cepas probióticas comúnmente utilizadas previenen la unión e invasión de patógenos bacterianos; así *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* han demostrado prevenir la infección por *Listeria*. Compuestos secretados por *Lactobacillus* también han demostrado la disminución de la colonización por *E. coli*. Además, mediante la producción de ácido láctico se produce un entorno inhibitorio del crecimiento de muchas bacterias y se potencia la actividad antimicrobiana de la lisozima del huésped al alterar la membrana externa bacteriana (Sekirov et al., 2010).

Otro mecanismo para el control de cepas patógenas es la expresión de IgA. La microbiota, especialmente los Gramnegativos como *Bacteroides* activan las células dendríticas que inducen a las células plasmáticas para la producción de IgA (Jandhyala, 2015).

Inmunomodulación

El sistema inmunológico de las mucosas debe ser tolerante con la microbiota para evitar la inducción de una respuesta inmune sistémica excesiva y perjudicial, pero debe ser capaz de controlar la microbiota para evitar su sobrecrecimiento y translocación a sitios sistémicos (Sekirov et al., 2010). *B. fragilis* es una de las bacterias intestinales más estudiadas en cuanto a inmunomodulación. El polisacárido A (PSA), que es un componente de su cápsula envía señales a través de células presentadoras de antígenos para estimular la producción de IL-10 por las células T reguladoras. 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).

Los componentes y las células del sistema inmune que participan en el proceso inmunomodulador incluyen tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), células T efectoras y reguladoras, células plasmáticas productoras de IgA, células linfoides innatas del Grupo 3 y macrófagos y células dendríticas de la lámina propia (Jandhyala, 2015). Estas células inmunes están en contacto con el resto del sistema inmunológico a través de los ganglios linfáticos mesentéricos locales (MLN). Además de las células inmunes, el epitelio intestinal también juega un papel en la generación de respuestas inmunes a través del muestreo de antígenos extraños a través de TLR y NLR (Sekirov et al., 2010).

Metabolismo

El papel beneficioso de la microbiota en el metabolismo está involucrado en la adquisición de nutrientes y en el procesamiento xenobiótico.

Se ha implicado a muchas especies bacterianas en el metabolismo de la fibra dietética a ácidos grasos de cadena corta (AGCC ó SCFAs) como butirato, propionato y acetato que representan una importante fuente de energía humana y contribuyen a la prevención de acumulación de subproductos metabólicos potencialmente tóxicos como el lactato (Sekirov et al., 2010). *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* se encargan de la fermentación de carbohidratos que no tienen una digestión proximal y oligosacáridos no digeribles dando como resultado AGCC (Jandhyala, 2015). El propionato y el butirato son reconocidos por receptores acoplados a proteína G como GPR-41 y GPR-43 expresados por las células L- enteroendocrinas (Fig. 4). La estimulación de estos receptores desencadena la secreción de péptidos intestinales implicados en el metabolismo de la glucosa o en la ingesta de alimentos, tales como el péptido similar al glucagón (GLP-1) y el péptido YY (PYY). Esto contribuye a reducir la ingesta de alimentos y acelera el metabolismo de la glucosa. Cambios en el microbioma intestinal inducidos por desórdenes metabólicos dan lugar a una menor producción de butirato y propionato. Estos cambios inducen el paso del LPS a la sangre dando lugar a una inflamación de grado medio (Cani, 2018).

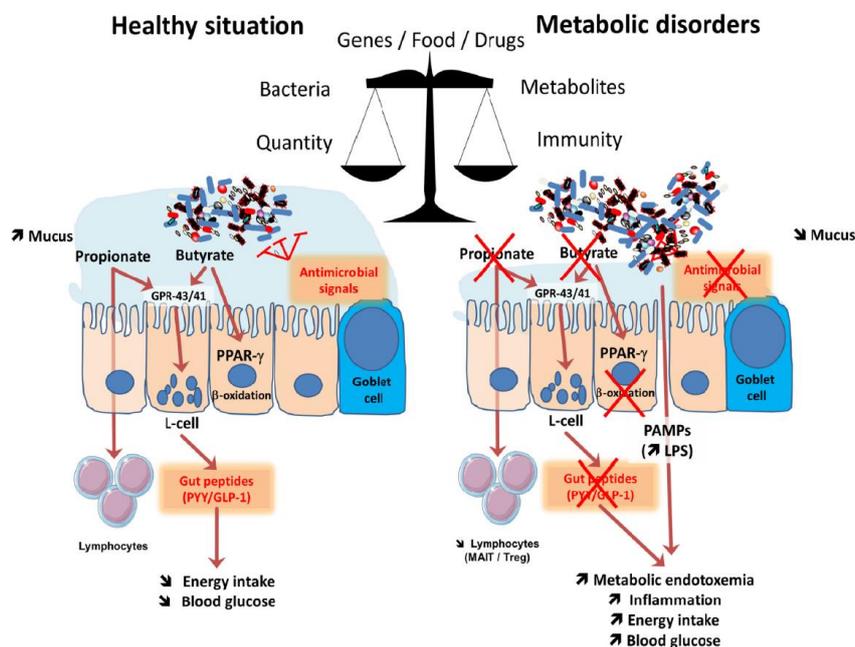


Figura 4. Comunicación entre microbios y huésped y su impacto en el metabolismo en la salud y en desórdenes metabólicos (Adaptado de Cani, 2018).

La microbiota intestinal tiene un impacto positivo en la captación de los lípidos de la dieta 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 (Jandhyala et al. 2015). La microbiota intestinal también está implicada en la regulación del cotransportador de glucosa/Na en el epitelio intestinal con un aumento en la captación de glucosa (Sekirov et al., 2010). Además, se ha visto que los microorganismos de la microbiota son capaces de adaptar su metabolismo a la disponibilidad de sustrato (Sekirov et al., 2010).

Otra función importante es la reducción del riesgo de formación cálculos de oxalato en el riñón. El oxalato que se sintetiza en el intestino como resultado de la fermentación de carbohidratos y el metabolismo es contrarrestado por *Oxalobacter formigenes*, especies de *Lactobacillus* y especies de *Bifidobacterium* (Jandhyala et al. 2015).

En cuanto al metabolismo de la proteínas, la microbiota ejerce su función vía proteinasas y peptidasas microbianas junto con las proteinasas humanas. Varios transportadores de aminoácidos en la pared celular bacteriana facilitan la entrada de aminoácidos desde el lumen a las bacterias, donde productos génicos convierten los aminoácidos en pequeñas moléculas de señalización y péptidos antimicrobianos (Jandhyala et al. 2015).

La síntesis de vitamina K y varios componentes de la vitamina B es otra función metabólica importante de la microbiota intestinal. Se ha demostrado que miembros del género *Bacteroides* sintetizan ácido linoleico conjugado que es antidiabético, antiaterogénico, antiobesogénico, hipolipidémico y que tiene propiedades inmunomoduladoras. *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides fragilis* y también *E. coli*, tienen la capacidad de desconjugar y deshidratar los ácidos biliares primarios y convertirlos en ácidos biliares secundarios, desoxicólicos y litocólicos en el colon humano (Jandhyala, 2015). 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 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 (Jandhyala et al. 2015).

Metabolismo de fármacos y xenobióticos

Se ha sugerido que las diferencias interindividuales e interpoblacionales en los microbiomas con las consiguientes diferencias en los metabonomas explican las diferentes toxicidades de las terapias de uso común en diferentes poblaciones geográficas y culturales (Sekirov et al., 2010, Cani and Jordan 2018).

El papel de la microbiota en el metabolismo de los xenobióticos (Fig.5) puede tener un fuerte impacto en las terapias de diversas enfermedades en el futuro. Estudios recientes han demostrado que un metabolito microbiano, el p-Cresol puede reducir la capacidad del hígado para metabolizar el acetaminofeno (paracetamol) debido a la inhibición competitiva de las sulfotransferasas hepáticas (Jandhyala, 2015).

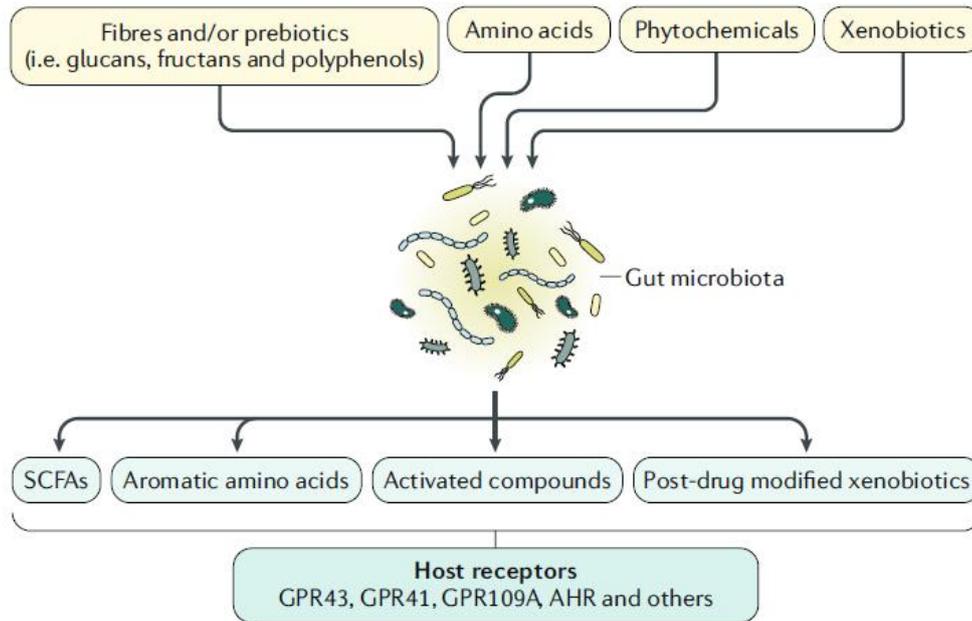


Figura 5. Producción de metabolitos activos por la microbiota intestinal, (Adaptado de Cani and Jordan 2018).

Integridad de la barrera intestinal y estructura del tracto gastrointestinal

La microbiota intestinal participa en el mantenimiento de la estructura y función del tracto gastrointestinal. Se ha demostrado que varios miembros de la microbiota inducen la transcripción de la proteína angiogenina-3 con actividad angiogénica implicada en el desarrollo de la microvasculatura intestinal y que está en relación con la señalización a través de las células de Paneth (Sekirov et al., 2010). *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 peptidoglicano 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 (Jandhyala, 2015).

FACTORES QUE DETERMINAN EL CÁNCER COLORRECTAL (CCR)

A nivel mundial, el CCR (cáncer colorrectal) es la tercera neoplasia maligna diagnosticada con mayor frecuencia y la segunda causa de muerte por cáncer (N. Keum & Giovannucci, 2019). Representa aproximadamente el 10% de todos los casos nuevos de cáncer diagnosticados a nivel mundial (Wong & Yu, 2019). Aproximadamente el 75% de las muertes por CCR ocurren en personas mayores de 65 años, con una mortalidad más alta en hombres. En Europa, la mortalidad por CCR está mostrando una tendencia a la baja en países como Austria, Francia, Irlanda, Suecia y Noruega, a diferencia de países del

Este y Mediterráneo como España, Italia y Grecia que muestran una tendencia en ascenso. Las diferencias en la incidencia entre países se atribuyen principalmente a la dieta (Nistal et al., 2015). Se cree que hasta el 90% del riesgo se debe a factores ambientales (Janney et al., 2020).

Alrededor del 75% de los casos de CCR no son hereditarios y ocurren de manera espontánea, mientras que el 25% tienen antecedentes familiares, lo que muestra la contribución combinada de factores genéticos y ambientales (Fig. 6). Sin embargo, solo entre un 5 y un 6% se deben a alteraciones genéticas de alta penetrancia (Nistal et al., 2015).

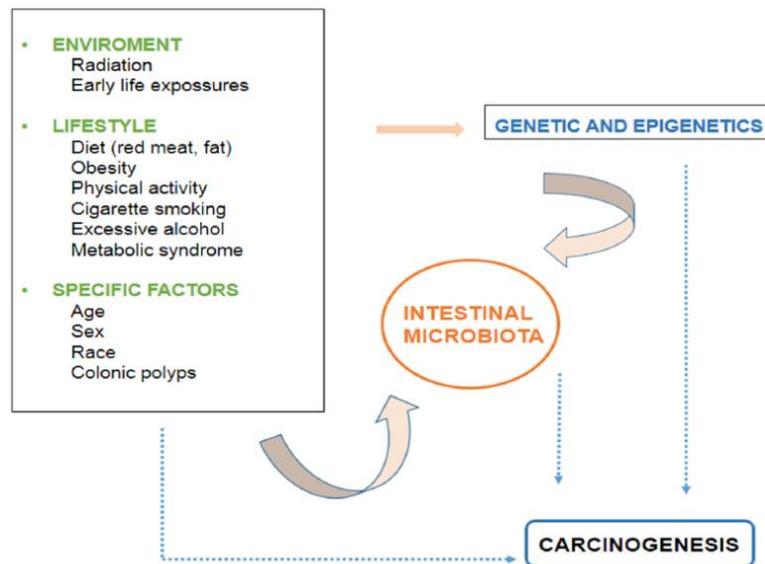


Figura 6. Factores implicados en el desarrollo de cáncer colorrectal. (Nistal et al., 2015).

Tener un familiar de primer grado afectado aumenta al doble el riesgo de desarrollar CCR, y hasta 4 veces con tres o más parientes de primer grado afectados. Las formas más comunes de CCR hereditario están relacionadas con síndromes familiares incluido el cáncer de colon hereditario sin pólipos (HNPCC o síndrome de Lynch) asociada con mutaciones en la vía de reparación del ADN, genes MMR (*mismatch repair*), principalmente MLH1 y MLH2 que desencadenan inestabilidad de microsatélites y la poliposis adenomatosa familiar (PAF) por mutaciones en el gen supresor de tumores APC (*Adenomatous Polyposis Coli*) (Grazioso et al., 2019).

La carcinogénesis colorrectal abarca tres aberraciones genéticas y epigenéticas globales importantes: la inestabilidad cromosómica CIN, fenotipo metilador de CpG (CIMP) y inestabilidad de microsatélites (MSI). La CIN se produce por anomalías en el número de copias cromosómicas y en la estructura causadas seguramente por errores durante la mitosis (N. Keum & Giovannucci, 2019). Representa aproximadamente un 80% de todos los CCR y pueden afectar a la expresión de importantes genes supresores de tumores como APC, TP53 y SMAD4 (Grazioso et al., 2019). CIMP se trata de una forma de modificación epigenética de hipermetilación en dinucleótidos CG en regiones promotoras de genes supresores de tumores que silencian la expresión genética. MSI se

caracteriza por alteraciones en la longitud de microsatélites impulsada por la pérdida funcional de genes de reparación de errores de ADN (N. Keum & Giovannucci, 2019).

La APC está mutada en el 80-90% de los casos hereditarios y espontáneos de CCR. Las mutaciones de la línea germinal en APC son responsables de PAF, mientras que el 80% de todas las formas espontáneas de CCR presentan mutaciones somáticas en APC (Grazioso et al., 2019).

La mayor parte de la carcinogénesis del CCR se debe a la presencia de una lesión precursora benigna definida como un pólipo. Las lesiones intermedias visibles son fácilmente removibles durante una endoscopia de detección y su progresión a CCR generalmente se produce en menos de 10 años. Por lo tanto, existe una ventaja para la prevención secundaria del CCR (Keum & Giovannucci, 2019).

La progresión de pólipo a cáncer implica no sólo acumulación de múltiples mutaciones, sino también alteración de diferentes moléculas. Aunque las bases genómicas y moleculares pueden diferir, la vía convencional para el CCR comienza como un pólipo adenomatoso benigno que progresivamente se convierte en un adenoma avanzada con displasia de alto grado y finalmente en un tumor invasivo que conduce a la pérdida del epitelio epitelial, estructural y función (Grazioso et al., 2019).

Otras vías cancerígenas son la vía serrada y la vía inflamatoria. La vía serrada representa el 10-15% de los CCR esporádicos se produce por la progresión de células normales a pólipos hiperplásicos, adenomas serrados, sésiles y finalmente cáncer. La vía inflamatoria supone menos del 2% de todos los CCR y se relaciona con enfermedades inflamatorias intestinales. Se produce por una inflamación crónica, en la que las células normales progresan a displasia de bajo grado, alto grado y finalmente a cáncer (Fig. 7). El 20% de los pacientes con colitis ulcerosa desarrollan CCR dentro de los 30 años posteriores al inicio de la enfermedad (Raskov et al., 2017).

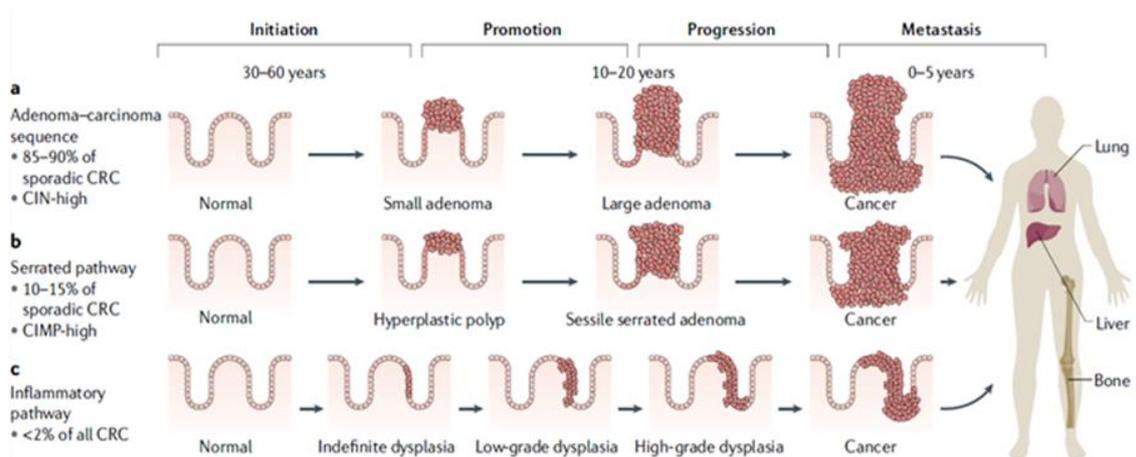


Figura 7. Vías de carcinogénesis colorrectal (Keum & Giovannucci, 2019).

La mayoría de los cánceres colorrectales (CCR) (> 90%) son adenocarcinoma, una neoplasia maligna que se desarrolla a partir de células epiteliales glandulares del colon y el recto; otros tipos raros incluyen carcinoma de células escamosas, carcinoma adenoescamoso, carcinoma de células fusiformes y carcinoma indiferenciado (Keum & Giovannucci, 2019).

PAPEL DE LA DIETA Y ESTILO DE VIDA EN EL CCR

Numerosos estudios han identificado factores dietéticos y de estilo de vida que promueven o protegen contra el CCR. Por ejemplo, el consumo de carnes rojas y grasas animales aumentan el riesgo, mientras que la fibra dietética lo reduce. El balance energético es importante y la epidemia de obesidad tiene un impacto adverso significativo. Aunque la incidencia de CCR ha alcanzado una meseta y ha disminuido durante las últimas décadas en países como EE. UU ha habido un aumento concomitante en los casos de inicio temprano no asociado con síndrome de cáncer familiar y se cree que esta tendencia es debida a la mayor prevalencia de obesidad (Bultman, 2017). El aumento del IMC se asocia con un aumento del 5% en el riesgo de desarrollar un CCR por cada 5kg/m. Los factores implicados son cambios en la señalización del factor de crecimiento similar a la insulina, las adipocinas, hormonas sexuales, la inflamación sistémica, cambios en la microbiota y sus metabolitos (Song et al., 2020).

El papel de la fibra dietética en el metabolismo del tracto gastrointestinal ha sido objeto de investigación durante muchos años. La hipótesis de que una mayor ingesta de fibra protege contra el CCR se originó a partir de la observación de tasas bajas de CCR en africanos que consumen una dieta rica en fibra. Aunque numerosos estudios epidemiológicos han probado esta hipótesis, ninguno ha arrojado resultados concluyentes (Song et al., 2020). La fibra dietética, particularmente la insoluble, reduce la exposición del epitelio colorrectal a carcinógenos en la luz al disminuir el tiempo de tránsito y aumentar el volumen de las heces. La fibra soluble que llega al colon sin digerir es fermentada por la microbiota anaeróbica en ácidos grasos de cadena corta, principalmente acetato, propionato y butirato (Keum & Giovannucci, 2019). Una intervención dietética consistente en una mayor ingesta de fibra aumentó la fermentación sacarolítica y la butiragénesis y suprime la síntesis de ácidos biliares secundarios, lo que resultó en la reducción del riesgo de presentar biomarcadores de cáncer del colón (Sánchez-Alcoholado et al., 2020). A pesar de la asociación que vincula la ingesta de fibra y el riesgo de CCR, los estudios han mostrado resultados divergentes según las fuentes de fibra. 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 lo fueron. En los pacientes diagnosticados con CCR en estadios I a III, la reducción de la mortalidad por CCR se limitó a la fibra de cereales. Sin embargo, en un estudio con suplementos de fibra de trigo no se obtuvo beneficios contra la recurrencia del adenoma colorrectal. Con toda esta incertidumbre el informe de WCRF-AICR pasó del papel protector de la fibra de convincente en 2011 a considerarse como probable en 2017 (N. Keum & Giovannucci, 2019).

Los polifenoles dietéticos que incluyen flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas y ligninas presentes en el té, vino, frutas, nueces y verduras han sido estudiados debido a los efectos protectores en modelos de ratón y estudios de epidemiología humana. Así por ejemplo el ácido elálgico es un polifenol presente en ciertas bayas y frutos secos con propiedades preventivas del cáncer por su efecto antioxidante, las urolitinas mediante la regulación negativa de la COX-2 reducen la producción de prostaglandinas y por tanto la inflamación, por lo que sus efectos anticancerígenos involucran múltiples vías (Bultman, 2017).

La carne roja y la carne procesada se consideran asociadas al desarrollo de CCR con distinto nivel de evidencia. La IARC publicó en 2015 un resumen de los hallazgos sobre esta asociación donde se concluyó que existe una evidencia por la cual la carne roja se considera de Grupo 2 A “probablemente carcinógeno para los humanos”, la carne procesada tiene una asociación más fuerte considerándose de riesgo elevado convincente (Kruger & Zhou, 2018). En el metaanálisis de estudios prospectivos realizado por el Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer (WCRF) y el Instituto Americano de Investigación sobre el Cáncer (AICR), el denominado informe WCRF-AICR, se muestran las asociaciones entre los factores protectores y factores de riesgo en el cáncer colorrectal (Keum & Giovannucci, 2019). Según ese informe, cada aumento de 100g por día en la ingesta de carne roja y procesada se asoció con un aumento del 12% de riesgo de CCR. La influencia de la carne roja y la carne procesada pueden ocurrir a través del hierro hemo, de compuesto nitrogenados exógenos de la carne procesada, de los ácidos grasos ionizados, los ácidos biliares secundarios atribuibles a la grasa de las carnes y las aminas heterocíclicas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Keum & Giovannucci, 2019).

Varias formas de vitamina B, como folato, riboflavina, piridoxina y cobalamina resultan esenciales para la metilación, síntesis, estabilidad y reparación del ADN y por 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 en el desarrollo de CCR y tanto los ensayos clínicos aleatorizados como los estudios de cohortes han demostrado los efectos beneficiosos del folato en la prevención primaria del CCR (Grazioso et al., 2019).

En ensayos clínicos que incluyeron pacientes con CCR confirmado histológicamente y controles con afecciones agudas no neoplásicas mostraron que las vitaminas A, C y E por sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios se correlaciona de forma inversa con el riesgo de CCR (Grazioso et al., 2019).

El papel del calcio en el desarrollo del CCR es controvertido y aún se necesitan más estudios para dilucidar completamente el papel del calcio. Los estudios realizados en modelos animales apoyan el papel del Ca en la supresión de tumores, pero los ensayos clínicos no apoyan plenamente su función beneficiosa. La revisión Bolland et al. describe una reducción no significativa del 17% en el riesgo de CCR, en mujeres tratadas durante 7 años con 1 g de Ca+2 (Bolland et al., 2011, Grazioso et al., 2019). Otro nutriente relacionado con el calcio es la vitamina D y se ha demostrado que un alto nivel de vitamina D antes del diagnóstico de CCR está asociado con una mayor supervivencia de los pacientes con CCR (Murphy et al., 2019).

Ensayos observacionales y de intervención sugieren que la aspirina y otros AINES (medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) protegen contra el desarrollo de adenomas de colon y cáncer. El uso regular de aspirina y otros AINES se asocia con una reducción del 20 al 40 por ciento en el riesgo de adenomas colónicos y CCR en personas con riesgo promedio (Macrae, s. f.). En el Women's Health Study, el uso en días alternos de dosis bajas de aspirina (100mg) no tuvo ningún efecto sobre la incidencia de CCR durante 10 años de intervención activa, pero redujo el riesgo después de 8 años adicionales de seguimiento observacional postprueba. Se sugirió una latencia de 10 años en un estudio observacional posprueba; el efecto retardado implica que la aspirina podría actuar en las primeras etapas de la carcinogénesis colorrectal. La dosis y la duración óptimas del uso de aspirina para la prevención del CCR siguen sin ser concluyentes (Keum & Giovannucci, 2019).

El etanol presente en las bebidas alcohólicas es un factor de riesgo para el CCR porque su primer metabolito, el acetaldehído es considerado como cancerígeno para los seres humanos por la Agencia internacional de investigación. Incluso el consumo ligero se asoció con un riesgo de CCR leve pero significativamente mayor en comparación con el consumo ocasional o nulo de alcohol (Keum & Giovannucci, 2019).

El humo del cigarro contiene una mezcla de compuestos que pueden llegar a la mucosa colorrectal a través del sistema circulatorio o por ingestión directa e inducir alteraciones genéticas y epigenéticas. En metaanálisis de estudios observacionales se mostró que el riesgo de CCR aumenta con los paquetes-año y disminuyen con la edad de inicio del hábito tabáquico (Keum & Giovannucci, 2019).

El exceso de grasa corporal es un factor de riesgo establecido para el CCR. Las dos medidas más utilizadas son el IMC y la circunferencia de la cintura (CC) (N. Keum & Giovannucci, 2019). Una revisión sistemática y un metaanálisis de datos de 13 estudios obtuvieron como resultado que un aumento de peso entre la edad adulta temprana y la mediana de edad se asoció a un aumento significativo en el riesgo de CCR. El riesgo fue más alto para quienes aumentaban más de peso. La obesidad también parece aumentar la probabilidad de morir de CCR. El exceso de riesgo asociado a la obesidad se reduce después de la cirugía bariátrica y al menos un informe sugiere que las tasas de CCR se aproximan a las de la población general dentro de los cinco o seis años tras la cirugía (Macrae, s. f.).

Datos observacionales y varias revisiones sistemáticas han concluido que la actividad física regular está asociada con la protección contra el CCR. En un metaanálisis de 21 estudios, hubo una reducción significativa del 27 en el riesgo de cáncer de colon proximal al comparar a los individuos más activos con los menos activos y una reducción de 26 % para el cáncer de colon distal. Se desconoce el mecanismo subyacente a la aparente asociación protectora de la actividad física (Macrae, s. f.). Se ha sugerido que los efectos beneficiosos sobre la motilidad intestinal, el sistema inmunológico, la inflamación y las hormonas metabólicas son algunos de los factores que intervienen en esta asociación. No existe una respuesta definitiva para la cantidad e intensidad de actividad física para la prevención del CCR. La Sociedad Estadounidense de Cáncer

recomienda que los adultos realicen al menos 150 minutos de actividad moderada (de 3 a 5,9 equivalentes metabólicos de tarea (MET), 75 minutos de actividad de intensidad vigorosa (> 6 MET) o una combinación de las dos a lo largo de la semana (N. Keum & Giovannucci, 2019).

La diabetes mellitus se asocia con un riesgo elevado de CCR. Un metaanálisis de 14 estudios concluyó que el riesgo de cáncer de colon entre los diabéticos era aproximadamente un 38% más alto que en de los no diabéticos y para el cáncer de recto fue un 20 % más alto. Una posible explicación es la hiperinsulinemia, porque la insulina es un factor de crecimiento importante para las células de la mucosa del colon y estimula las células tumorales del colon (Macrae, s. f.).

MICROBIOTA INTESTINAL ASOCIADA AL CÁNCER COLORRECTAL

Los cambios en la microbiota intestinal en pacientes con CCR sugieren un posible papel de interacción huésped-microbiota en su origen y desarrollo y al mismo tiempo impulsan nuevas formas de prevenir, diagnosticar o tratar esta enfermedad (Saus et al., 2019).

La evidencia actual indica que la ruptura de la barrera protectora de la mucosa intestinal tiene un papel en el desarrollo del CCR. La inflamación y el estrés oxidativo en el epitelio colónico están involucrados en la carcinogénesis colorrectal y la ruptura de la integridad de la barrera colónica puede aumentar la exposición de los colonocitos a las toxinas dando lugar a procesos inflamatorios y a la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS). También se reconoce cada vez más la importancia etiológica del microbioma intestinal y su composición influenciada por diversos factores destacando el consumo de carnes procesadas, carnes rojas, bebidas alcohólicas y tabaquismos; la invasión microbiana hacia el epitelio colónico puede promover la inflamación y el estrés oxidativo e incluso la translocación de especies a través de la luz del colón (Genua et al., 2021).

A pesar de las variaciones en la microbiota intestinal, varias especies bacterianas individuales se han asociado con CCR. Se ha visto que *Streptococcus bovis* es un factor de riesgo que representa un signo temprano de CCR. *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (*ETBF*) a través de la producción de toxinas puede producir diarrea y enfermedad inflamatoria intestinal y se detecta en el 90% de los pacientes con CCR. *Fusobacterium nucleatum* se ha visto aumentado en adenomas y carcinomas colorrectales e indica peor pronóstico al contribuir a la progresión de adenoma a cáncer. Algunos estudios indican que la infección por *Enterococcus faecalis* es mayor en los pacientes con CCR que en los controles sanos, esta correlación se produce por la producción de superóxido que daña el ADN. *E. coli* y *Peptostreptococcus anaerobius* también están presentes a niveles más altos en pacientes con CCR (Cheng et al., 2020).

Los hongos también tienen un papel clave en el mantenimiento del equilibrio en el microbioma. Estudios que analizan la composición principal han mostrado diferentes componentes fúngicos en los controles sanos, los pacientes con CCR en etapa temprana y CCR en etapa tardía (Saus et al., 2019). La relación *Basidiomycota: Ascomycota* es mayor en los pacientes con CCR en comparación con los sujetos sanos. La clase

Malasseziomycetes también está más presente en pacientes con CCR mientras que las clases *Saccharomycetes* y *Pneumocystidomycestes* están disminuidas en estos pacientes. Sin embargo, todavía hay información muy limitada sobre la participación de la comunidad fúngica en los procesos carcinogénicos, particularmente en el CCR (Cheng et al., 2020).

Aunque existe un interés significativo en identificar microbios específicos, no se ha encontrado que una sola especie esté presente universalmente en todos los individuos con CCR y existe una variación significativa en la composición microbiana entre los individuos. Esto sugiere que diferentes combinaciones de microorganismos pueden actuar sinérgicamente (Saus et al., 2019).

Se han propuesto diferentes hipótesis para explicar el papel del desequilibrio microbiano en la carcinogénesis. Algunos autores proponen que ciertos tipos de microbiota intestinal disbiótica originan un desequilibrio funcional que desencadena respuestas proinflamatorias sostenidas y transformación de células epiteliales, lo que conduce a cáncer (Saus et al., 2019).

Una hipótesis es la teoría “driver-passenger” (Figura 8). Según este modelo, algunas bacterias “driver” desencadenan el daño del ADN en las células epiteliales, lo que a su vez contribuye a la iniciación del cáncer. En un segundo paso, la tumorigénesis en curso altera el microambiente circundante, favoreciendo la proliferación de bacterias oportunistas, denominadas bacterias “Passenger” (Saus et al., 2019).

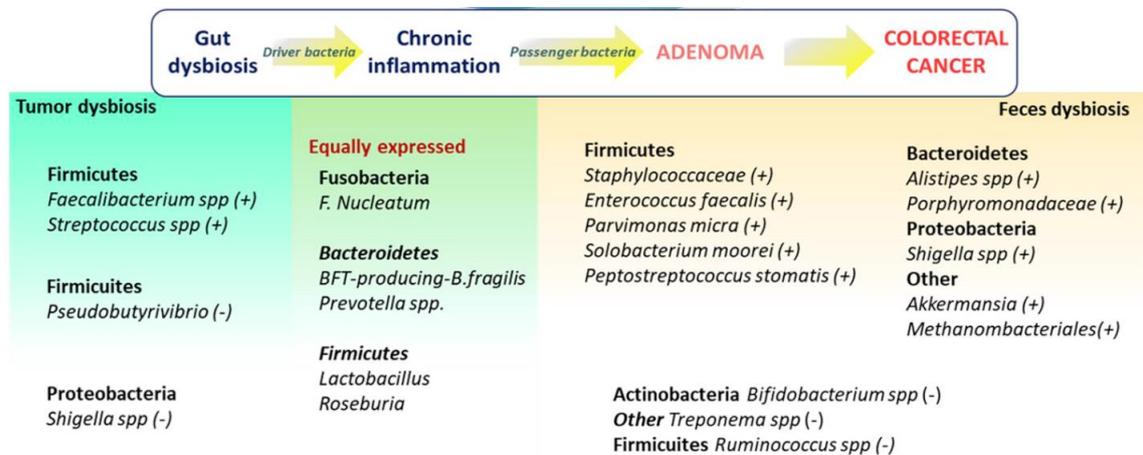


Figura 8. Disbiosis del microbioma en CCR. La disbiosis favorece la colonización por bacterias “driver” que inducen inflamación crónica del epitelio. Esta inflamación cambia el microambiente y permite la colonización por bacterias “Passenger” (Saus et al., 2019).

Según esta hipótesis, bacterias autóctonas que colonizan el intestino grueso pueden producir genotoxinas como la toxina de *B. fragilis* (BFT), la colibactina y la toxina de distensión citoletal (CDT). Las alteraciones en el microambiente tumoral causadas 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 (*passenger*), como *Fusobacterium spp.* o *Streptococcus spp* que podrían colonizar 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).

Otra hipótesis es la del α -bug ó “microbios alfa”. Según esta hipótesis *Bacteroides fragilis enterotoxigénico* induce rápidamente la activación de transductores de señal y activación de la transcripción-3 (STAT3) con respuesta T helper 17 que podrían promover el cáncer en cooperación con el epitelio colónico modificado (Saus et al., 2019). Sin embargo, no solo inducen tumores, sino que también remodelan la comunidad bacteriana provocando un desplazamiento selectivo de las bacterias intestinales que se consideran como protectoras ante el CCR. Además de ETBF otras posibles candidatas de bacterias alfas son: *S.bovis*, *E. coli* y *E. faecalis* productor de superóxido (Cheng et al., 2020).

Aunque el aspecto bacteriano del modelo “driver-passenger” está relacionado con la hipótesis del α -bug, difiere de este modelo. La hipótesis “driver-passenger” destaca que, aunque las bacterias conductoras inician el CCR, estas bacterias al final son reemplazadas por bacterias pasajeras, mientras que la hipótesis del α -bug postula que las bacterias conductoras colonizan persistentemente los tumores en desarrollo. Por lo tanto, estos autores sugieren que las bacterias conductoras y pasajeras tienen asociaciones temporales distintas con el tejido del CCR (Cheng et al., 2020).

Varios mecanismos, incluidos la inflamación, las bacterias patógenas, las genotoxinas, el estrés oxidativo y los metabolitos están estrechamente relacionados con la microbiota intestinal implicada en la carcinogénesis del CCR (Figura 9). La microbiota intestinal interactúa estrechamente con el sistema inmunológico del huésped. La estimulación bacteriana en la respuesta inmunitaria puede causar una inflamación continua de bajo grado, que resulta en tumorogénesis. Por el contrario, la inflamación no puede inducir el CCR sin la microbiota o los compuestos derivados de bacterias (Cheng et al., 2020).

La microbiota presenta una composición diferente a lo largo del eje proximal-distal. Existen hallazgos controvertidos en las tasas de supervivencia de los pacientes con CCR en lo que respecta a la ubicación del tumor. Varios estudios han mostrado un peor pronóstico de los tumores localizados en el lado derecho (ciego a colon ascendente y transversal), mientras que otros un peor pronóstico de los tumores localizados en el lado izquierdo (ángulo esplénico y colon descendente a unión rectosigmoidea). La inestabilidad de microsátélites, la metilación CpG y las mutaciones en BRAF disminuyen desde el colon ascendente hasta el recto. Por todo ello, es importante considerar los microbiomas del lado derecho e izquierdo por separado para evaluar las diferentes características (Ternes et al., 2020).

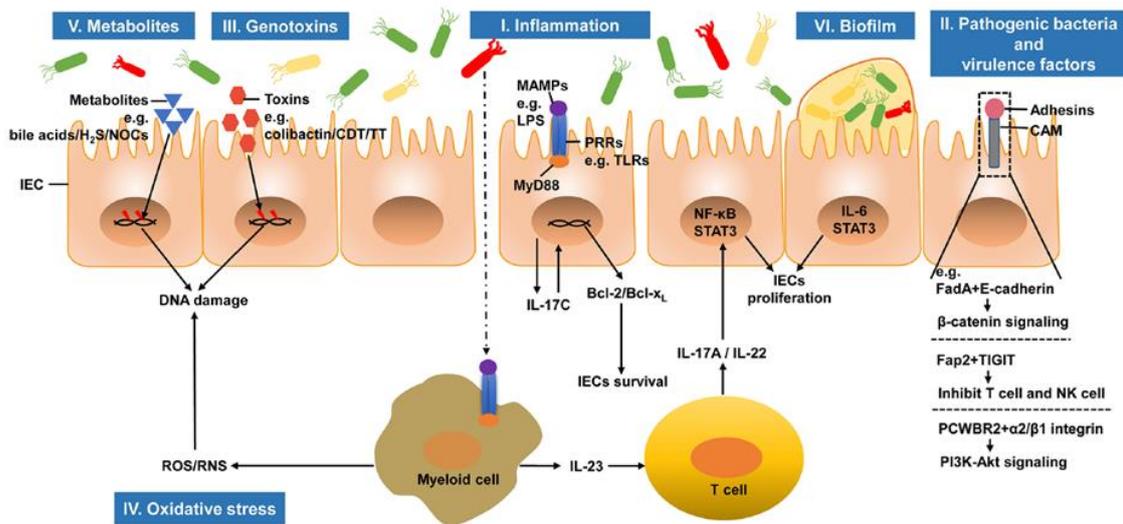


Figura 9. Mecanismos asociados a la microbiota en la carcinogénesis colorrectal. I) La inflamación de bacterias comensales o sus productos activa las células mieloides asociadas a tumores e induce la inflamación promotora de tumores. II) Las bacterias patógenas y sus factores de virulencia se adhieren a las células epiteliales intersticiales (IEC) y promueven la tumorigénesis. III) Las genotoxinas producidas por bacterias inducen daños en el ADN en los IEC e inician el desarrollo del CCR. IV) Bajo la estimulación de la inflamación crónica, las células inflamatorias pueden producir especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), que a su vez inducen daño al ADN. V) Varios metabolitos bacterianos, incluidos los ácidos biliares secundarios, SH₂ y NOCs (nitrosaminas, nitrosamidas) pueden causar daño al ADN que promueve la carcinogénesis del CCR. VI) Biofilms promueven la carcinogénesis a través de IL-6 y su efector STAT-3 (Cheng et al., 2020).

Las distribuciones espaciales bacterianas no siempre muestran interacciones directas con el tumor. Por ejemplo, *B. fragilis* es abundante en el colon proximal, sin embargo, la expresión de IL-17 dependiente de la activación de NF-κB induce un gradiente mucoso de quimiocinas de proximal a distal mediando así la infiltración de células inmunitarias junto con la tumorigénesis del colon distal (Ternes et al., 2020).

PAPEL DEL BIOFILM EN LA INICIACIÓN DEL CCR

Los biofilms son comunidades de microorganismos situadas en una matriz formada en superficies bióticas y abióticas. Inicialmente pequeños agregados de células bacterianas denominadas microcolonias se adhieren a las superficies. Las biopelículas maduras pueden desarrollarse cuando estas microcolonias adherentes se encapsulan en una matriz de polisacáridos (Chew et al., 2020).

Los biofilms están involucrados en infecciones crónicas que no son fáciles de eliminar y parecen ser un agente etiológico significativo en enfermedades infecciosas, particularmente fibrosis quística y endocarditis. Actualmente se han relacionado con la iniciación y el desarrollo del CCR (Mirzaei et al., 2020).

La mayoría de los tumores CCR del lado derecho (89%) tienen biofilms en su superficie epitelial en comparación con sólo el 12% de los tumores del lado izquierdo. Además, algunas personas sanas también tienen biofilms en las mucosas, lo que abre la

posibilidad de que la formación de biofilms sea un fenómeno específico de la persona. Bacterias potencialmente relacionadas con el CCR, incluidas las *ETBF* y *E. coli* productor de colibactina se encontraron en todos los biofilms, lo que sugiere que la presencia de biofilms contribuye a un estado pro-oncogénico (Tilg et al., 2018).

Por otro lado, también se han detectado biofilms en pacientes con poliposis adenomatosa familiar que han heredado una mutación en el APC y son propensos al CCR debido al desarrollo de pólipos y a la formación de adenomas como la etapa temprana de la secuencia adenoma-carcinoma. Por tanto, los biofilms puede considerarse como el impulsor de la secuencia en una etapa temprana de la progresión del CCR (Chew et al., 2020).

Los biofilms podría estar relacionadas con ciertos fenotipos metabolómicos, ya que los cánceres con biofilms se asocian con una regulación positiva de metabolitos de poliaminas como N1- o N12-diacetilspermina, que se redujo a niveles normales después de la terapia con antibióticos (Tilg et al., 2018).

Se han propuesto numerosos mecanismos para ilustrar el papel de los biofilms en la carcinogénesis del CCR. Tanto en personas sanas como en pacientes con CCR, los biofilms pueden experimentar cambios biológicos pro-oncogénicos: aumento de la proliferación del epitelio del colon, de IL-6, activación de STAT3, aumento de las síntesis de poliamina y reducción de E-cadherina (Figura 10).

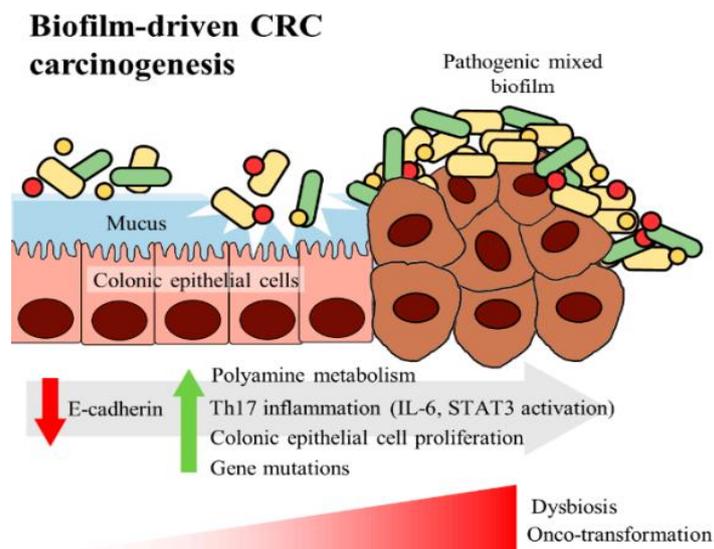


Figura 10. Carcinogénesis de CCR impulsado por biofilms. El biofilm da como resultado la pérdida de E-cadherina de las células epiteliales del colon (compatible con la función de barrera intestinal alterada), aumento de la expresión de IL-6 y activación de STAT3 contribuyendo a un estado pro-oncogénico y proinflamatorio que junto con el aumento del metabolismo de las poliaminas en los tejidos del colon resulta en disbiosis y onco-transformación y conduce a la progresión del tumor (Chew et al., 2020).

Se sugiere que los niveles aumentados de metabolitos de poliaminas actúan sinérgicamente para promover la formación de biofilms y la proliferación celular,

creando condiciones óptimas para la transformación oncogénica en las células del colon (Figura 11).

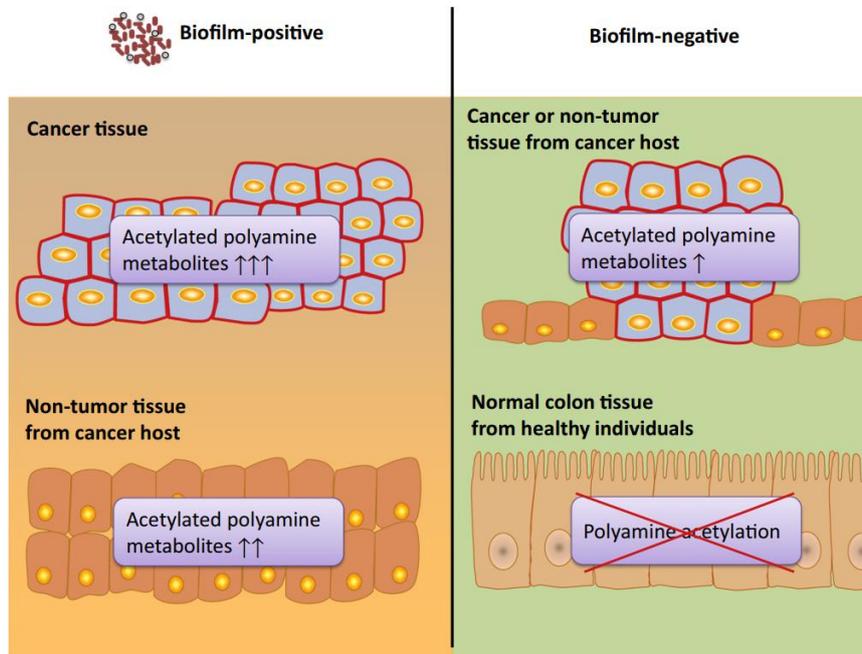


Figura 11. Papel de los metabolitos de poliamina acetilada en el cáncer colorrectal. Los niveles elevados de poliaminas acetiladas en tejidos de pacientes con cáncer de colon, especialmente en aquellos con biofilms, sugieren una correlación positiva entre la patogénesis del CCR y la participación de biofilms. No se han detectado metabolitos de poliaminas acetiladas en tejido colónico normal sin biofilms, lo que sugiere un papel importante de los biofilms en el catabolismo de poliaminas (Li et al., 2017).

Otro aspecto importante relacionado con la formación del biofilm es el papel del hierro. Algunas proteobacterias necesitan producir o incorporar metabolitos (incluidos los mediados por el metabolismo de pirimidina y purina asociado al hierro) de su entorno para colonizar el intestino o crecer en el torrente sanguíneo. Se ha visto que los genes bacterianos que codifican la adquisición de hierro se sobreproducen en *E.coli* adherente invasivo (ECAI). Además, la formación de celulosa por ECAI depende del hierro. Por otro lado, se sabe que patógenos como algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* muestran una mayor capacidad de absorción de hierro. Los estudios actuales han indicado que la absorción de hierro es un proceso crítico para conferir virulencia a los patógenos dispersos en biofilms en pacientes con EII (Mirzaei et al., 2020).

El papel de la microbiota tumoral humana en los biofilms se ha reforzado a través de experimentos como el de reasociación que muestra el desarrollo de tumores de colon en una nueva cohorte de ratones tras la inoculación de tejidos de colon homogeneizados proximales o distales procedentes de ratones biofilms positivos, indicando que la microbiota intestinal biofilm positiva mantiene su capacidad tumorigénica (Chew et al., 2020).

Además, la microbiota oral en el CCR es distinta en función de las bacterias formadoras de biofilms orales, lo que puede ser usado como una prueba para el CCR en el futuro (Tilg et al., 2018). La hipótesis para ilustrar la participación de la microbiota oral en el desarrollo del CCR es a través de una translocación de las bacterias periodontopáticas orales al colon y recto, contribuyendo a la disbiosis intestinal (Chew et al., 2020).

Dado que los biofilms desempeñan un papel tan importante en la carcinogénesis de colon, los enfoques preventivos dirigidos a la detección y erradicación de biofilms podrían ser beneficiosos para personas con riesgo de CCR. Los biofilms producen una mayor resistencia de las bacterias a los antibióticos y agentes microbianos. Hasta ahora no existe ningún antibiótico que haya demostrado su eficacia en el tratamiento de infecciones relacionadas con biofilms debido a sus valores más altos de concentración mínima inhibitoria. Algunos estudios con antibióticos como la colistina y el imipenem, han demostrado que son incapaces de eliminar el biofilm por completo y solamente lo reducen. Estudios recientes también han demostrado que el uso de antibióticos de amplio espectro no ha dado resultados clínicos favorables en pacientes con varios tipos de cáncer, incluidos el CCR (Chew et al., 2020).

MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON EL CCR

Fusobacterium nucleatum

Fusobacterium nucleatum, es una bacteria Gram negativa anaerobia cuya secuenciación del ARN 16S y del genoma completo ha mostrado estar aumentada en la mucosa asociada al CCR y en la mucosa de pacientes con adenoma en comparación con individuos sanos. También se ha visualizado su aumento en los tumores usando fluorescencia (Raskov et al., 2017). En condiciones normales *F. nucleatum* es un comensal de la cavidad oral y no forma parte de la microbiota intestinal, pero en condiciones patológicas (desde una inflamación a un tumor) puede formar parte de la microbiota intestinal.

Un estudio no sólo reveló una mayor presencia de *F. nucleatum* en displasia de alto grado y CCR, sino que también encontró una correlación con la supervivencia. El aumento de *F. nucleatum* en tejidos cancerosos se relaciona con una menor supervivencia y por lo tanto puede actuar como posible marcador pronóstico (Tilg et al., 2018). También se relaciona con un mayor aumento de la progresión de la enfermedad en la secuencia adenoma-cáncer (Koliarakis et al. 2019).

La implicación de *F. nucleatum* en la tumorigénesis se ve principalmente en el proceso de la adhesión bacteriana. Así *F. nucleatum* puede promover directamente la carcinogénesis cuando FadA, la adhesina de anclaje secretada se une al dominio extracelular de la E-cadherina en las células epiteliales que hace que el complejo adhesivo sea disfuncional. El resultado son aberturas entre las células que pueden provocar el paso de patógenos a los tejidos submucosos. La parte intercelular que funciona mal de los complejos de adhesión no puede unirse a la beta-catenina citoplasmática libre que se transloca al núcleo celular. Aquí la beta-catenina regula la señalización mitogénica a través de la vía Wnt, lo que conduce a una mayor expresión de factores de transcripción, genes *wnt*,

genes inflamatorios y estimulación del crecimiento celular. La FadA puede comprometer la reparación del ADN ya que una elevada colonización de *F. nucleatum* se ha asociado con inestabilidad de microsatélites. Los niveles de FadA en el colon de pacientes con adenomas y adenocarcinomas son entre 10 y 100 veces más altos en comparación con sanos (Raskov et al., 2017).

También se ha demostrado que los CCR con *F. nucleatum* presentan una mayor estimulación de TLR4 que mejora la expresión de micro ARN-21 aumentando la proliferación tumoral. La regulación al alza de varias citocinas inflamatorias con potencial tumorigénico, como IL-6, IL-8, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y ciclooxigenasa-2 (Cox-2) se ha detectado en muchos estudios utilizando cultivos in vitro o técnica de inmunoensayo en muestras de tejido de CCR (Koliarakis et al., 2019).

Los tumores usan otra adhesina del *F. nucleatum*, la Fap2, 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 (Ternes et al., 2020).

Además, *F. nucleatum* promueve la quimiorresistencia en el CCR al dirigirse a los receptores inmunes innatos TLR4 y MYD88, así como a los miARN específicos responsables de la activación de la autofagia (proceso de reciclado celular que afecta a la supervivencia celular). Así, los pacientes que presentan niveles elevados de *F. nucleatum* son más susceptibles al fracaso de la quimioterapia y la recaída de la enfermedad (Ternes et al., 2020).

F. nucleatum claramente influye en la progresión, metástasis y quimiorresistencia del CCR, sin embargo, su papel en la iniciación del CCR todavía no está totalmente claro y se necesita más investigación (Wang et al., 2021). Las diferentes rutas moleculares de tumorigénesis relacionadas con *F. nucleatum* se observan en la Figura 12:

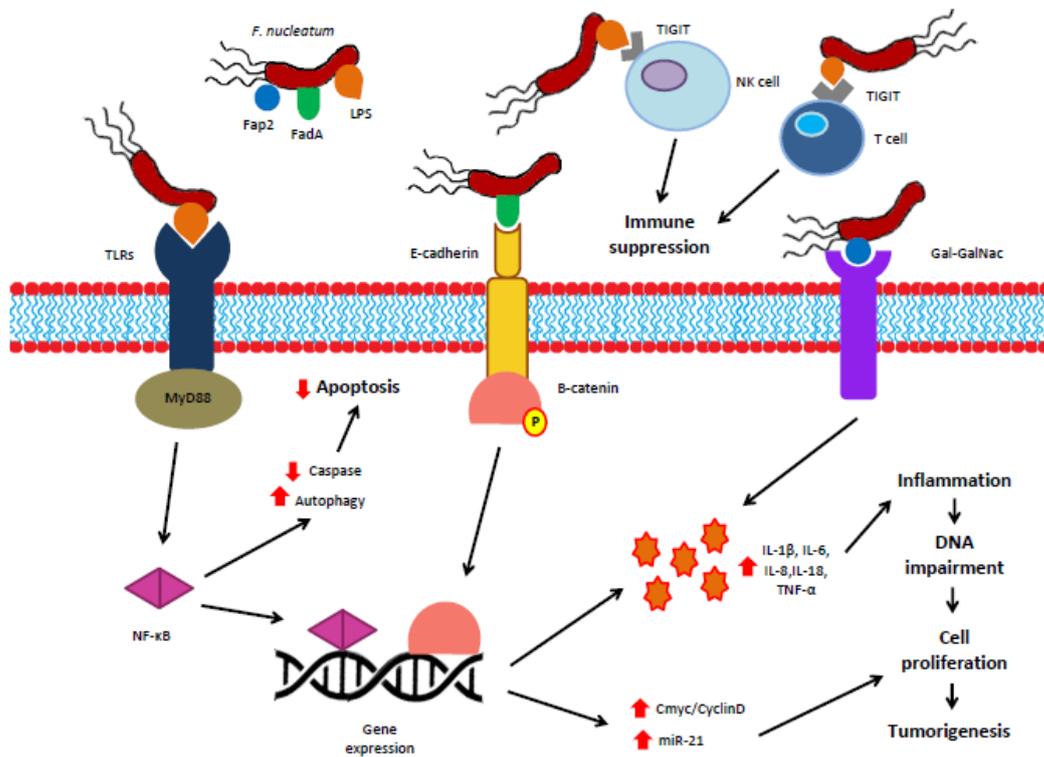


Figura 12. Vías moleculares de *F. nucleatum* en la tumorigénesis del CCR. *F. nucleatum* interviene en sus propiedades oncogénicas a través de tres componentes principales: las moléculas Fap2 y FadA junto con el LPS. Los LPS pueden interactuar con los TLR activando la vía MyD88 y NF-κB. Esta interacción conduce a una actividad disminuida de caspasa y a un aumento de la autofagia, lo que resulta en una apoptosis reducida. Además, FadA se une a E-cadherina, provocando desfosforilación y activación de β-catenina. NF-κB y β-catenina alteran la expresión génica, aumentando la síntesis de citocinas proinflamatorias (IL-1β, IL-6, IL-8, IL-18, TNF-α) y regulando positivamente las vías oncogénicas de Cmyc / CyclinD y miR-21. El estado proinflamatorio se ve reforzado por la unión de Fap2 a Gal-GalNac. Además, la interacción de LPS con el receptor TIGIT de células NK y T conduce a la supresión de la inmunidad antitumoral. Finalmente, estos eventos crean inflamación que altera el ADN, promueve la proliferación celular y da como resultado la tumorigénesis del CCR (Koliarakis et al., 2019).

***Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF)**

Bacteroides fragilis (BF) es un comensal anaeróbico común en la mayoría de los seres humanos que representa aproximadamente un 1% de la microbiota. Un subgrupo de BF es el ETBF. ETBF tiene solo un factor de virulencia reconocido, la toxina BFT. La toxina es una metaloproteasa dependiente del zinc que altera rápidamente la estructura y la función de las células epiteliales del colon incluida la escisión de la E-cadherina y genes supresores de tumores (Raskov et al., 2017). E-cadherina es una molécula de adhesión celular dependiente de calcio con funciones fundamentales en el comportamiento de las células epiteliales, la formación de tejidos y la supresión del cáncer. La pérdida de esta proteína aumenta la permeabilidad de las células epiteliales polarizadas en el colon, siendo este uno de los primeros pasos del desarrollo tumoral. BFT también activa el factor de transcripción NF-κB, dando como resultado la liberación de citocinas que

contribuyen a la inflamación de la mucosa favoreciendo así la aparición del CCR (Nistal et al., 2015).

ETBF también produce un aumento en la regulación de la espermina oxidasa que genera especies reactivas de oxígeno y produce daño en el AND que propaga la inflamación y la tumorigénesis (Tilg et al., 2018).

Sin embargo, aunque BFT se considera una de las principales toxinas en el desarrollo del CCR, estudios recientes han demostrado que las toxinas que se transcriben más activamente en los tejidos tumorales de los pacientes con CCR derivan de *E. coli*, *Salmonella entérica* y *Shigella flexneri*. Esto sugiere la fuerte participación de las toxinas enterobacterianas en la tumorigénesis (Nistal et al., 2015).

***E.coli* con la isla genómica de la poliquétido sintetasa**

E. coli es una bacteria comensal anaerobia facultativa de la microbiota humana no muy abundante en el colon pero que representa la bacteria Gram- cultivable más común en el intestino. A pesar de esto, varios estudios han demostrado un vínculo claro entre *E. coli* y CCR. *E. coli* perteneciente a los grupos filogenéticos B2 y D comprenden la mayoría de las cepas patógenas que expresan factores de virulencia y algunas de estas especies están involucradas en enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, que son factores de riesgo conocidos para CCR (Gagnière, 2016).

La cepa B2 alberga una isla genómica denominada “pks” para la producción de la genotoxina colibactina (péptido policétido). La colibactina es capaz de penetrar en la membrana celular de los colonocitos y translocar al núcleo celular y funcionar como una ADNasa que causa roturas del ADN de doble hebra, detención del ciclo celular y reparación incompleta del ADN, todo lo cual producirá aberraciones cromosómicas (Fig. 13). Los micronúcleos, la aneuploidía, los cromosomas en anillo y los puentes de anafase persisten en las células en división hasta 21 días después de la infección, lo que indica la aparición de roturas del ADN e inestabilidad cromosómica. Las células infectadas mostraron una frecuencia de mutación significativa que demuestra el potencial mutagénico y transformador de *E.coli* tipo B2 (Raskov et al., 2017, Garrett, 2019).

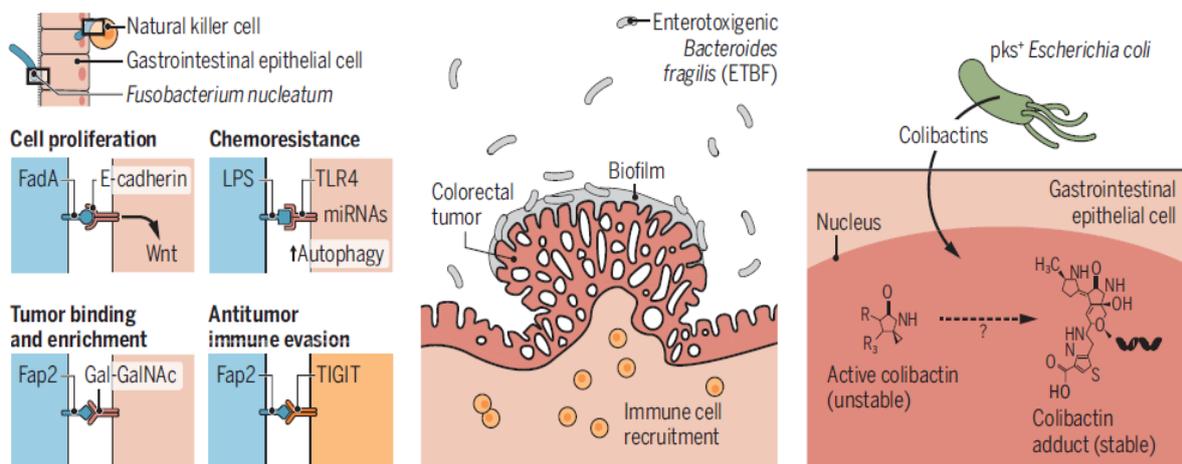


Figura 13. Mecanismos implicados en la fisiopatología del CCR. Tres posibles mecanismos por los que las bacterias pueden influir en el cáncer CCR. *F. nucleatum* expresa adhesinas y LPS que afectan al comportamiento celular. ETBF recubre tumores y atrae otras bacterias para formar un biofilm. Además, atrae células inmunes provocando inflamación. *E. coli* (*pks*⁺) genera aductos de DNA potencialmente mutagénicos implicados en la carcinogénesis, (Adaptado de Garrett, 2019).

A día de hoy, no está claro si estas 3 especies son capaces de interactuar en la fisiopatología del CCR y en caso de que lo hagan, si es de forma secuencial o lo hacen a la vez. Lo que sí está claro es que no son las únicas especies relevantes en el CCR. De ahí que sean 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 o cuales se van del tumor para configurar así el microambiente del tumor (Garrett, 2019).

Además, todavía queda por resolver si la fisiopatología observada en el CCR está relacionada con metabolitos producidos por la comunidad oncogénica, o bien es debida a la actividad de ciertas cepas con características genotóxicas (Janney et al., 2020).

IMPACTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA EFICIENCIA Y TOXICIDAD DE LAS TERAPIAS CONTRA EL CCR

Aparte de sus funciones en la carcinogénesis y la progresión tumoral, cada vez hay más pruebas de que la microbiota intestinal interviene en la eficacia y la toxicidad de la quimioterapia y de la inmunoterapia. Esto permite que la microbiota intestinal se utilice como biomarcador para predecir la respuesta al tratamiento o las reacciones adversas y al mismo tiempo, permite una modulación para mejorar el tratamiento del cáncer y el resultado del paciente (Wong & Yu, 2019).

Quimioterapia

La evidencia actual sugiere que la microbiota intestinal puede mediar los efectos anticancerígenos de algunos agentes quimioterapéuticos como el 5-fluorouracilo, la ciclofosfamida, la gemcitabina y el oxaliplatino a través de varios mecanismos, como la translocación microbiana, la inmunomodulación, el metabolismo y la degradación enzimática (Wong & Yu, 2019).

El caso de toxicidad más grave se notificó en Japón después de la terapia con 5-fluorouracilo y zidovudina. *Bacteroides* debido a su alta capacidad de convertir zidovudina a un intermedio (BVU) que inhibe la degradación de 5-fluorouracilo da como resultado su acumulación en la sangre y por tanto mayor toxicidad (Villéger et al., 2019).

Otras bacterias productoras de β -glucuronidasa como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Clostridium spp* se han asociado con la acumulación del metabolito activo de irinotecan en el intestino lo que provoca diarrea. A nivel farmacológico, el irinotecan es glucuronizado por las enzimas del hígado del huésped en un conjugado inactivo y al llegar al intestino a través de la excreción biliar, las enzimas glucuronidasas bacterianas del intestino hidrolizan el conjugado con la consiguiente acumulación del metabolito activo y la producción de daño intestinal y severa diarrea (Wong & Yu, 2019).

Efectos secundarios de la quimioterapia como la mucoistis intestinal inducida por doxorrubicina, 5-FLU o irinotecan se han correlacionado con disbiosis en la microbiota del intestino y la cavidad oral (Villéger et al., 2019).

Además de su papel en los efectos secundarios de la quimioterapia, la microbiota también influye en la eficacia de la quimioterapia de diversos tumores sólidos subcutáneos como melanoma, cáncer de pulmón, colon y sarcoma. Se han identificado dos mecanismos: modulaciones inmunes a distancia y translocaciones bacterianas en órganos linfoides (Villéger et al., 2019).

Entre los primeros estudios destacó la reducción de la respuesta tumoral al tratamiento con oxaliplatino como resultado de la terapia con antibióticos, debido al agotamiento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) derivadas de la microbiota y, por tanto, a la reducción de la apoptosis de las células tumorales (Koliarakis et al. 2019).

Se han observado resultados similares con la ciclofosfamida, un agente alquilante utilizado para el tratamiento de linfomas y tumores sólidos conocido por modular el microambiente inmunitario de tumores al reducir las células T reguladoras y aumentar las células Th1 y Th17. Se ha demostrado que la eficacia de la ciclofosfamida se correlaciona negativamente con la disbiosis inducida por el tratamiento con antibióticos (Villéger et al., 2019). Por otro lado, la introducción de probióticos restaura la composición fisiológica de la microbiota intestinal y estimula la respuesta inmune T helper 17 (Th17), mejorando así la eficacia del tratamiento con ciclofosfamida (Koliarakis et al. 2019).

La eficacia de la quimioterapia también puede ser modulada directamente por bacterias intratumorales a través de sus funciones metabólicas activas. Los estudios in vitro mostraron una disminución de la eficacia antitumoral de los análogos de nucleósidos de

pirimidina en células infectadas con *Mycoplasma hyorhinis*. De hecho, estos fármacos anticancerosos pueden ser degradados directamente en las células tumorales por la timidina fosforilasa del micoplasma (Villéger et al., 2019).

La microbiota intratumoral también puede afectar la eficacia de la quimioterapia a través de la modulación de la inmunidad innata TLR4/MyD88, que activaría la autofagia. De hecho, se ha demostrado que la quimiorresistencia al 5-FU o al oxaliplatino estaba mediada por la activación de la autofagia por *Fusobacterium nucleatum* en líneas celulares colorrectales, modelos de ratones con xenoinjerto y pacientes con cáncer de colon (Villéger et al., 2019).

Inmunoterapia

La inmunoterapia se ha convertido en un pilar fundamental en el tratamiento de muchos tipos de cáncer. En las estrategias basadas en la eficacia y la toxicidad de la inmunoterapia es evidente que hay una interacción entre la microbiota intestinal y el sistema inmune del huésped. Esto se puso de manifiesto con los inhibidores del punto de control inmunológico (ICI) los cuales eliminan las señales inhibitoras de la activación de las células T para permitir que las células T reactivas al tumor armen una respuesta antitumoral eficaz. En la inmunoterapia, la microbiota intestinal es necesaria para una respuesta inmunitaria eficaz y puede afectar tanto a la respuesta a los inhibidores de puntos de control inmunitarios dirigidos al ligando 1 de la muerte celular programada (PD-L1) y al antígeno 4 asociado a los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) (Wong & Yu, 2019).

Varios estudios han señalado la participación de algunas bacterias intestinales específicas, como *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis*, especies del género *Bifidobacterium*, *Akkermansia muciniphila* y *Alistipes shahii*, en respuesta a la inmunoterapia. Como consecuencia, el agotamiento de la microbiota por el uso de antibióticos reduce la eficacia y genera resistencia al tratamiento. Por ejemplo, se demostró que con el conjunto de antibióticos formados por ampicilina, colistina y estreptomina o imipenem se abolió el bloque del antígeno 4 asociado CTLA-4 y restableció la progresión tumoral en modelos de sarcoma, melanoma y CCR. El agotamiento de la microbiota mediada por antibióticos también puede exacerbar la toxicidad del tratamiento, lo que en entornos clínicos conduce a la interrupción o reducción de la dosis) (Fong et al., 2020).

De manera similar, en pacientes con exposición a antibióticos 30 días antes del inicio de la inmunoterapia, también tienen una mayor tendencia a experimentar resistencia primaria y en general una supervivencia más corta. Lo cual es consistente con los hallazgos de otro estudio de que el uso de antibióticos es un predictor de resistencia a la inmunoterapia basada en la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1) (Fong et al., 2020).

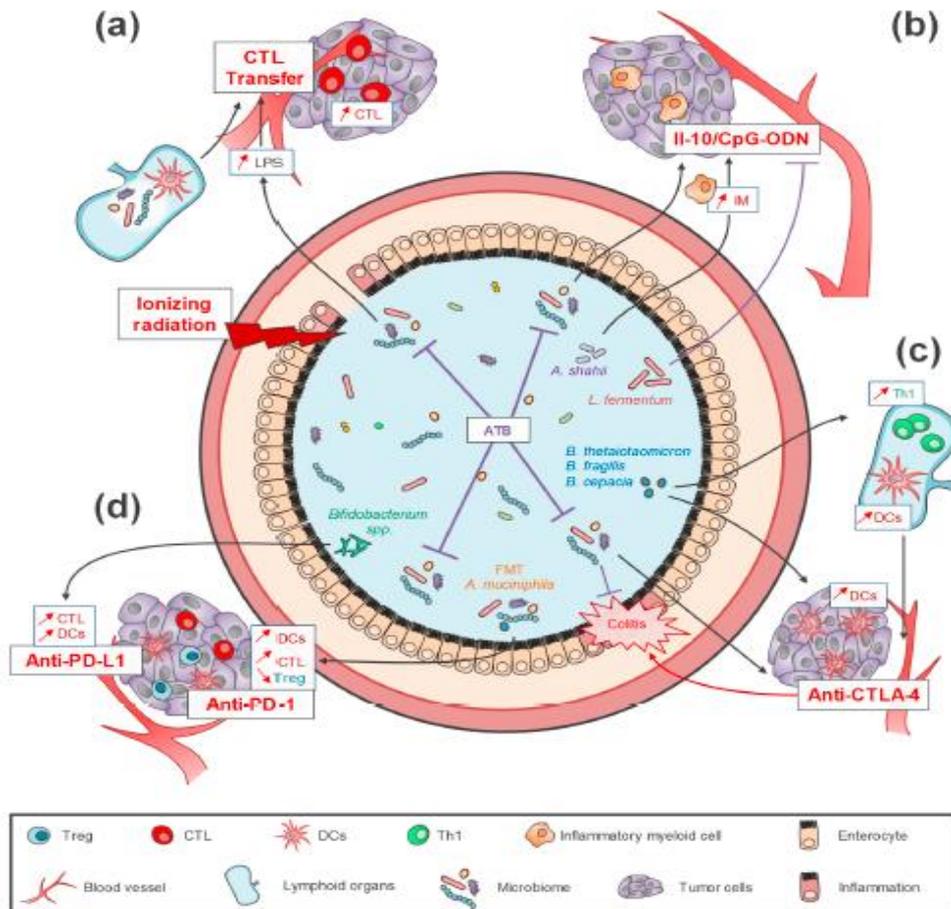


Figura 14. Impactos de la microbiota intestinal en la eficacia y toxicidad de las estrategias de inmunoterapia. (a) La eficacia de la transferencia adoptiva (transferencia de CTL) de células T CD8+ antitumorales (CTL) ha sido estimulada por la translocación de bacterias intestinales en el ganglio linfático mesentérico y un aumento de la concentración de LPS sistémico inducido por la irradiación corporal total en el modelo murino. Esta estimulación se ha asociado con un aumento del reclutamiento de CTL en un microambiente tumoral. (B) Una disminución en la carga bacteriana intestinal después de la terapia con antibióticos (ATB) afectaría la eficacia de la inmunoterapia con oligodesoxinucleótidos (ODN) anti-IL-10/CpG debido a la disminución de las células mieloides (IM) productoras de citoquinas proinflamatorias así como el papel negativo de *Lactobacillus fermentum*. *Alistipes shahii* podría aumentar la IM intratumoral y aumentar la eficacia de ODN. (C) *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis* y *Burkholderia cepacia* se asociaron con un aumento de células Th1 y células dendríticas (DC) en los órganos linfoides, lo que llevó a un aumento en la respuesta anti-CTLA-4. Esta respuesta de inmunoterapia mediada por microbiota también podría estar respaldada por el reclutamiento de CD maduras en el microambiente tumoral. Además, la presencia de estas bacterias específicas podría estar asociada con una disminución de los efectos secundarios anti-CTLA-4. (D) *Bifidobacterium spp.* se vinculó con una respuesta anti-PD-L1 efectiva debido a la elevación de CTL y DC intratumorales (Villéger et al., 2019).

Radioterapia

La radioterapia es un pilar fundamental en el tratamiento de muchos tumores incluyendo el CCR. La respuesta tumoral al tratamiento radioterápico está afectada por la microbiota intestinal. En los ensayos que se han realizado en ratones se ha visto como aquellos con alteraciones en la microbiota intestinal tienen menos respuesta a los ciclos de radioterapia (Villéger et al. 2019).

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA VITAMINA D Y SU IMPACTO EN LA MICROBIOTA INTESTINAL

La vitamina D es una vitamina liposoluble con importantes funciones en la homeostasis óseas y del calcio y en la regulación de muchas otras funciones celulares. Muy pocos alimentos contienen naturalmente vitamina D, por lo que la síntesis dérmica es la principal fuente natural. La vitamina D de la dieta o de la síntesis dérmica es biológicamente inactiva y requiere conversión a metabolitos activos. La vitamina D se convierte enzimáticamente en el hígado a 25-hidroxivitamina D, la principal forma circulante de vitamina D, y luego en el riñón a 1,25-dihidroxivitamina D, la forma activa (Figura 15) (Battistini et al., 2020).

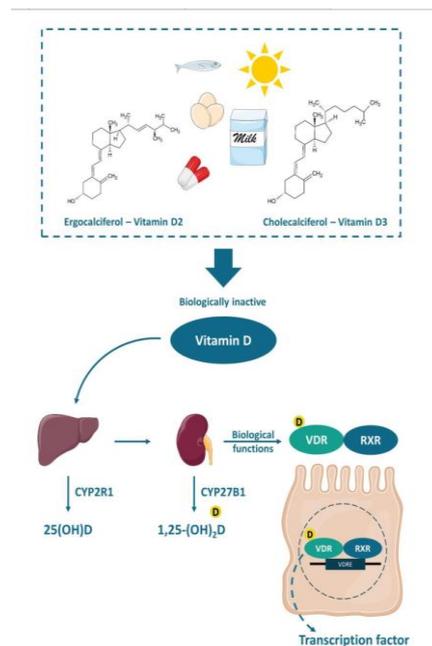


Figura 15. Estructura química y activación de la vitamina D. (Battistini et al., 2020).

El receptor de vitamina D (VDR) se expresa casi de forma universal en las células nucleadas. Aproximadamente el 3% del genoma humano está bajo el control de la 1,25-dihidroxivitamina D, además al menos 10 tejidos fuera del riñón expresan 1- α -hidroxilasa, la enzima encargada de convertir la vitamina D a su forma activa (Battistini et al., 2020).

Una de las principales funciones extraesqueléticas de la vitamina D es la modulación de la microbiota intestinal participando en la diferenciación de células inmunitarias, en la modulación de la microbiota intestinal, en la transcripción de genes y en la integridad de la barrera intestinal. El receptor de la vitamina D (VDR) regula las acciones biológicas de la vitamina D activa y está involucrado en los aspectos genéticos, ambientales, inmunitarios y microbianos de las enfermedades inflamatorias intestinales en las que se incluyen la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) (Figura 16). La deficiencia de vitamina D se correlaciona con la actividad de la enfermedad y su administración dirigida a una concentración de 30 ng/mL puede tener el potencial de reducir la actividad

de la enfermedad. Además, VDR regula las funciones de las células T y las células de Paneth y modula la liberación de péptidos antimicrobianos. Existen metabolitos microbianos beneficiosos como el butirato que aumentan la señalización de VDR (Battistini et al., 2020).

Existe una gran cantidad de datos epidemiológicos que indican que los riesgos de cáncer y enfermedades autoinmunes y cardiovasculares son mayores cuando los niveles de 25-hidroxivitamina D son menores de 20ng/mL y que los riesgos disminuyen con concentraciones más altas. Sin embargo, no hay datos convincentes de que los suplementos con vitamina D pueden disminuir el riesgo o el pronóstico del cáncer, de las infecciones, de las enfermedades autoinmunes, cardiovasculares y metabólicas. Además, no hay estudios prospectivos para definir los niveles ópticos de 25 (OH) D para mantener una buena salud extraesquelética. Por lo tanto, no se sugiere suplementos de vitamina D más allá de los requerimientos en la osteoporosis o prevención de caídas (Bouillon et al., 2022). Por tanto, la necesidad de más estudios en este campo es evidente (Murdaica et al., 2021).

Varios estudios *in vivo* han demostrado que la suplementación con vitamina D y el efecto antiinflamatorio de VDR están directamente asociados con la microbiota intestinal. De hecho, la regulación a la baja de VDR o la incapacidad de producir la forma activa de vitamina D se asoció con una disminución de *Lactobacillus*, mientras que *Proteobacteria* se incrementó (Battistini et al., 2020).

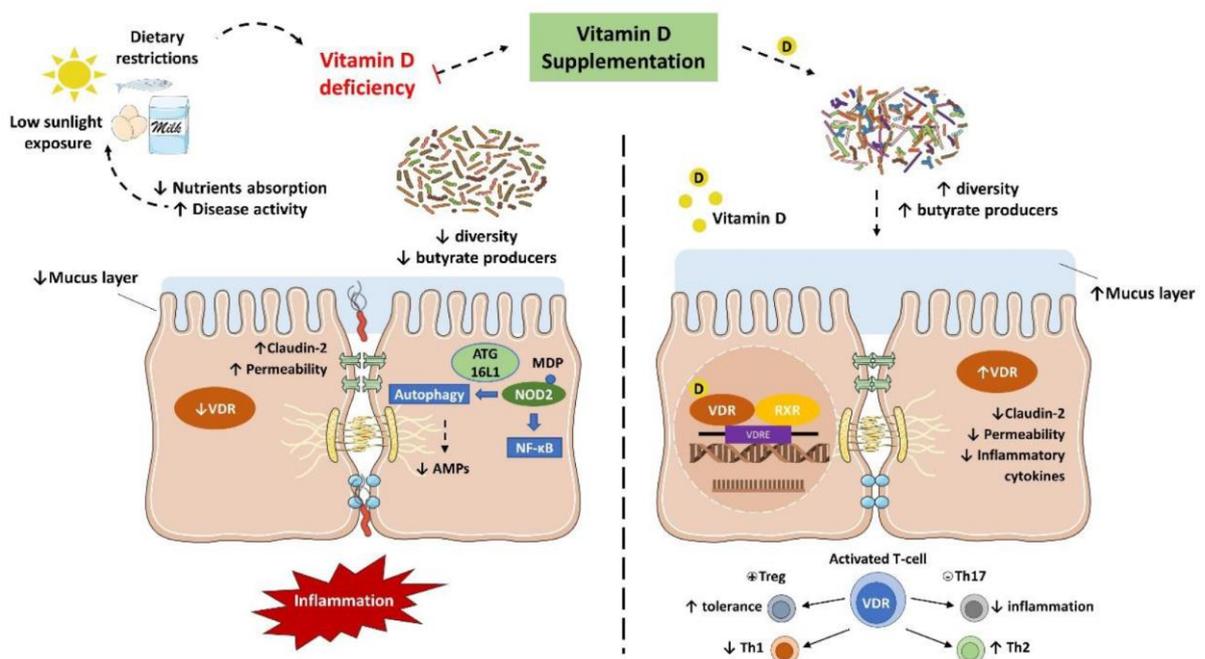


Figura 16. La vitamina D/VDR está involucrada en los aspectos genéticos, ambientales, inmunológicos y microbianos de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Por lo tanto, la suplementación con vitamina D y la activación de VDR podrían considerarse como un factor multifuncional en el tratamiento de la EII. (Battistini et al., 2020).

RELACIÓN ENTRE DÉFICIT EN VITAMINA D Y DISBIOSIS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Múltiples estudios han demostrado que la deficiencia de vitamina D o la inactivación de polimorfismos del VDR están asociados con la disbiosis del microbioma.

Se ha demostrado que tanto la deficiencia de vitamina D como la disbiosis afectan la inflamación sistémica y crónica y aumentan el riesgo de diversas afecciones, incluidas enfermedades cardiovasculares, neurológicas, infecciosas (incluida COVID-19), metabólicas y trastornos autoinmunes (Murdaca et al., 2021).

En pacientes con enfermedad de Crohn se ha observado que la suplementación con vitamina D promueve el crecimiento de ciertas especies bacterianas en el microbioma intestinal como *Alistipes*, *Barnesiella*, *Roseburia*, *Anaerotruncus* y *Subdoligranulum*. Además, se ha visto que los ratones *knockout* para VDR tienen una composición del microbioma diferente. Sus muestras fecales contenían *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Tannerella* y *Prevotella*, mientras que los ratones de control contenían *Lactobacillus*, *Butyricimonas* y *Lactococcus* (Murdaca et al., 2021).

La respuesta celular a la vitamina D está determinada principalmente por el nivel de VDR y la concentración de calcitriol dentro del núcleo, que depende de la expresión y actividad de las enzimas CYP27B1 y CYP24A1. La primera hidroxila el calcidiol (25(OH)D) para producir calcitriol y la segunda cataliza la oxidación adicional del calcitriol a compuestos menos activos (Ferrer-Mayorga et al., 2019). En condiciones de inflamación, la regulación a la baja de VDR colónico se asocia con una mayor expresión de CYP27B1 local, como un efecto protector homeostático para reducir la inflamación y mejorar la señalización de VDR. Se ha visto que los ratones sometidos a un tratamiento con antibióticos no lograron aumentar el CYP27B1 y desarrollaron una colitis más grave. Mientras que el tratamiento con LPS estimuló la regulación positiva de CYP27B1, reforzando el papel de VDR en la función de barrera y las vías antiinflamatorias y antiinfecciosas (Battistini et al., 2020).

Se sabe que VDR regula negativamente la actividad de NF- κ B estimulada por bacterias y este mecanismo también puede ser un importante contribuyente a la homeostasis intestinal y la protección del huésped contra la invasión e infección bacteriana. En un modelo de colitis experimental, se demostró que los ratones con delección de VDR en el epitelio intestinal desarrollaron una colitis clínica más grave y empeoraron la apoptosis de las células epiteliales, lo que condujo a un aumento de la permeabilidad de la mucosa intestinal y promueve la respuesta de la mucosa Th1 y Th17 (Battistini et al., 2020).

Además, los niveles de vitamina D en el útero también podrían influir en la microbiota que coloniza el intestino del bebé, por ejemplo, una mayor abundancia de *Clostridiales* y *Lachnobacterium* y una disminución de *Lactococcus* en bebés con niveles más altos de vitamina D en la sangre del cordón umbilical (Murdaca et al., 2021).

También es más probable que los niveles más bajos de vitamina D en la vida temprana conduzcan al desarrollo de alergias alimentarias, lo que sugiere un posible vínculo con el desarrollo del microbioma (Murdaca et al., 2021).

La vitamina D también juega un papel importante en la integridad de la barrera intestinal. Así, la señalización de la vitamina D tiene una papel importante en el mantenimiento de la integridad epitelial mediante la regulación de la expresión de uniones estrechas y uniones adherentes. Cuando esta capa se ve comprometida y las bacterias obtienen acceso a la lámina propia, la vitamina D tiene un impacto en la activación y supresión del sistema inmunitario innato y adaptativo (Murdaca et al., 2021). Sin embargo, aún se desconoce en gran medida cómo la señalización de vitamina D/VDR está involucrada en la barrera tisular relacionada con enfermedades humanas la hipótesis que se presupone se resume en la figura 17 (Zhang et al. 2013).

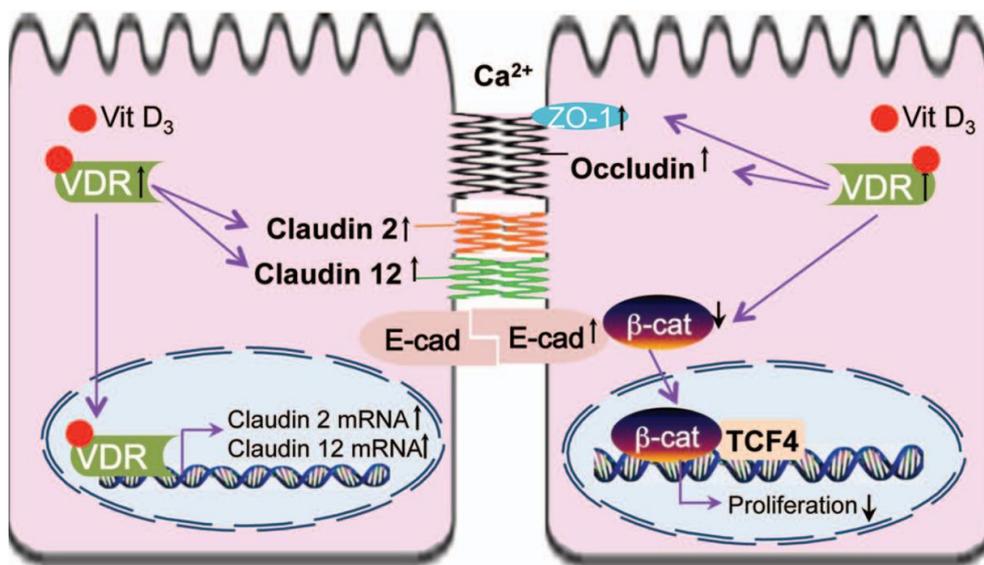


Figura 17. VDR y adhesión celular de células epiteliales. La activación de VDR suprime la actividad de la β -catenina, lo que disminuye la β -catenina nuclear, el factor de transcripción del factor de células T (TCF) e inhibe la proliferación celular. El aumento del nivel de VDR también se asocia con un aumento de claudina 2 y 12, que pueden desempeñar un papel en la homeostasis del calcio y la función de barrera. Las otras proteínas de unión celular involucradas en la vitamina D/VDR incluyen E-cadherina, ocludina y ZO-1 (zónula ocluyente) (Zhang et al., 2013).

ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE LA VITAMINA D (VDR) EN EL CCR

Aunque la vitamina D/VDR es un tema en investigación, el mecanismo subyacente sobre las interacciones entre el microbioma y el huésped no se comprende por completo, careciendo aún de suficiente conocimiento sobre los mecanismos del VDR epitelial intestinal y el microbioma en el CCR. Lo que si se ha visto es que la falta de VDR intestinal conduce a la disbiosis y a un cambio del perfil bacteriano para un mayor riesgo de CCR (Zhang et al., 2020). Se trata de un receptor de hormonas esteroides de clase II estrechamente relacionado con los receptores de ácido retinoico y hormonas tiroideas. Su acción biológica más importante es promover la diferenciación de enterocitos y la absorción intestinal de calcio (Pazirandeh et al., 2021)

También se ha visto un aumento de la abundancia de bacterias en ratones VDR^{ΔCEI} en comparación con ratones con VDR^{LoxP}. Así, *Bacteroides fragilis*, *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Peptostreptococcus* (*Firmicutes*) mostraron un aumento en los tumores de ratones VDR^{ΔCEI} en comparación con VDR^{LoxP} (Zhang et al., 2020).

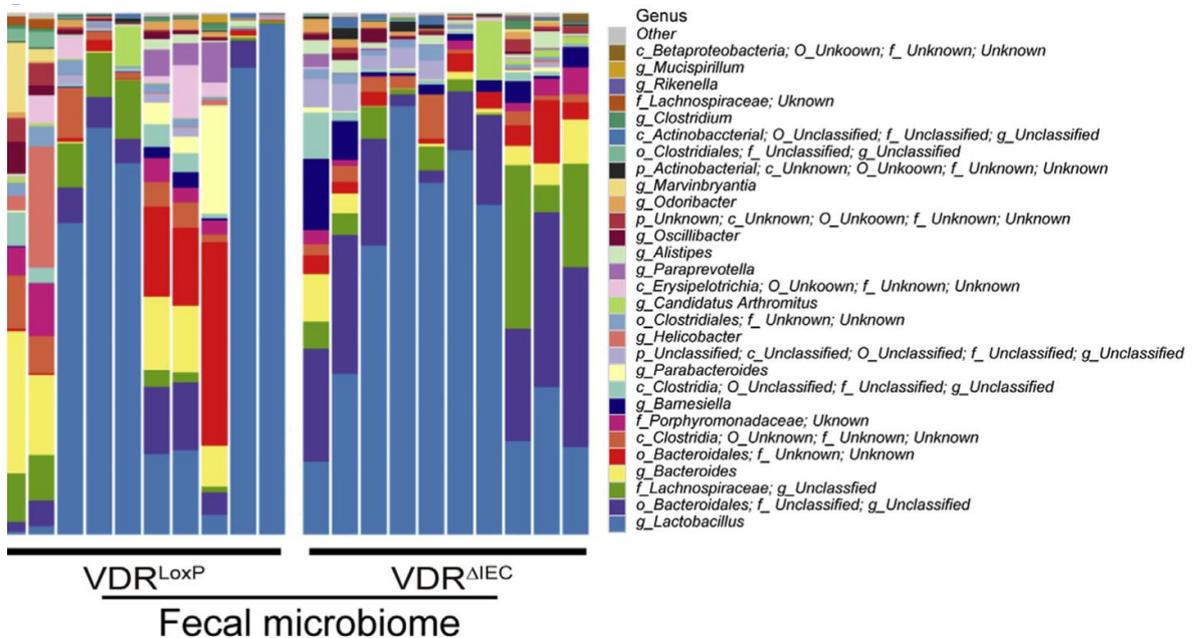


Figura 19. La disbiosis da lugar a un aumento del riesgo de cáncer en ratones VDR^{ΔCEI}. Se muestra la composición de la comunidad bacteriana a nivel de género en muestras de heces desde ratones VDR^{LoxP} y VDR^{ΔCEI} (adaptado de Zhang et al., 2020).

También se ha observado un aumento de la inflamación en los ratones VDR^{ΔCEI}, planteándose la hipótesis de que las funciones microbianas y epiteliales intestinales alteradas conducen a una inflamación crónica, lo que exacerba la progresión del cáncer de colon. Evaluando varios marcadores de linfocitos en colon normal y en tumores de colon se vio que los niveles de CD 68, CD3 y CD11b aumentan significativamente en los tumores, especialmente en los ratones VDR^{ΔCEI} (Zhang et al., 2020, Murdaca et al., 2021).

El VDR también está implicado en las funciones antibacterianas de las células de Paneth. Se ha visto que los ratones con inactivación VDR en las células de Paneth muestran una reducción de bacterias beneficiosas (por ejemplo, *Lactobacillus*) en la microbiota intestinal y la liberación de AMP, mientras que son más propensos a la infección por *Salmonella* y colitis inducida por DSS. Estos hallazgos confirman que las anomalías de las células de Paneth dan como resultado una capacidad de eliminación bacteriana reducida a través de los AMP y, junto con una reducción en las respuestas de autofagia, podrían explicar la asociación de disbiosis y las anomalías de las células de Paneth observadas en personas con EII (Battistini et al., 2020).

Recientemente se ha propuesto que una mayor cantidad de calcitriol se correlaciona con un menor riesgo de CCR independientemente del nivel de VDR. En este contexto, datos recientes indican que los tumores de CCR que carecen de expresión de VDR en células de carcinoma podrían beneficiarse de la acción protectora de los agonistas de VDR sobre los fibroblastos del estroma tumoral (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

MECANISMOS DE ACCIÓN DEL CALCITRIOL EN EL CCR

De acuerdo con la amplia expresión de VDR, el calcitriol tiene efectos sobre la mayoría de los tipos de células intestinales y sobre muchas líneas celulares de carcinoma de colon que contienen un nivel suficiente de VDR (Ferrer-Mayorga et al., 2019). La regulación de más de mil genes relacionados con la vitamina D en las células del carcinoma de colon así como células inmunitarias del microambiente tumoral indican la implicación de la vitamina D en la protección de esta neoplasia (Carlberg, 2022).

La investigación del efecto de la vitamina D en las células del colon humano se realizó mediante un biobanco vivo de cultivos de organoides tumorales y normales a largo plazo de 39 pacientes con CCR que se habían sometido a cirugía con fines curativos. Los organoides normales tenían una morfología quística relativamente homogénea formada por una o dos capas celulares, mientras que los organoides tumorales eran frecuentemente multicapa y mostraban dos morfologías alternativas, quística o compacta y se parecía a la morfología del tumor primario. El análisis por RT-qPCR de la expresión de VDR reveló niveles ligeramente más altos en los organoides normales que en los tumorales (Fernández-Barral et al., 2020).

La actividad enzimática realizada por CYP27B1 se induce en carcinomas moderadamente y bien diferenciados, pero es difícilmente detectable en células CCR de biopsias humanas que metastatizan a los ganglios linfáticos regionales. Por el contrario, la expresión de CYP24A1 es baja en células epiteliales de colon normal, pero se induce en adenomas colorrectales y tumores CCR. Alrededor del 60% de los tumores de CCR presentan elevado número de copias del gen CYP24A1. La expresión de CYP24A1 en células del CCR es inducida por inhibidores de ADN metiltransferasas a través de la alteración de la expresión de algunos reguladores de CYP24A1, pero no por la desmetilación del gen en sí (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

De manera similar a su acción en otros tipos de células tumorales, el calcitriol inhibe la proliferación, sensibiliza a la apoptosis y promueve la diferenciación de células de carcinoma de colon mediante la regulación de genes y la modulación de vías de señalización implicadas en estos procesos (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

La reducción de la proliferación celular por el calcitriol se realiza por varios mecanismos: regulación a la baja de quinasas dependientes de ciclina (CDK), inducción de inhibidores de CDK y de la detención del crecimiento y daño en el ADN que conduce a la detención del ciclo celular en G0/G1, la represión directa e indirecta de c-MYC y la modulación de los genes JUN y FOS. Además, el calcitriol interfiere con las vías de señalización proliferativas desencadenadas por el factor de crecimiento epidérmico y el factor de

crecimiento similar a la insulina II y sensibiliza las células a los efectos inhibidores del crecimiento del factor de crecimiento transformante beta (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

Cabe destacar, que el calcitriol antagoniza la vía de señalización Wnt/ beta catenina, cuya activación aberrante es el evento inicial y uno de los principales contribuyentes a la progresión del CCR. La suplementación con vitamina D disminuye los niveles de beta-catenina y aumenta los de E-cadherina, APC y p21 en la mucosa rectal de pacientes con adenoma colorrectal. Entre los genes de diferenciación que están sobreexpresados por el calcitriol se encuentran varios marcadores epiteliales intestinales como la fosfatasa alcalina, maltasa y el receptor sensor de calcio, así como proteínas de adhesión intercelular y del citoesqueleto como la E-cadherina. El aumento del contenido celular de varias de estas proteínas de las uniones estrechas, uniones de adherencia y los hemidesmosomas contribuyen al mantenimiento de la barrera epitelial intestinal que protege contra la infección (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

La vitamina D también ejerce acciones sobre el sistema inmunitario que implican el crecimiento, la diferenciación, la activación/desactivación y finalmente apoptosis de diferentes tipos de células inmunitarias. Las células inmunitarias y cancerosas utilizan las mismas vías de transducción de señales y genes para impulsar su crecimiento (Carlberg, 2022).

Su papel en la apoptosis se realiza mediante la sensibilización de las células del carcinoma de colon a la apoptosis por varios agentes a través de la activación de genes proapoptóticos, la represión de genes de supervivencia y de manera paracrina, vía interferencia con la secreción de IL-1 β por macrófagos. Así los agonistas de VDR potencian el efecto de los agentes quimioterapéuticos en células cultivadas y modelos animales de CCR. En cuanto a la migración, invasividad y angiogénesis, el calcitriol ejerce estas funciones mediante la represión de la expresión de DKK-4 un factor que promueve la invasión, angiogénesis y quimiorresistencias en las células del carcinoma de colon y se regula positivamente en los tumores de colon humano, lo que se correlaciona inversamente con la expresión de VDR. Además el calcitriol regula el fenotipo angiogénico de las células del carcinoma de colon controlando la expresión de varios genes como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el inhibidor de la diferenciación (ID)-1/2 y la trombospondina-1 (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

Solo se han publicado una pequeña cantidad de ensayos sobre los efectos de la suplementación con vitamina D en el CCR. Además, estos ensayos ya sea por sus limitaciones o deficiencias dificultan la obtención de una conclusión fuerte y consistente como por ejemplo dosis bajas que sean insuficientes para aumentar el calcitriol en sangre y alcanzar niveles significativos, duración corta del tratamiento, bajo cumplimiento, grupos de placebo inadecuados, restricción a población anciana, ausencia de evaluación de la capacidad de respuesta individual y la consideración de la genética individual. Se han sintetizado muchos análogos de la vitamina D en busca de agonistas VDR con mejor relación actividad/efectos secundarios a altas dosis terapéuticas (Ferrer-Mayorga et al., 2019). Además, los efectos inhibitorios (protectores) de la vitamina D en ratones con características derivadas de pacientes con CCR han mostrado una clara protección de la vitamina D frente a este tipo de neoplasia (Carlberg, 2022) (Figura 20).

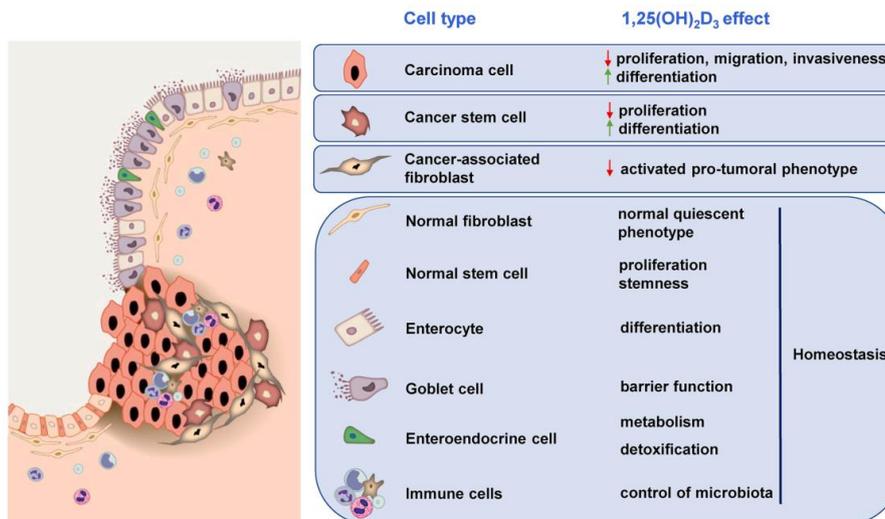


Figura 20. Efectos de la vitamina D en el CCR. El esquema muestra la distribución topográfica de los tipos de células en la cripta del colon. Efectos de 1,25(OH)₂D₃ sobre los diferentes tipos de células (tumoraes y estromales) en una neoplasia de colon y en el tejido normal adyacente. Se indican los efectos homeostáticos sobre las células normales y los efectos protectores sobre las células tumorales (Carlberg, 2022).

MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON FINES TERAPÉUTICOS

La modulación de la microbiota intestinal con el objetivo de restaurar la homeostasis microbiana es una estrategia potencial para la prevención y el tratamiento del CCR. Algunas estrategias para modular la microbiota intestinal son los probióticos, prebióticos y el trasplante de microbiota fecal (Fong et al., 2020).

Probióticos

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que al administrarse en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped. Un metaanálisis reciente que evalúa la eficacia y seguridad de los probióticos en pacientes adultos y pediátricos diagnosticados de cáncer sugiere que los probióticos pueden ser beneficiosos, incluso si los mecanismos subyacentes a las propiedades antitumorales siguen sin estar claros y aún se requieren más estudios (Villéger et al., 2019).

Para el CCR, varias bacterias, incluida *Bifidobacterium* y *Lactobacillus spp* han mostrado propiedades anticancerígenas en estudios preclínicos a través de diferentes mecanismos tales como la inhibición de la proliferación celular, la inducción de la apoptosis de las células cancerosas, la modulación de la inmunidad del huésped, la inactivación de toxinas cancerígenas y la producción de compuestos anticancerígenos (Wong & Yu, 2019).

Varios estudios han informado que la ingestión de cepas probióticas específicas disminuye la colonización de patógenos, incluyendo *Clostridium difficile* y

Staphylococcus aureus apoyando así el uso de probióticos para prevenir infecciones intestinales (Fong et al. 2020).

Los probióticos confieren resistencia a la colonización al competir por los nutrientes y por la superficie adherente sobre células epiteliales o moco o incluso antagonizando la colonización de patógenos a través de la agregación con ellos. Además de esta interacción directa, los probióticos pueden inhibir el crecimiento de patógenos por la producción de metabolitos como ácido láctico y acético que reducen el pH luminal o bien por bacteriocinas que ejercen actividad antimicrobiana directa. Al evitar la invasión patógena, la ingesta de probióticos ayuda a reducir los riesgos de infección intestinal y la inflamación subsiguiente, lo que podría prevenir el desarrollo de CCR y reducir las complicaciones en pacientes con CCR preexistente (Fong et al. 2020).

Los probióticos ejercen un efecto inmunomodulador de las mucosas, se ha visto que determinadas especies como *Bifidobacterium infantis* y *Bifidobacterium rhamnosus* son capaces de activar células dendríticas (CD) intestinales lo que ayuda a la regulación de células T gracias a la inhibición de STAT3 y NF- κ B, reduciendo el ambiente proinflamatorio tras la reducción de síntesis de interleucinas (IL-17, IL-23) (Fong et al. 2020). Además de estos efectos se ha visto que otro probiótico, *Lactobacillus casei* no solo actúa en la prevención del CCR, sino que también puede restablecer la disbiosis existente en el CCR (Saus et al., 2019).

Otra función que ejercen es mejorar la función de la barrera intestinal al regular o normalizar la expresión de proteínas de unión estrecha, estimulando la producción de mucina, suprimiendo la inflamación y promoviendo la restitución epitelial. En estas funciones juegan un importante papel *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* y *Escherichia coli* (Fong et al. 2020).

Prebióticos

Los prebióticos son definidos como un sustrato que es utilizado selectivamente por los microorganismos huéspedes que confieren un beneficio para la salud.

Los prebióticos son fermentados selectivamente por los probióticos colónicos, lo que conduce a la producción de ácidos grasos de cadena corta, como el acetato, propionato y butirato. Mientras que el butirato es absorbido por los colonocitos como principal combustible energético, el propionato y el acetato son metabolizados por el hígado y el músculo para la gluconeogénesis y la generación de energía, respectivamente. Funcionando como un inhibidor de la histona deacetilasa, se ha sugerido que el butirato ejerce efectos beneficiosos en los pacientes con CCR al inducir la apoptosis del CCR, regular a la baja la inflamación, modular el estrés oxidativo y mejorar la función de la barrera epitelial (Fong et al. 2020).

Además de estimular el crecimiento de los probióticos, los prebióticos pueden actuar de manera independiente a los probióticos y ejercer un efecto directo sobre el intestino. Una de las acciones más estudiadas es la propiedad antiadherente contra patógenos. Al imitar los glucoconjugados de las microvellosidades apicales, los oligosacáridos

prebióticos pueden interactuar con el receptor bacteriano y evitar que los patógenos se adhieran a las células epiteliales, inhibiendo así la colonización de patógenos (Fong et al. 2020).

Asimismo, se ha desarrollado la combinación sinérgica de prebióticos y probióticos en forma de suplementos o ingredientes dietéticos, denominados simbióticos. Estos incluyen cepas de *Lactobacillus plantarum* para alimentos multifuncionales a base de avena (Saus et al., 2019).

Trasplante de microbiota fecal

Con la creciente comprensión de cómo la microbiota intestinal alterada impacta en las enfermedades, el trasplante de microbiota fecal (FMT) ha cobrado importancia en los últimos años. Al administrar trasplantes fecales de donantes sanos al tracto gastrointestinal de los pacientes, FMT introduce una población microbiana sana y libre de enfermedades en una comunidad disbiótica, que luego restaura la homeostasis microbiana y puede ser potencialmente útil para mejorar varios trastornos gastrointestinales, incluida la EII, el síndrome del intestino irritable y la infección por *Clostridium difficile*. En comparación con otras estrategias de modulación, FMT parece conferir varias ventajas sobre las demás. Si bien aumenta la diversidad microbiana y no altera la ecología intestinal microbiana como en el tratamiento con antibióticos, su injerto a largo plazo también permite que se diseñe como un régimen de dosis única, lo que confiere beneficios terapéuticos sobre los probióticos y prebióticos, cuya colonización parece ser transitoria (Fong et al. 2020).

Sin embargo, los trasplantes fecales aún tienen muchas incógnitas y, dadas las incertidumbres, algunos científicos argumentan que probar estos enfoques en humanos es arriesgado. FMT ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones recurrentes por *Clostridium difficile* con altas tasas de respuesta, dando perspectivas prometedoras para otras patologías. Sin embargo, los datos de FMT en el contexto de la terapia del cáncer son mucho más limitados y los datos se han obtenido principalmente en modelos animales (Villéger et al., 2019).

INTEGRACIÓN DE LOS DATOS DEL MICROBIOMA EN LA MEDICINA DE PRECISIÓN PARA LA PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CCR

Por medio del conocimiento de la microbiota intestinal y su relación con la patogenia del CCR en los últimos años se están usando los biomarcadores con el objetivo de localizar los CCR en una etapa precoz permitiendo así una reducción de la incidencia y mortalidad. Un biomarcador es una sustancia utilizada como indicador de un proceso biológico, en este caso se usa como indicador de la presencia o gravedad de la enfermedad. Para disponer de biomarcadores se necesita un análisis de la microbiota intestinal. Los biomarcadores se pueden usar para el cribado, imprescindible para aumentar la supervivencia. Así la supervivencia en los localizados es de un 90% a los 5 años mientras que en la enfermedad metastásica tan solo es de un 14% (Wong & Yu 2019).

Marcadores para la detección de adenoma. El adenoma es el principal precursor del CCR. Las pruebas de detección no invasivas actuales basadas en heces tienen baja sensibilidad para detectar adenomas colorrectales. Sin embargo, debido a la gran cantidad de datos metagenómicos disponibles sobre el CCR, éstos son de gran ayuda para el desarrollo de marcadores microbianos fecales a utilizar para el diagnóstico del CCR. Como bacteria individual específica, se observó que *F. nucleatum* era más abundante en adenomas colorrectales que en controles sanos, demostrando de esta manera que la cuantificación de *F. nucleatum* puede servir para diferenciar a los pacientes (Wong & Yu 2019).

Biomarcadores para el pronóstico del cáncer. Asociaciones entre biomarcadores bacterianos y resultados clínicos han sido utilizadas como marcadores de pronóstico del CCR. Varios estudios de epidemiología molecular han mostrado relaciones inversas entre las cantidades tumorales de *F. nucleatum* en el tejido medidas mediante PCR cuantitativa con la supervivencia del CCR. Esto pone de manifiesto el potencial de la cuantificación de *F. nucleatum* cuya erradicación podría mejorar tanto el pronóstico como la supervivencia de la enfermedad (Wong & Yu 2019).

El avance que supone el uso de estos marcadores y las nuevas estrategias terapéuticas motivan la necesidad de seguir investigando en este campo. Muchos estudios han demostrado la asociación entre las bacterias presentes en el microbioma con el CCR sin embargo una limitación recurrente es el escaso estudio de los componentes no bacterianos (hongos, protozoos y virus). En este sentido, algunos campos prometedores que están creciendo son el estudio de la implicación del viroma y microbioma intestinal en la patología del CCR, de los que todavía hay un conocimiento muy limitado. En relación con la limitación de los grupos taxonómicos menos estudiados se debe a una limitada resolución taxonómica ya que actualmente se mantiene en el género o niveles superiores en la mayoría de los estudios. Esta resolución limita la comprensión del impacto funcional de la microbiota ya que el potencial funcional puede variar mucho entre especies del mismo género microbiano e incluso entre cepas de la misma especie (Saus et al., 2019).

CONCLUSIONES

Numerosos estudios muestran como alteraciones genéticas, factores ambientales, el estilo de vida y la dieta pueden inducir la disbiosis de la microbiota intestinal y generar una respuesta y un ambiente hostil que favorece la carcinogénesis colorrectal.

El papel del desequilibrio microbiano en la carcinogénesis implica varios mecanismos. La disbiosis favorece la colonización por bacterias “driver” que generan una inflamación del epitelio y a su vez la inflamación puede alterar la microbiota. Esta inflamación cambia el microambiente y permite la colonización por bacterias oportunistas “Passenger”. Este proceso se ve reforzado por la formación de biofilms que aumenta la permeabilidad intestinal y favorecen el desarrollo de infecciones crónicas difíciles de eliminar. Igualmente, la microbiota interactúa estrechamente con el sistema inmunitario y su estimulación puede causar una inflamación crónica que resulte en carcinogénesis. A pesar de la diversidad de la microbiota intestinal, varias especies bacterianas se han asociado con un riesgo más alto para el desarrollo del CCR entre ellas destacan *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis enterotoxigénico* y *E.coli* con la isla genómica de la poliquétido sintetasa.

El estudio de este desequilibrio aporta información crucial para explorar cómo mediante la manipulación de la microbiota podemos prevenir y tratar el CCR de diferentes formas: con la dieta, pre y probióticos y trasplante de la microbiota fecal entre otros. Además, estos conocimientos abren la oportunidad para la prevención y el diagnóstico precoz del CCR mediante el empleo de biomarcadores.

El estudio de la influencia de la vitamina D en la carcinogénesis colorrectal está recibiendo una importancia creciente. Se sabe que la vitamina D ejerce una serie de complejos efectos sobre las células del carcinoma de colon y sobre varios tipos de células normales presentes en el colon. En estas funciones interviene el VDR, de hecho, la falta de VDR intestinal se asocia a disbiosis y un mayor riesgo de CCR. En general, estos efectos sugieren la acción preventiva y beneficiosa del calcitriol contra el CCR que pueden potenciar las terapias contra el cáncer. Este resultado está de acuerdo con los datos epidemiológicos que asocian la deficiencia de vitamina D con un mayor riesgo de CCR.

A pesar de toda la información ya disponible aún es un tema en constante investigación destacando la necesidad de más estudios para establecer con mayor exactitud el papel de la vitamina D y el VDR en el desarrollo del CCR.

ABREVIATURAS

- CCR: Carcinoma Colorrectal
- OTU: Unidades taxonómicas operativas
- SMRT: Single-Molecule Real-Time Sequencing
- TGS: Secuenciación de tercera generación
- PacBio: Pacific Biosciences
- ONT: Nanoporos de Oxford Nanopore
- NGS: Secuenciación de nueva generación
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- TGI: Tracto Gastrointestinal
- HMP: Proyecto microbioma humano
- iHMP: HMP integrativo
- MetaHIT: Metagenoma del tracto gastrointestinal humano
- HMP: Proyecto de microbioma humano
- AMP: Péptidos antimicrobianos
- PRR: Receptor de reconocimiento de patrones
- TLR: Receptor tipo Toll
- NDR: Receptor tipo NOD
- MAMP: Patrones moleculares asociados a microbios
- PSA: Polisacárido A
- TH: Células T Helper
- GALT: Tejido linfoide asociado al intestino
- MLN: Ganglios linfáticos mesentéricos locales
- AGCC: Ácidos grasos de cadena corta
- GLP: Péptido similar al glucagón
- PYY: Péptido YY
- SPRR2A: Pequeña proteína rica en prolina 2A
- HNPCC: Cáncer colorrectal hereditario sin pólipos
- MMR: Sistema de reconocimiento y reparación de errores del ADN
- PAF: Poliposis adenomatosa familiar
- APC: Poliposis adenomatosa del colon

- CIMP: Isla metilación fenotipo CpG
- MSI: Inestabilidad de microsatélites
- WCRF: Fondo mundial para la investigación del cáncer
- AICR: Instituto Americano de Investigación sobre el cáncer
- CC: Circunferencia de la cintura
- MET: Equivalentes metabólicos de tarea
- ROS: Especies reactivas de oxígeno
- BFT: Toxina *B. fragilis*
- CDT: Toxina de distensión citoletal
- ETBF: *B. fragilis* enterotoxigénico
- ECAI: *E.coli* adherente invasivo
- Gal-GalNac: Galactosa-N-acetil-Dgalactosamina
- CTLA-4: Antígeno 4 asociado a los linfocitos T citotóxicos
- ODN: Oligodesoxinucleótidos
- EC: Enfermedad de Crohn
- CU: Colitis Ulcerosa
- DSS: Dextrano sulfato de sodio
- AOM: Azoximetano
- CDK: Quinasas dependientes de ciclina
- VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular
- CD: Células dendríticas
- VDR: Receptor de Vitamina D
- VDR^{ΔCEI} : Eliminación específica intestinal de VDR
- FMT: Trasplante de microbiota fetal
- AUC: Área bajo la curva

BIBLIOGRAFÍA

- Amrane, S., Raoult, D., & Lagier, J.-C. (2018). Metagenomics, culturomics, and *mistry and Molecular Biology*, 185, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.07.002>
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174-180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Battistini, C., Ballan, R., Herkenhoff, M. E., Saad, S. M. I., & Sun, J. (2020). Vitamin D Modulates Intestinal Microbiota in Inflammatory Bowel Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 362. <https://doi.org/10.3390/ijms22010362>
- Bultman, S. J. (2017). Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(1), 1500902. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500902>
- Bolland, M. J., Grey, A., Gamble, G. D., & Reid, I. R. (2011). Calcium and vitamin D supplements and health outcomes: A reanalysis of the Women's Health Initiative (WHI) limited-access data set. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94(4), 1144-1149. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.015032>
- Bouillon, R., Manousaki, D., Rosen, C., Trajanoska, K., Rivadeneira, F., & Richards, J. B. (2022). The health effects of vitamin D supplementation: Evidence from human studies. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(2), 96-110. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00593-z>
- 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 & Hepatology* 15 (11): 671–82. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0025-6>.
- Carlberg, C. (2022). An update on vitamin D signaling and cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 14.
- Cheng, Yiwen, Zongxin Ling, and Lanjuan Li. 2020. The Intestinal Microbiota and Colorectal Cancer. *Frontiers in Immunology* 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615056>

- Cheng, Mingyue, and Kang Ning. 2019. Stereotypes About Enterotype: The Old and New Ideas. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics, Microbiome and Health*, 17 (1): 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.02.004>
- Chew, S.-S., Tan, L. T.-H., Law, J. W.-F., Pusparajah, P., Goh, B.-H., Ab Mutalib, N. S., & Lee, L.-H. (2020). Targeting Gut Microbial Biofilms—A Key to Hinder Colon Carcinogenesis? *Cancers*, 12(8), 2272. <https://doi.org/10.3390/cancers12082272>
- Costea, P. I., Hildebrand, F., Arumugam, M., Bäckhed, F., Blaser, M. J., Bushman, F. D., de Vos, W. M., Ehrlich, S. D., Fraser, C. M., Hattori, M., Huttenhower, C., Jeffery, I. B., Knights, D., Lewis, J. D., Ley, R. E., Ochman, H., O’Toole, P. W., Quince, C., Relman, D. A., ... Bork, P. (2018). Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nature Microbiology*, 3(1), 8-16. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0072-8>
- Donaldson, G. P., Lee, S. M., & Mazmanian, S. K. (2016). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 14(1), 20-32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>
- Fernández-Barral, A., Costales-Carrera, A., Buirra, S. P., Jung, P., Ferrer-Mayorga, G., Larriba, M. J., Bustamante-Madrid, P., Domínguez, O., Real, F. X., Guerra-Pastrián, L., Lafarga, M., García-Olmo, D., Cantero, R., Del Peso, L., Batlle, E., Rojo, F., Muñoz, A., & Barbáchano, A. (2020). Vitamin D differentially regulates colon stem cells in patient-derived normal and tumor organoids. *The FEBS Journal*, 287(1), 53-72. <https://doi.org/10.1111/febs.14998>
- Ferrer-Mayorga, G., Larriba, M. J., Crespo, P., & Muñoz, A. (2019). Mechanisms of action of vitamin D in colon cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 185, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.07.002>
- Fong, W., Li, Q., & Yu, J. (2020). Gut microbiota modulation: A novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*, 39(26), 4925-4943. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1341-1>
- Gagnière, J. (2016). Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 22(2), 501. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i2.501>
- Garrett, W. S. (2019). The gut microbiota and colon cancer. *Science (New York, N.Y.)*, 364(6446), 1133-1135. <https://doi.org/10.1126/science.aaw2367>
- Genua, F., Raghunathan, V., Jenab, M., Gallagher, W. M., & Hughes, D. J. (2021). The Role of Gut Barrier Dysfunction and Microbiome Dysbiosis in Colorectal Cancer Development. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2021.626349>
- Grazioso, T. P., Brandt, M., & Djouder, N. (2019). Diet, Microbiota, and Colorectal Cancer. *IScience*, 21, 168-187. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.10.011>

- Integrative, T., & Microbiome, H. (s. f.). *The Integrative Human Microbiome Project*. 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>
- Jandhyala, S. M. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), 8787. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>
- Janney, A., Powrie, F., & Mann, E. H. (2020). Host–microbiota maladaptation in colorectal cancer. *Nature*, 585(7826), 509-517. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2729-3>
- Jovel, J., Patterson, J., Wang, W., Hotte, N., O’Keefe, S., Mitchel, T., Perry, T., Kao, D., Mason, A. L., Madsen, K. L., & Wong, G. K.-S. (2016). Characterization of the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00459>
- Keum, N., & Giovannucci, E. (2019). Global burden of colorectal cancer: Emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(12), 713-732. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0189-8>
- Koliarakis, I., Messaritakis, I., Nikolouzakis, T. K., Hamilos, G., Souglakos, J., & Tsiaoussis, J. (2019). Oral Bacteria and Intestinal Dysbiosis in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4146. <https://doi.org/10.3390/ijms20174146>
- Kruger, C., & Zhou, Y. (2018). Red meat and colon cancer: A review of mechanistic evidence for heme in the context of risk assessment methodology. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 131-153. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.048>
- Li, S., Konstantinov, S. R., Smits, R., & Peppelenbosch, M. P. (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>
- Macrae, F. A. (s. f.). Colorectal cancer: Epidemiology, risk factors, and protective factors. *Colorectal Cancer*, 61.
- Malla, M. A., Dubey, A., Kumar, A., Yadav, S., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2019). Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment. *Frontiers in Immunology*, 9, 2868. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02868>
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arboleya Montes, S., Mancabelli, L., Lugli, G. A., Rodriguez, J. M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>

- Mirzaei, R., Mirzaei, H., Alikhani, M. Y., Sholeh, M., Arabestani, M. R., Saidijam, M., Karampoor, S., Ahmadyousefi, Y., Moghadam, M. S., Irajian, G. R., Hasanvand, H., & Yousefimashouf, R. (2020). Bacterial biofilm in colorectal cancer: What is the real mechanism of action? *Microbial Pathogenesis*, *142*, 104052. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104052>
- Murdaca, G., Gerosa, A., Paladin, F., Petrocchi, L., Banchemo, S., & Gangemi, S. (2021). Vitamin D and Microbiota: Is There a Link with Allergies? *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(8), 4288. <https://doi.org/10.3390/ijms22084288>
- Murphy, N., Moreno, V., Hughes, D. J., Vodicka, L., Vodicka, P., Aglago, E. K., Gunter, M. J., & Jenab, M. (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, E., Fernández-Fernández, N., Vivas, S., & Olcoz, J. L. (2015). Factors Determining Colorectal Cancer: The Role of the Intestinal Microbiota. *Frontiers in Oncology*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00220>
- Raskov, H., Burcharth, J., & Pommergaard, H.-C. (2017). Linking Gut Microbiota to Colorectal Cancer. *Journal of Cancer*, *8*(17), 3378-3395. <https://doi.org/10.7150/jca.20497>
- Sánchez-Alcoholado, L., Ramos-Molina, B., Otero, A., Laborda-Illanes, A., Ordóñez, R., Medina, J. A., Gómez-Millán, J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2020). The Role of the Gut Microbiome in Colorectal Cancer Development and Therapy Response. *Cancers*, *12*(6), 1406. <https://doi.org/10.3390/cancers12061406>
- Sassan Pazirandeh, MD, David L Burns, MD 2021. Overview of vitamin D.
- Saus, E., Iraola-Guzmán, S., Willis, J. R., Brunet-Vega, A., & Gabaldón, T. (2019). Microbiome and colorectal cancer: Roles in carcinogenesis and clinical potential. *Molecular Aspects of Medicine*, *69*, 93-106. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.05.001>
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev*, *90*, 46.
- Shabana, Shahid, S. U., & Irfan, U. (2018). The gut microbiota and its potential role in obesity. *Future Microbiology*, *13*(5), 589-603. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0179>
- Song, M., Chan, A. T., & Sun, J. (2020). Influence of the Gut Microbiome, Diet, and Environment on Risk of Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, *158*(2), 322-340. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.06.048>

- Ternes, D., Karta, J., Tsenkova, M., Wilmes, P., Haan, S., & Letellier, E. (2020). Microbiome in Colorectal Cancer: How to Get from Meta-omics to Mechanism? *Trends in Microbiology*, 28(5), 401-423. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.01.001>
- The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. (2019). The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 569 (7758), 641-648. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823-1836. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
- Tilg, H., Adolph, T. E., Gerner, R. R., & Moschen, A. R. (2018). The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. *Cancer Cell*, 33(6), 954-964. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>
- Tropini, C., Earle, K. A., Huang, K. C., & Sonnenburg, J. L. (2017). The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function. *Cell Host & Microbe*, 21(4), 433-442. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.010>
- van Dijk, E. L., Jaszczyszyn, Y., Naquin, D., & Thermes, C. (2018). The Third Revolution in Sequencing Technology. *Trends in Genetics*, 34(9), 666-681. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.05.008>
- Villéger, R., Lopès, A., Carrier, G., Veziant, J., Billard, E., Barnich, N., Gagnière, J., Vazeille, E., & Bonnet, M. (2019). Intestinal Microbiota: A Novel Target to Improve Anti-Tumor Treatment? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4584. <https://doi.org/10.3390/ijms20184584>
- Wang, S., Liu, Y., Li, J., Zhao, L., Yan, W., Lin, B., Guo, X., & Wei, Y. (2021). *Fusobacterium nucleatum* Acts as a Pro-carcinogenic Bacterium in Colorectal Cancer: From Association to Causality. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 710165. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.710165>
- Wong, S. H., & Yu, J. (2019). Gut microbiota in colorectal cancer: Mechanisms of action and clinical applications. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(11), 690-704. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0209-8>
- Zhang, Y., Wu, S., & Sun, J. (2013). Vitamin D, vitamin D receptor and tissue barriers. *Tissue Barriers*, 1(1), e23118. <https://doi.org/10.4161/tisb.23118>
- Zhang, Y.-G., Lu, R., Wu, S., Chatterjee, I., Zhou, D., Xia, Y., & Sun, J. (2020). Vitamin D Receptor Protects Against Dysbiosis and Tumorigenesis via the JAK/STAT Pathway in Intestine. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 10(4), 729-746. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.05.010>

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutora y directora del TFG Asunción Seoane Seoane por la atención, orientación y gran implicación durante toda la realización del presente documento. Asimismo, quiero agradecer a mi familia y amigos por el apoyo y comprensión recibidos tanto en los últimos meses como durante estos seis años de carrera.