



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: Estefanía Santos Peral

Director/es: Asunción Seoane Seoane

Santander, Junio 2023

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen y Abstract.....	1
Objetivos y Metodología	2
1. Introducción	2
2. La microbiota intestinal.....	3
3. Métodos de detección de la microbiota intestinal	4
4. Establecimiento de la microbiota intestinal.....	6
5. Biogeografía de la microbiota intestinal.....	7
6. Variación global de los metagenomas intestinales. Enterotipos.....	10
7. Funciones de la microbiota intestinal.....	13
8. Factores que determinan el cáncer colorrectal.....	18
9. Papel de la dieta y el estilo de vida en el cáncer colorrectal	20
10. Microbiota intestinal asociada al cáncer colorrectal	23
11. Papel del biofilm en la iniciación del cáncer colorrectal	26
12. Microorganismos relacionados con el cáncer colorrectal	28
12.1 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	28
12.2 <i>E. coli</i> con la isla genómica de la poliquétido sintetasa.....	30
12.3 <i>Bacteroides fragilis enterotoxigénico</i>	32
13. Impacto de la microbiota intestinal en la eficiencia y toxicidad de las terapias contra el cáncer colorrectal	33
14. Mecanismo de acción de la vitamina D y su impacto en la microbiota intestinal.....	36
15. Relación entre déficit en vitamina D y disbiosis de la microbiota intestinal.....	38
16. Alteración de la expresión del receptor de la vitamina D en el cáncer colorrectal	40
17. Mecanismos de acción del calcitriol en el cáncer colorrectal	42
18. Modulación de la microbiota intestinal con fines terapéuticos.....	44
19. Integración de los datos del microbioma en la medicina de precisión para la prevención, diagnóstico y tratamiento del cáncer colorrectal	49
20. Conclusiones.....	50
Anexos: Índice de Abreviaturas.....	51
Bibliografía.....	53
Agradecimientos.....	57

RESUMEN

En las últimas décadas, la evidencia ha demostrado que la microbiota intestinal influye significativamente en el huésped. Los estudios de secuenciación han revelado que alteraciones de la misma, un estado conocido como disbiosis, están asociadas a la patogénesis de diversas enfermedades más allá de las infecciones clásicas, como son las enfermedades metabólicas, gastrointestinales o el cáncer colorrectal (CCR).

De entre ellas, el CCR supone una importante carga sanitaria mundial que representa la segunda causa de muerte por cáncer. Su etiología es multifactorial, pero cada vez hay más pruebas de que la microbiota intestinal desempeña un papel crucial en el inicio, la progresión y la metástasis del CCR. Paralelamente, los estudios epidemiológicos han identificado al CCR como la neoplasia más comúnmente asociada con niveles bajos de vitamina D. Ambos hallazgos justifican la necesidad de dilucidar los mecanismos subyacentes al desarrollo de esta enfermedad con el fin de incidir sobre la misma.

Palabras clave: Microbiota, disbiosis, cáncer colorrectal, vitamina D.

ABSTRACT

In recent decades, evidence has shown that the gut microbiota significantly influences the host. Sequencing studies have revealed that alterations in the gut microbiota, a condition known as dysbiosis, are associated with the pathogenesis of various diseases beyond classical infections, such as metabolic and gastrointestinal disorders, as well as colorectal cancer (CRC).

Among them, CRC represents a major global health burden and is the second leading cause of cancer-related deaths. Its etiology is multifactorial, but there is increasing evidence that the gut microbiota plays a crucial role in the initiation, progression, and metastasis of CRC. Additionally, epidemiological studies have identified CRC as the neoplasm most commonly associated with low levels of vitamin D. Both findings justify the need to elucidate the mechanisms underlying the development of the disease in order to have an impact on it.

Key words: microbiota, dysbiosis, colorectal cancer, vitamin D.

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

La finalidad de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica exhaustiva de todo lo publicado hasta el momento acerca del papel de la microbiota intestinal en el CCR, así como del papel que juega la microbiota intestinal y las deficiencias de vitamina D en el desarrollo tanto de la disbiosis como de la tumorigénesis. Para recopilar toda esta información se han usado diferentes bases de datos como PubMed y UptoDate así como libros y fuentes de soporte digital.

1. INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal (GI) de los seres humanos posee una población compleja y dinámica de microorganismos; la microbiota intestinal, la cual ejerce un papel esencial en la protección frente a agentes patógenos y en el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria y metabólica.

Varios estudios han analizado la correlación entre la microbiota intestinal humana y el estado de salud. Los informes han indicado que, si bien la microbiota intestinal parece ser relativamente estable en condiciones de salud, cualquier cambio cualitativo o cuantitativo puede dar lugar a alteraciones funcionales y enfermedades. Un alto nivel de diversidad bacteriana se considera indicador de un estado saludable, mientras que un bajo nivel de diversidad bacteriana se correlaciona con enfermedades inflamatorias, inmunitarias y relacionadas con la obesidad (Malla et al. 2019). Los estudios también han revelado que la disbiosis intestinal juega un papel central en el desarrollo de diversas enfermedades, como trastornos metabólicos, enfermedades hepáticas, tumores malignos gastrointestinales, enfermedades respiratorias, enfermedades autoinmunes y enfermedades mentales, entre otras (Malla et al., 2019).

Son múltiples los factores que durante la infancia contribuyen al establecimiento de la microbiota intestinal. La dieta se considera uno de los principales determinantes en la composición de la microbiota intestinal a lo largo de la vida (Song et al., 2020). Los avances tecnológicos han contribuido en gran medida a un mejor conocimiento del enorme impacto de la microbiota intestinal sobre el huésped.

En esta revisión nos centraremos en el impacto de la microbiota intestinal en el desarrollo del CCR. Ésta es una de las enfermedades gastrointestinales malignas más estudiadas tanto por su elevada prevalencia como 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 la observación 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).

2. LA MICROBIOTA INTESTINAL

Al conjunto de bacterias, arqueas, virus y microbios eucariotas que colonizan el tracto GI se le denomina "microbiota intestinal". Estos microorganismos han coevolucionado con el huésped durante miles de años hasta formar una relación compleja y mutuamente beneficiosa. (Thursby and Juge, 2017; Malla et al., 2019).

El tracto GI humano posee una de las mayores interfaces (250-400 m²) entre el huésped y los factores ambientales. En una vida promedio, pasan aproximadamente 60 toneladas de alimentos por el tracto GI, así como una gran cantidad de microorganismos procedentes del medio ambiente (Thursby and Juge, 2017).

Cada individuo es diferente no sólo por su propio material genético, sino también por su microbiota intestinal. La microbiota intestinal humana consta de al menos 1.800 géneros y aproximadamente 15.000-36.000 especies de bacterias (M. Cheng and Ning 2019a), con un número total de células bacterianas $\approx 3,8 \times 10^{13}$ (el resto de bacterias en otros órganos es menor de 10^{12}) y este número es aproximadamente del mismo orden que el número de células humanas: $3,0 \times 10^{13}$, y una cantidad de contenido genómico (microbioma) 100 veces superior al del genoma humano. Si consideramos el total de genes bacterianos, los estudios del Proyecto del Microbioma Humano y del Metagenoma del Tracto Intestinal Humano (MetaHIT) sugieren que podría haber más de 10 millones de genes no redundantes en la microbiota humana (Jandhyala et al., 2015). Dado el gran número de células bacterianas que hay en el organismo, a menudo se denomina "superorganismo" al huésped y a los microorganismos que lo habitan (Thursby and Juge, 2017; Cheng and Ning, 2019)

La microbiota intestinal, es un órgano en sí mismo con una amplia capacidad metabólica y una plasticidad funcional sustancial. Así por ejemplo, puede sintetizar aminoácidos y vitaminas esenciales o degradar gran variedad de polisacáridos de la dieta, que de otro modo no se podrían digerir. Además, una microbiota disbiótica puede conducir a la pérdida de la regulación inmunitaria en la mucosa intestinal, lo que se asocia con una serie de enfermedades inflamatorias e inmunomediadas (Cheng and Ning, 2019). Estas características han cambiado rápidamente el enfoque de la investigación de la abundancia y diversidad de los miembros microbianos a los aspectos funcionales (Jandhyala et al., 2015).

A pesar de que los dominios *Eukarya* y *Archaea* también están presentes en el intestino, es el dominio *Bacteria* el que claramente predominan. Los humanos adultos son colonizados por microbios de 12 filos y al menos una división de *Archaea*. La microbiota intestinal está dominada por 3 filos bacterianos: *Firmicutes* (Gram-positivas) (60%), *Bacteroidetes* (Gram-negativas) (25%) y *Actinobacteria* (Gram-positivas) (8%) y ya en menor proporción están *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria* y *Spirochaetes* (Thursby and Juge, 2017).

3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Antes de las tecnologías de secuenciación masiva ó de nueva generación (SNG), la caracterización de la composición de la microbiota intestinal se realizó exclusivamente mediante técnicas de cultivo. Las primeras técnicas de cultivo sólo permitían aislar entre el 10% y el 25% de la microbiota debido a que la mayoría de los microorganismos en el intestino son anaeróbicos. Más adelante, gracias a las mejoras en las técnicas de cultivo anaerobio, se identificaron géneros como *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, etc. (Malla et al., 2019; Jandhyala et al., 2015). Debido a que una gran proporción de la microbiota intestinal humana no podía ser cultivada, se impulsó el desarrollo de enfoques independientes del cultivo como la metagenómica, metatranscriptómica, metaproteómica y metabolómica (Jandhyala et al., 2015).

Hoy en día se sigue empleando la culturómica, técnica basada en cultivo que consiste en detectar el máximo número de bacterias por muestra e identificar así la microbiota previamente no cultivada del intestino. Esta técnica se basa en utilizar múltiples condiciones de cultivo asociadas a la espectrometría de masas MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight*). Si la identificación por MALDI-TOF no es posible se recurre a la identificación por 16S rRNA (Amrane et al., 2018).

Sin embargo, estas técnicas no proporcionaban información sobre la composición total de la comunidad ni sobre las interacciones huésped-patógeno o entre los taxones que la componían. La aparición de las tecnologías SNG ha superado estas limitaciones y la continua reducción de los costes de secuenciación ha ayudado a comprender mejor la variación natural de la composición de la microbiota, así como la debida a factores como la dieta, estilo de vida o tipo de nacimiento entre otros (Tropini et al., 2017).

Un método clave para el análisis de la microbiota intestinal ha sido la metagenómica, que consiste en secuenciar el material genético de todos los diferentes microorganismos de una muestra, sin requerir su cultivo. Son posibles dos métodos diferentes; la metagenómica “Shotgun” se lleva a cabo mediante la secuenciación del genoma de todos los microorganismos presentes en la muestra (bibliotecas “Shotgun”) lo que permite una descripción global de la muestra incluyendo a bacterias, virus y parásitos (Amrane et al., 2018). Utiliza cadenas aleatorias de secuencias de ADN genómico que se obtienen rompiendo el ADN total y compara las secuencias obtenidas con bases de datos de secuencias de ADN conocidas. Alternativamente, la metagenómica basada en amplicones del *gen del ARNr 16S* (bibliotecas 16S) es un método muy utilizado, ya que está presente en todas las bacterias y arqueas (Jovel et al., 2016). La región 16S es pequeña y altamente conservada, con 9 sitios hipervariables suficientes para diferenciar distintas especies bacterianas. Son regiones comunes para la identificación bacteriana la V3, V4, V6 y V8 (Jandhyala et al., 2015). La secuenciación basada en amplicones compara la secuencia de ADN amplificada por medio de un conjunto de cebadores universales con secuencias de taxones bacterianos conocidos (Malla et al., 2019).

La elección de los métodos “shotgun” o 16S para el análisis de la microbiota suele venir dictada por la naturaleza de los estudios que se realizan. Por ejemplo, el 16S es adecuado para analizar un gran número de muestras, es decir, múltiples pacientes, estudios longitudinales, etc., pero ofrece una resolución funcional limitada. Por otro lado, la metagenómica “shotgun” del genoma completo puede proporcionar estimaciones más fiables de la composición y diversidad de la microbiota debido a una mayor resolución y sensibilidad de las técnicas. Los datos combinados del Proyecto Microbioma Humano y del MetaHit han aportado hasta la fecha la visión más completa del espectro microbiano del ser humano. Estos estudios identificaron 2.172 especies en seres humanos, clasificadas en 12 filos diferentes, de los cuales el 93,5% pertenecían a *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. Tres de los 12 filos identificados contenían una sola especie aislada desde seres humanos, incluida una especie intestinal, *Akkermansia muciniphila*, la única representante conocida del filo *Verrucomicrobia* (Thursby and Juge, 2017).

Aunque la metagenómica ha permitido explorar de forma rápida y exhaustiva la composición de la microbiota intestinal, tiene sus limitaciones. Si bien estas técnicas -ómicas pueden aplicarse a prácticamente cualquier muestra biológica, la mayoría se basan en heces. El material fecal es fácil de conseguir de forma no invasiva, y permite repetir el muestreo de un individuo (Malla et al., 2019). No obstante, estas técnicas suelen aplicarse a muestras homogeneizadas y pasan por alto la heterogeneidad espacial que caracteriza el funcionamiento de este complejo ecosistema (Tropini et al., 2017). Otra limitación es que es difícil determinar si las secuencias pertenecen a microbios activos o quiescentes, sin embargo una de las alternativas es la secuenciación del ARN, conocida como metatranscriptómica que debe complementarse con el análisis de alto rendimiento centrado en las proteínas (proteómica) y en los metabolitos (metabolómica), al igual que con la información clínica y dietética, con el fin de dilucidar mecanismos que expliquen la estructura y función de la microbiota (Malla et al., 2019).

La tecnología SNG ha hecho posible el desarrollo de diversas plataformas como Roche 454 GS FLX, Illumina (MiSeq y HiSeq), Ion Torrent/IonProton/Ion Proton, y la serie SOLiD 5500. Aunque las tecnologías SNG ofrecen ventajas en cuanto a coste y eficiencia, las cortas longitudes de lectura (150-300 bp) las hacen menos apropiados para el ensamblaje del genoma y al depender de la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), 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. Por ello se han desarrollado las plataformas de secuenciación de tercera generación ó *Single-Molecule Real-Time* (SMRT) como Oxford Nanopore y Pacific Biosciences (PacBio). Oxford Nanopore se basa en la creación de poros artificiales de membrana por los cuales se hace pasar la secuencia del ácido nucleico a secuenciar. PacBio realiza la lectura de la fluorescencia emitida durante la síntesis de DNA por parte de una polimerasa inmovilizada en un pocillo microscópico, secuenciando una única molécula por pocillo en tiempo real. Ambas tecnologías reducen el tiempo, el coste, los problemas por longitud de lectura corta, las tasas de error al eliminar el sesgo

relacionado con la amplificación y son capaces de detectar directamente las modificaciones epigenéticas en el DNA (Malla et al., 2019).

Los avances en SNG y en SMRT han dado lugar a la producción masiva de datos y han permitido la secuenciación completa de genomas. El análisis de los datos obtenidos es complejo y las herramientas bioinformáticas permiten examinar tanto la composición taxonómica como funcional de los diversos metagenomas. Es deseable que dichas herramientas informáticas cuenten con características como la sencillez de uso, la accesibilidad, la disponibilidad de código abierto y la capacidad de analizar y representar los datos metagenómicos gráficamente. Entre ellos los cuatro más utilizados MG-RAST, EBI, QIIME y Mothur (Malla et al., 2019).

4. ESTABLECIMIENTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La composición de la microbiota está moldeada por diferentes condiciones ambientales y del propio huésped. En general, se cree que el desarrollo de la microbiota comienza con el nacimiento, aunque en algunos estudios se han detectado microorganismos en tejidos del útero, como la placenta. Tras el nacimiento, el tracto GI se coloniza rápidamente, y acontecimientos como las enfermedades, el tratamiento con antibióticos o cambios en la dieta entre pueden provocar cambios en la microbiota (Cheng and Ning, 2019; Shabana et al., 2018).

El modo en que nacemos también parece afectar a la composición de la microbiota, así los bebés nacidos por parto vaginal contienen una gran abundancia de *Lactobacillus spp.*, reflejo de la importante carga en la flora vaginal. Por el contrario, los bebés nacidos por cesárea presentan una disminución y un retraso en la colonización por *Bacteroides*, y están colonizados por anaerobios facultativos como *Clostridium spp.* Mientras que la microbiota fecal del 72% de los bebés nacidos por parto vaginal se asemeja a la microbiota fecal de sus madres, en los bebés nacidos por cesárea este porcentaje se reduce a sólo el 41% (Cheng and Ning, 2019).

Asimismo, el tipo de alimentación de los lactantes puede afectar a la abundancia de ciertos microorganismos. Por ejemplo, los oligosacáridos fucosilados presentes en la leche materna pueden ser utilizados por *Bifidobacterium longum* y varias especies de *Bacteroides*, lo que les permite superar a otras bacterias como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*. Mientras que la abundancia de *Bifidobacterium spp.* suele ser elevada en la microbiota de los lactantes alimentados con leche materna, se reduce en los alimentados con leche artificial. Además, la microbiota de los lactantes alimentados con leche artificial presenta una mayor diversidad y niveles alterados de otros grupos como *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* y *Lactobacilos spp* (Thursby and Juge, 2017).

En las primeras etapas del desarrollo, la microbiota suele tener poca diversidad y está dominada por dos filos principales, *Actinobacteria* y *Proteobacteria*. Durante el primer año de vida, la diversidad microbiana aumenta y la composición converge hacia un perfil microbiano similar al de los adultos. Hacia los 2,5 años de edad, la composición, la diversidad y las capacidades funcionales de la microbiota infantil se asemejan a las de la microbiota adulta (Cheng and Ning, 2019).

Como se ha mencionado estudios actuales sugieren que la dieta ejerce un gran efecto sobre la microbiota intestinal. Así niños de zonas rurales de África, con una dieta en la que predominan el almidón, la fibra y los polisacáridos vegetales, albergan una microbiota en la que abundan los filos *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. Algunos productores de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como *Prevotella*, fueron exclusivos de la microbiota de los niños africanos. En cambio, en los niños europeos, cuya dieta es rica en azúcar, almidón y proteínas animales, la abundancia de estos grupos se reduce. Una menor producción de AGCC (butirato, acetato y propionato) también es evidente en individuos sanos que consumen dicha dieta, un efecto notable ya que los AGCC desempeñan un papel importante en la salud del huésped a través de, por ejemplo, mecanismos antiinflamatorios (Thursby and Juge, 2017).

Aunque en la edad adulta la composición de la microbiota intestinal es relativamente estable, puede verse alterada por acontecimientos vitales. En las personas mayores de 65 años, la comunidad microbiana cambia, con una mayor abundancia de los filos *Bacteroidetes* y del clúster IV de *Clostridium*, en contraste con los sujetos más jóvenes, en los que el clúster XIVa (incluye productores de butirato como *Roseburia intestinalis* y *Eubacterium rectale*) es más prevalente. En cambio, en otro estudio se observó que la microbiota de una cohorte de una población joven y otra de edad avanzada (70 años) eran relativamente comparables, mientras que la diversidad de la microbiota en una cohorte de grandes ancianos se redujo significativamente (Thursby and Juge, 2017).

La microbiota de los grandes ancianos también presentaba diferencias específicas de grupo, con un incremento en la abundancia de anaerobios facultativos como *Escherichia coli*, y una modificación del tipo de microorganismos productores de butirato como un descenso de *Faecalibacterium prausnitzii*. Se ha identificado una relación significativa entre la diversidad y las condiciones de vida, tales como la vida en la comunidad o en residencias de larga estancia (Thursby and Juge, 2017).

5. BIOGEOGRAFÍA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL

La microbiota intestinal presenta diferencias espaciales y temporales en su distribución. A medida que se avanza desde el esófago hasta el recto, se observa una marcada diferencia en la diversidad y el número de bacterias, que van de 10^1 por gramo de contenido en el esófago y estómago a 10^{12} por gramo de contenido en el colon e intestino distal (Jandhyala et al., 2015).

Se ha planteado que los microorganismos que no contribuyen a funciones beneficiosas son controlados y, en ocasiones, purgados. Deben adaptarse a un determinado estilo de vida debido al número relativamente reducido de nichos bioquímicos disponibles en el intestino en comparación con otros entornos. La composición de la microbiota de una región determinada del tracto GI es reflejo de las propiedades fisiológicas y está estratificada tanto en un eje longitudinal como transversal. La densidad y la composición de la microbiota se ven afectadas por gradientes químicos, nutricionales e inmunológicos entre otros a lo largo del intestino (Thursby and Juge, 2017).

En el intestino delgado (ID), suelen existir altos niveles de oxígeno, ácidos biliares y antimicrobianos, así como un corto periodo de tránsito. (Tropini et al., 2017). Los ácidos biliares, son bactericidas para ciertas especies y moldean ampliamente la composición de la microbiota; por ejemplo, alimentar a ratones con un exceso de ácidos biliares suele estimular el crecimiento de *Firmicutes* e inhibir el de *Bacteroidetes* (Donaldson et al., 2016). Estas propiedades limitan el crecimiento bacteriano, por lo que sólo sobreviven anaerobios facultativos de crecimiento rápido capaces de adherirse a la mucosa que toleran los efectos combinados de los ácidos biliares y los antimicrobianos, al tiempo que compiten eficazmente por los hidratos de carbono simples y los aminoácidos disponibles (Tropini et al., 2017; Thursby and Juge, 2017). En el ID predominan miembros de los filos *Proteobacteria* y *Firmicutes*. El género *Streptococcus* (*Firmicutes*) parece ser el género dominante en el esófago distal, el duodeno y el yeyuno, mientras que *Helicobacter* (*Proteobacteria*) lo hace en el estómago determinando el paisaje microbiano de la microbiota gástrica; cuando *H. pylori* habita en el estómago como comensal, existe una rica diversidad constituida por otros géneros dominantes como *Streptococcus* (el más dominante), *Prevotella*, *Veillonella* y *Rothia*. Esta diversidad se reduce si *H. pylori* adquiere un fenotipo patógeno (Jandhyala et al., 2015).

En cambio, las condiciones en el colon favorecen una comunidad densa y diversa de bacterias, principalmente anaerobias (Tropini et al., 2017; Thursby and Juge, 2017). Concentraciones más bajas de antimicrobianos, un tiempo de tránsito más lento y la falta de hidratos de carbono simples facilitan el crecimiento de microorganismos anaerobios capaces de degradar hidratos de carbono complejos, en especial los de las familias más abundantes *Bacteroidaceae* y *Clostridiaceae* (Tropini et al., 2017; Donaldson et al., 2016).

Además de esta diferencia longitudinal, diversos factores del huésped determinan las diferentes comunidades microbianas a través del eje transversal del intestino (Fig. 1).

Los filos predominantes que habitan en el colon son *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Además de especies de dichos filos, también existen patógenos primarios como por ejemplo *Campylobacter jejuni*, *Salmonella entérica*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli*, y *Bacteroides fragilis*, pero con una abundancia baja (0,1% o menos de todo la microbiota). La abundancia del filo *Proteobacteria* es marcadamente baja; y su ausencia junto con la alta abundancia de géneros como *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* sugiere una microbiota intestinal sana (Jandhyala et al., 2015).

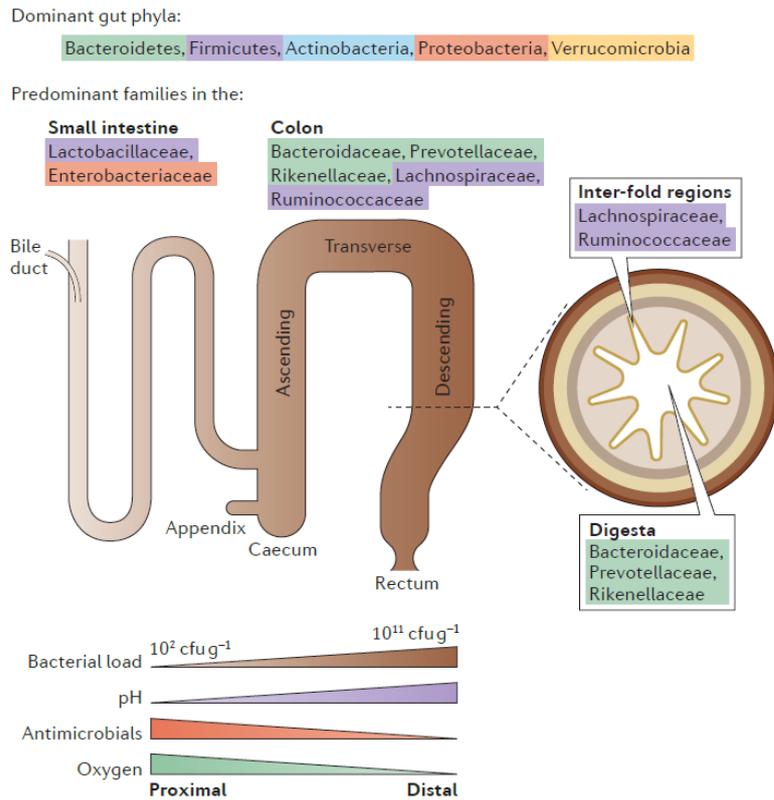


Figura 1. Hábitats microbianos en el tracto gastrointestinal inferior humano. Los filos dominantes en el intestino son *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Las familias bacterianas dominantes del ID y del colon reflejan diferencias fisiológicas a lo largo del intestino. Así, un gradiente de oxígeno, péptidos antimicrobianos (incluidos los ácidos biliares, secretados por el conducto biliar) y el pH limitan la densidad bacteriana en el ID, sin embargo, en el colon se observa una alta carga bacteriana. En el ID, 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*. En la sección transversal del colon se puede observar una zona luminal en la que predominan las *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*, y una zona entre los pliegues del lumen en la que predominan las *Lachnospiraceae* y las *Ruminococcaceae* (Adaptado de Donaldson et al., 2016).

La capa de moco, las criptas y el apéndice son sitios anatómicos privilegiados, protegidos de la corriente fecal y accesibles solo para ciertos microorganismos. Las regiones entre los pliegues contienen mayor cantidad de moco y junto con la glicosilación de las mucinas esto hace que sean clave en la selección de las especies más óptimas para mediar en la salud del huésped (Donaldson et al., 2016). A medida que nos acercamos a la mucosa, las bacterias que utilizan mucina como *A. muciniphila* y algunos *Bacteroides spp.* se concentran en la capa externa de moco (Fig. 2). Más cerca de la mucosa, un gradiente de oxígeno selecciona taxones aerotolerantes, como *Proteobacteria* y *Actinobacteria* (Tropini et al., 2017). En general la abundancia de *Bacteroidetes* como *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae* y *Rikenellaceae* parece ser mayor en las muestras luminales que en la mucosa. Sin embargo, *Firmicutes* abunda en la capa mucosa: Cluster

XIVa de *Clostridium*, *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* se encuentran altamente concentradas en las criptas (Thursby and Juge, 2017; Donalson, et al., 2016).

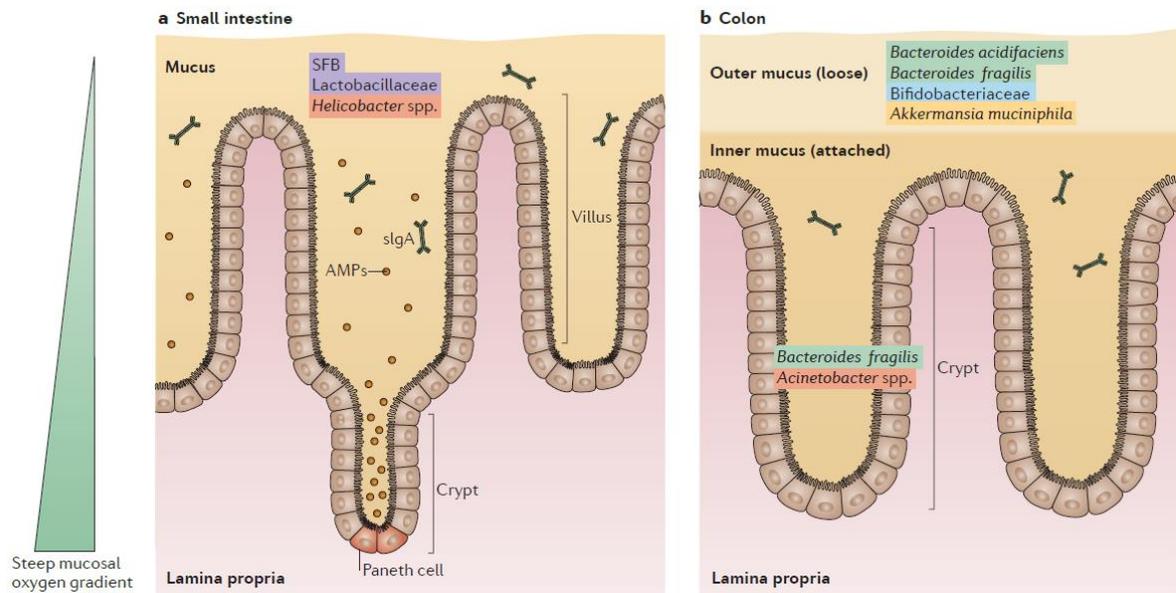


Figura 2. Las mucosas del intestino delgado y del colon. Factores como la capa mucosa del ID y del colon; los péptidos antimicrobianos del ID (incluidos los producidos por las células de Paneth en la base de las criptas), la slgA tanto en el ID como en el colon; y un marcado gradiente de oxígeno dificultan la capacidad de las bacterias intestinales para acceder a las células del huésped (Adaptado de Donalson et al., 2016).

6. VARIACIÓN GLOBAL DE LOS METAGENOMAS INTESTINALES. ENTEROTIPOS

La microbiota intestinal varía considerablemente de un individuo a otro en función de variables como el tiempo o el espacio, lo que se ha considerado un obstáculo para las aplicaciones médicas basadas en la microbiota intestinal. En 2011 se ha planteado el concepto de "microbiota central", o enterotipo para describir al conjunto de microorganismos más abundantes presentes en todos los individuos (Arumugam et al., 2011). La finalidad de establecer enterotipos consiste en clasificar la microbiota intestinal humana, con el fin de reducir la dimensionalidad y la variación global a unas pocas categorías (Cheng and Ning, 2019; Thursby and Juge, 2017). Un análisis multidimensional de 33 muestras de distintas nacionalidades reveló la presencia de tres enterotipos identificables gracias a variaciones en la presencia de cada uno de estos tres géneros: El enterotipo 1, con gran abundancia de *Bacteroides*; el enterotipo 2, con gran abundancia de *Prevotella*; y el enterotipo 3, con gran abundancia de *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011; Cheng and Ning, 2019).

Las bacterias pertenecientes al Enterotipo 1 tienen un amplio potencial sacarolítico, cuentan con genes que codifican enzimas como proteasas, hexosaminidasas y

galactosidasas. Estos organismos probablemente obtendrán energía de los carbohidratos y las proteínas de la dieta. El Enterotipo 2 se comporta predominantemente como degradador de las glicoproteínas de mucina, y el Enterotipo 3 también está asociado a la degradación de la mucina, además del transporte de azúcares a través de la membrana. Los enterotipos también poseen otras funciones metabólicas específicas así la síntesis de biotina, riboflavina, pantotenato y ascorbato es más abundante en el enterotipo 1, mientras que la síntesis de tiamina y folato es más predominante en el enterotipo 2 (Jandhyala et al., 2015).

Como se ha comentado la composición exacta de la microbiota intestinal aún no se ha dilucidado, pero se sabe claramente que los cambios en la dieta, el estilo de vida, cualquier intervención quirúrgica entre otros modifican su composición (Sabana et al., 2018). En cuanto a la relación con la dieta se ha visto que el enterotipo *Bacteroides* predomina en las dietas caracterizadas por el consumo de carne basadas en proteínas y grasas animales, típicas de una dieta occidental, mientras que el enterotipo *Prevotella* prefiere los carbohidratos y los azúcares simples, que son típicos de la dieta basada en carbohidratos en las sociedades agrarias (Cheng and Ning, 2019).

Sin embargo, la composición no puede proporcionar por sí sola información sobre la función de dicha comunidad. En contraste con la composición altamente divergente de la microbiota intestinal, los perfiles genéticos funcionales muestran una gran similitud entre individuos y constituyen un "microbioma central funcional", el cual puede no estar correlacionado con la abundancia de especies dentro de los enterotipos, por ello un reto clave en la investigación de la microbiota consiste en identificar aquellos microbios de la comunidad que tienen funciones similares y pueden sustituirse entre sí (Sabana et al., 2018). Además, las pruebas en torno a la existencia y formación de estos enterotipos son controvertidas al observar más similitud en el conjunto de genes microbianos entre individuos que en el perfil taxonómico, lo que sugiere que la microbiota central puede definirse mejor a nivel funcional que a nivel de microorganismo (Thursby and Juge, 2017).

Al utilizar más estudios centrados en la estratificación de la microbiota intestinal, se ha observado que el número de enterotipos varía cuando se emplean diferentes métodos incluso en las mismas muestras. Otros estudios han confirmado que las muestras solo pueden estratificarse en dos enterotipos representados por *Bacteroides* y *Prevotella*. Por tanto, queda por considerar si el enterotipo *Ruminococcus* debe abandonarse debido a su menor importancia entre las muestras (Cheng and Ning, 2019).

En principio, se pensaba que los enterotipos se podían separar claramente en grupos distintos (Fig. 3). Sin embargo, varios estudios han indicado que esto no es así. Cuando se observó el gradiente de la relación logarítmica entre *Bacteroides* y *Prevotella*, se esperaba que los enterotipos mostraran una brecha obvia en el gradiente, estratificando así estas muestras en grupos. Sin embargo, en la mayoría de los casos se observó un gradiente continuo.

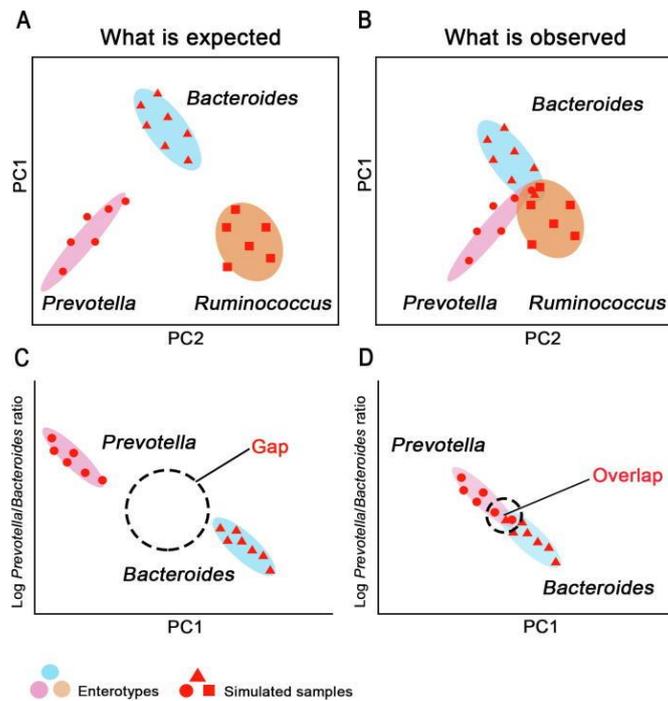


Figura 3. Los enterotipos podrían ser continuos más que discretos. Se estima que la distribución de los enterotipos es continua cambiando de tipos de microbiota impulsados por *Bacteroides* a tipos donde *Prevotella* es dominante (Adaptado de Cheng and Ning, 2019).

Dado que los enterotipos se definen en función de la microbiota intestinal y que ésta cambia rápidamente en respuesta a intervenciones tales como la ingesta dietética y la administración de antibióticos, sería concebible pensar que los enterotipos no son constantes. Sin embargo, la variación en la composición de la microbiota a corto plazo de menos de un mes puede no ser suficiente para cambiar el enterotipo, debido a la reversibilidad y a la relativa estabilidad de la microbiota intestinal. Un estudio de alimentación controlada con 10 sujetos ha demostrado que dicho cambio se observa tras 24 h de la ingesta de una dieta alta en grasas/baja en fibra o baja en grasas/alta en fibra, pero los enterotipos permanecen estables durante los 10 días de intervención dietética (Cheng and Ning, 2019).

Aunque el ajuste de la dieta a corto plazo podría no ser capaz de cambiar el enterotipo, se ha observado que la dieta a largo plazo se asocia significativamente con los patrones de enterotipo. Durante los cambios ambientales a largo plazo, la composición de la microbiota intestinal de un individuo está principalmente determinada por los hábitos alimenticios y dicha dinámica es muy variable entre los individuos. Aun así, se desconoce si las intervenciones dietéticas a largo plazo, que se extienden durante varios meses, pueden provocar cambios estables en los enterotipos (Cheng and Ning, 2019).

Durante las diferentes etapas de la edad factores como la dieta, el estilo de vida o el estrés ambiental varían, por lo que la edad es una combinación de factores que influye

en gran medida en los enterotipos. En niños en edad escolar son diferentes a los mencionados en adultos y se han descrito tres enterotipos diferentes impulsados por *Bacteroides*, *Prevotella* y *Bifidobacterium*. En personas mayores de 65 años la microbiota central de los ancianos es bastante diferente de la de los adultos jóvenes, con una mayor proporción de *Bacteroides spp.* y distintos patrones de abundancia de *Clostridium spp.* La microbiota intestinal de lactantes y ancianos es muy dinámica, por lo que no es adecuada para el análisis de un «estado estable» (Cheng and Ning, 2019).

A medida que pasa el tiempo se observó que en una muestra de tres cohortes de sujetos que contenían tres enterotipos diferentes al principio, la composición de su microbiota intestinal cambiaba, pero el alcance de este cambio no era suficiente para cambiar los enterotipos. Sin embargo en otro estudio la muestra intestinal de un sujeto cambió del enterotipo original de *Ruminococcus* al enterotipo de *Bacteroides*, mientras que la muestra intestinal de otro sujeto cambió del enterotipo *Bacteroides* al enterotipo *Prevotella*. Después de un cierto período de tiempo, los enterotipos de estos sujetos cambiaron por completo. Por lo tanto debido a su inestabilidad, parece inapropiado clasificar a las personas simplemente según sus enterotipos, aunque el monitorizar la variación del enterotipo de los individuos a intervalos de tiempo frecuentes puede ser de utilidad. A pesar de su correlación significativa con algunas enfermedades, los enterotipos podrían no ser apropiados para predecir el riesgo de enfermedad por lo que se necesitan más investigaciones para probar la viabilidad de usar enterotipos como biomarcadores (Cheng and Ning, 2019).

7. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota intestinal ejecuta diversas funciones que el cuerpo humano es incapaz de realizar, dando lugar a una relación simbiótica entre ambos. Entre ellas se incluyen diferentes funciones metabólicas, el mantenimiento de la integridad intestinal, la protección frente a patógenos, la eliminación de toxinas y carcinógenos o la regulación del sistema inmune (Shabana et al., 2018; Malla et al., 2017; Thursby and Juge, 2017).

Metabolismo.

La microbiota intestinal obtiene sus nutrientes en gran parte de hidratos de carbono no digeridos en el ID gracias a microorganismos del colon como *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium*. Esto da lugar a la síntesis de AGCC como el butirato, el propionato y el acetato, los cuales además de importantes fuentes de energía evitan la acumulación de subproductos metabólicos potencialmente tóxicos como el caso del butirato que evita la acumulación de lactato. Por otra parte, como resultado de la fermentación de carbohidratos se sintetiza oxalato, que es contrarrestado en el intestino por microorganismos como *Oxalobacter formigenes*, especies de *Lactobacillus* y de *Bifidobacterium*, reduciendo así el riesgo de formación de cálculos de oxalato en el

riñón (Jandhyala et al., 2015). Bacterias del género *Bacteroides* contribuyen al metabolismo de los carbohidratos con hidrolasas, transferasas y liasas. Llama la atención que *Bacteroides thetaiotaomicron* posee un genoma que codifica más de 260 hidrolasas, cifra muy superior a la codificada por el genoma humano.

Como se observa en la Figura 4, 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 dando lugar a la secreción de diversos péptidos implicados en el metabolismo de la glucosa o la ingesta de alimentos, como el péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) o el péptido YY (PYY). Esto contribuye a reducir la ingesta de alimentos y acelera el metabolismo de la glucosa. El butirato también activa el PPAR- γ (receptores activados por proliferadores de peroxisomas), provocando la beta-oxidación de ácidos grasos y el consumo de oxígeno; fenómeno que contribuye a mantener la condición anaeróbica en la luz intestinal. Cambios en el microbioma intestinal inducidos por desórdenes metabólicos dan lugar a un menor grosor del moco y a una menor producción de butirato y propionato. Las células L-enteroendocrinas secretan menos péptidos intestinales y la no activación de PPAR- γ conduce a una mayor disponibilidad de oxígeno aumentando la proliferación de *Enterobacteriaceae*. Estos cambios inducen el paso del LPS a la sangre dando lugar a una inflamación de bajo grado (Cani, 2018).

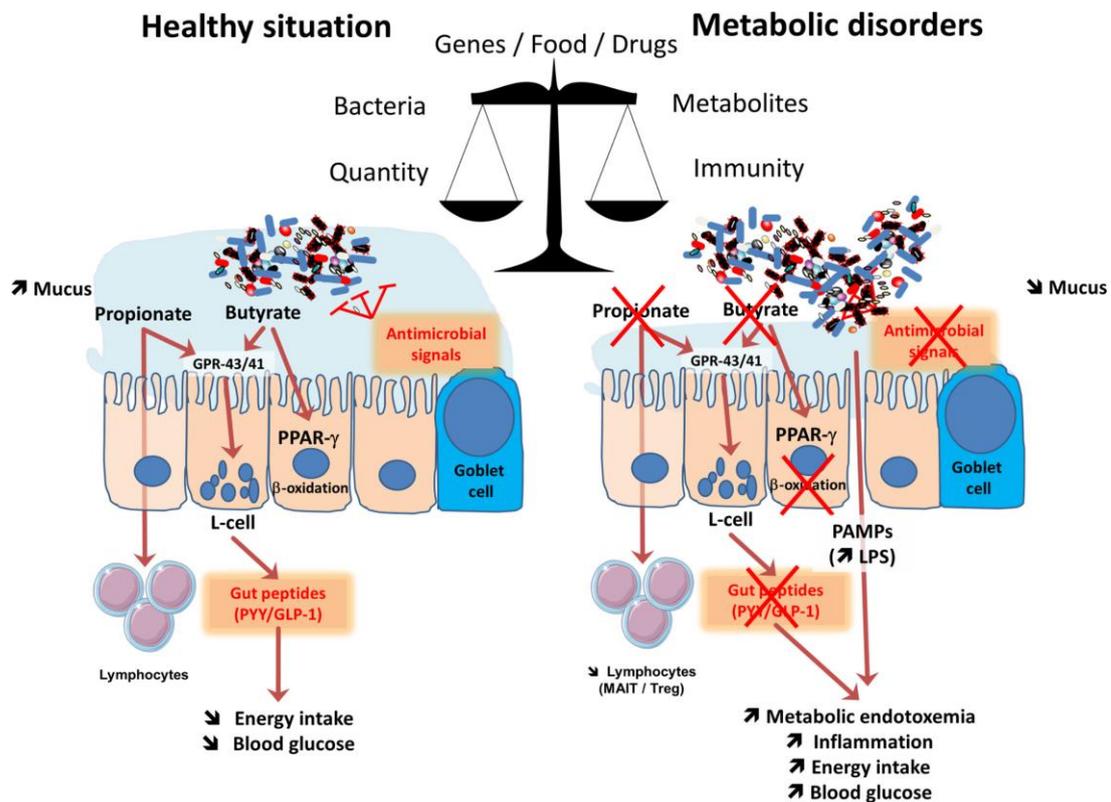


Figura 4. Comunicación entre microbiota y huésped y su impacto en el metabolismo en la salud y en desórdenes metabólicos. (Adaptado de Cani, 2018)

La síntesis de vitamina K y de varios componentes de la vitamina B es otra de las principales funciones metabólicas de la microbiota intestinal. La microbiota intestinal 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, los cuales indican un metabolismo de mayor energía (Jandhyala et al., 2015).

En cuanto al metabolismo de las proteínas, diversas peptidasas microbianas participan en la conversión de ciertos aminoácidos en péptidos antimicrobianos y pequeñas moléculas de señalización. Algunos ejemplos importantes son la conversión de L-histidina en histamina por la enzima bacteriana histamina descarboxilasa; y la conversión de glutamato en ácido γ -aminobutírico (GABA) por la enzima bacteriana glutamato descarboxilasa (Jandhyala et al., 2015).

La microbiota intestinal también ejerce un impacto positivo en el metabolismo de los lípidos al suprimir la inhibición de la actividad de la lipoproteína lipasa en los adipocitos. Miembros del género *Bacteroides* sintetizan ácido linoleico conjugado, que ha demostrado propiedades antidiabéticas, antiaterogénicas, antiobesogénicas, hipolipidémicas e inmunomoduladoras. Además, se ha observado que ciertas bacterias, como *Bacteroides intestinalis*, y en cierta medida *B. fragilis* y *E. coli* pueden desconjugar los ácidos biliares primarios y convertirlos en ácidos biliares secundarios como el ácido desoxicólico y el ácido litocólico (Jandhyala et al., 2015).

La microbiota intestinal también participa en la descomposición de varios polifenoles que se consumen en la dieta, polifenoles que permanecen inactivos en la dieta pero que se biotransforman en compuestos activos tras la eliminación de la fracción de azúcar por la microbiota intestinal (Jandhyala et al. 2015).

Metabolismo de xenobióticos y fármacos

La microbiota intestinal desempeña un papel importante en el metabolismo de los xenobióticos, lo que podría repercutir profundamente en el tratamiento de diversas enfermedades. Estudios recientes han demostrado que el “p-cresol”, un metabolito de la microbiota intestinal, puede reducir la capacidad del hígado para metabolizar el paracetamol. Otro ejemplo interesante de metabolismo de fármacos inducido por la microbiota es la desconjugación del fármaco anticancerígeno Irinotecán mediante la actividad de la β -glucuronidasa microbiana, lo que puede contribuir a la aparición de toxicidades como la diarrea, la inflamación o la anorexia (Jandhyala et al., 2015).

Integridad de la barrera intestinal y estructura del tracto gastrointestinal

Varios factores clave contribuyen a evitar la translocación de microbioorganismos desde la luz intestinal hacia el cuerpo. La microbiota intestinal interactúa constantemente con las células epiteliales intestinales (CEI); sin embargo la función barrera es altamente eficiente debido a diversos mecanismos que incluyen factores físicos (capas epitelial y

mucosa), bioquímicos (enzimas y proteínas antimicrobianas) e inmunológicos (IgA y células inmunitarias asociadas al epitelio) (Cani, 2018; Thursby and Juge, 2017).

Uno de los mecanismos más simples de protección antimicrobiana consiste en el mantenimiento por parte de las células caliciformes de una adecuada capa de moco que mantenga a los microorganismos lumenales alejados del epitelio. Estas células también producen una serie de factores que pueden estabilizar los polímeros de mucina y, por lo tanto, preservar la integridad de la barrera. La microbiota intestinal también puede modular los patrones de glicosilación de la mucosa, que son sitios de adhesión microbiana. Por ejemplo, *B. thetaiotaomicron* secreta una molécula de señalización que puede estimular la expresión de fucosa en la superficie celular (Jandhyala et al., 2015).

En cuanto al mantenimiento de la arquitectura de la mucosa intestinal la microbiota intestinal contribuye al desarrollo estructural induciendo el factor de transcripción angiogenina-3, implicado en el desarrollo de la microvasculatura intestinal. Se ha descrito que *B. thetaiotaomicron* induce la expresión de la proteína rica en prolina Sprr2A, proteína necesaria para el mantenimiento de los desmosomas en las vellosidades epiteliales. Otro ejemplo de mecanismo que mantiene las uniones estrechas es la señalización mediada por un receptor tipo Toll (TLR) 2, que reconoce al peptidoglicano de la pared celular microbiana (Jandhyala et al., 2015).

El sistema endocannabinoide es otra entidad que regula el mantenimiento de la barrera intestinal a través de la microbiota intestinal. Así, *A. muciniphila* puede aumentar los niveles endocannabinoideos que controlan las funciones de la barrera intestinal al disminuir la endotoxemia metabólica (Jandhyala et al., 2015).

Protección antimicrobiana

Para una correcta homeostasis, el sistema inmune de la mucosa intestinal debe ser tolerante con los microorganismos comensales y controlar el crecimiento excesivo de cepas patógenas. Esto se logra mediante la inducción de inmunoglobulinas locales o el consumo de oxígeno por parte de las CEI, que oxidan el butirato. Esta oxidación crea un ambiente anaeróbico en el compartimento luminal, lo cual es necesario para prevenir la expansión de patógenos como *Salmonella* (Cani, 2018).

Se ha demostrado que la microbiota intestinal, especialmente los gramnegativos como *Bacteroides*, activan a las células dendríticas en la mucosa intestinal, que a su vez, inducen a las células plasmáticas a expresar Inmunoglobulina A secretora (sIgA). La sIgA puede a su vez recubrir la microbiota intestinal, especialmente la subclase sIgA2 que es más resistente a la degradación por proteasas bacterianas. Además, las CEI producen un ligando inductor de proliferación (APRIL) que favorece el cambio de clase de la mucosa intestinal de un fenotipo sIgA1 a sIgA2. Estos mecanismos trabajan en conjunto para restringir la translocación de la microbiota de la luz intestinal hacia la circulación, evitando así una respuesta inmune sistémica (Jandhyala et al., 2015).

En el ID donde la capa de moco es discontinua, la secreción de proteínas antimicrobianas (AMPs) por las células de Paneth mediada por el receptor de reconocimiento de patrones (PRR) juegan un papel importante y al residir las células de Paneth en la base de las criptas del ID, la concentración de AMPs ahí es máxima.

En el ID donde la capa de moco es discontinua, las células de Paneth desempeñan un papel importante en la secreción de proteínas antimicrobianas (AMPs) a través de la activación del receptor de reconocimiento de patrones (PRR). Estas células residen en la base de las criptas del ID, lo que resulta en una concentración máxima de AMPs en esa área. Los PRR son activados por patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), como el peptidoglicano, el lipopolisacárido (LPS), el lípido A, los flagelos, el ARN/ADN bacteriano o los β -glucanos de la pared celular fúngica (Jandhyala et al., 2015; Cani, 2018). La interacción entre los PRR y los MAMP activa varias vías de señalización que son esenciales para promover la función de barrera de la mucosa, así como la producción de AMPs, glicoproteínas de mucina e IgA (Jandhyala et al., 2015).

7.5 Inmunomodulación

La microbiota intestinal contribuye a la inmunomodulación intestinal junto con el sistema inmune innato y adaptativo. El sistema inmune de las mucosas debe ser tolerante con la microbiota para evitar la inducción de una respuesta inmune sistémica excesiva y dañina. Los componentes y los tipos de células que participan en este proceso inmunomodulador incluyen los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), las células T efectoras y reguladoras, las células B productoras de IgA, las células linfoides innatas del grupo 3 (ILC3) y los macrófagos y las células dendríticas presentes en la lámina propia. Estas células inmunes están en contacto con el resto del sistema inmune a través de los ganglios linfáticos mesentéricos locales (Jandhyala et al., 2015).

La microbiota intestinal desempeña un papel clave en la modulación de las diversas respuestas inmunes especialmente a través de la modulación de células T reguladoras. Un ejemplo de esto lo constituye el polisacárido A de la capsula de *B. fragilis*, que estimula la producción de la interleucina (IL) 10 por las células T reguladoras a través de las células presentadoras de antígenos. Además, las bacterias filamentosas segmentadas se intercalan entre las microvellosidades de las CEI estimulando el desarrollo de las células T helper (TH17)17, que desempeñan un papel importante en la inmunidad de la mucosa contra patógenos extracelulares (Donaldson et al., 2016).

En la misma línea, los AGCC pueden promover el desarrollo de células T reguladoras en el intestino; especialmente el butirato, que es capaz de activar GPR expresados por las CEI y regular las células T reguladoras mediante mecanismos epigenéticos (Malla et al., 2017; Jandhyala et al., 2015). Por su parte, el propionato estimula a las células inmunes a producir factores antimicrobianos y, por tanto, puede actuar como un regulador inmune, incluyendo una reducción de la proliferación de células cancerosas (Cani, 2018).

8. FACTORES QUE DETERMINAN EL CÁNCER COLORRECTAL

El CCR, conocido por su alta morbilidad y mortalidad es la tercera neoplasia más frecuente en todo el mundo y constituye la segunda causa de muerte por cáncer (Cao et al., 2022; Cheng, et al., 2020; Chew et al., 2020).

La etiología del CCR es compleja e intervienen diversos factores. Aproximadamente entre el 60-65% de los casos surgen esporádicamente a través de alteraciones somáticas genéticas y epigenéticas atribuibles a factores de riesgo potencialmente modificables (Fig. 5) (Cao et al., 2022; Keum and Giovannucci, 2019). El CCR también tiene un componente hereditario; estudios en gemelos han estimado que la heredabilidad es del 35-40%. Entorno al 25% tienen antecedentes familiares de CCR sin síndrome de cáncer hereditario evidente. Sólo el 5% es atribuible a síndromes de cáncer hereditario como la poliposis adenomatosa familiar (PAF) o el síndrome de Lynch entre otros, los cuales son causados por mutaciones heredadas en línea germinal en genes de alta penetrancia que en su mayoría siguen un patrón autosómico dominante. Y una proporción sustancial de los CCR agrupados en familias ocurren a través de aberraciones genómicas adquiridas, lo que apunta a la importancia de los factores de riesgo ambientales en la modulación del riesgo de CCR (Cheng et al., 2020; Keum and Giovannucci, 2019).

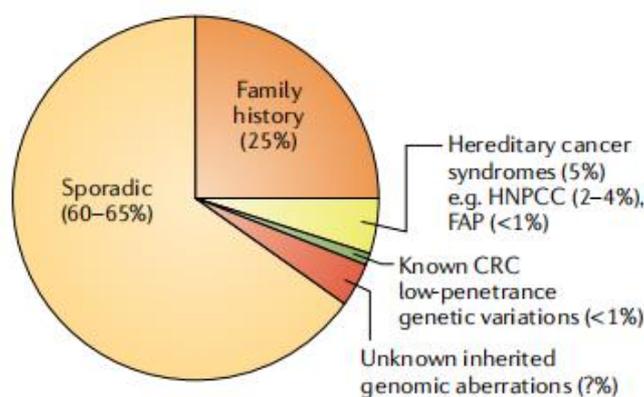


Figura 5. Proporción de casos de CCR asociados a factores esporádicos y hereditarios. (Adaptado de Keum and Giovannucci, 2019)

En cuanto a los factores de riesgo no modificables, encontramos que las tasas de desarrollo y muerte por CCR aumentan rápidamente después de los 50 años, y se estima que la mayor parte de los casos y muertes mundiales se producen después de esta edad. En cuanto al sexo, se observa que las tasas ajustadas por edad son más elevadas en hombres que en mujeres, estos no se benefician del efecto protector de los estrógenos, y suelen estar más expuestos a factores de riesgo ambientales como patrones dietéticos

deficientes, bebidas alcohólicas, tabaquismo, y en general, aceptan peor el cribado del CCR basado en muestras fecales (Keum and Giovannucci, 2019).

En cuanto a la genética del cáncer, la carcinogénesis colorrectal engloba tres aberraciones genéticas y epigenéticas principales; la inestabilidad cromosómica (CIN), que se caracteriza por anomalías en el número y estructura de los cromosomas debido a posibles errores durante la mitosis; el fenotipo metilador de islas CpG (CIMP), el cual se refiere a la hipermetilación de dinucleótidos CG repetitivos en regiones promotoras de genes supresores de tumores; y la inestabilidad de microsatélites (MSI) que implica alteraciones en la longitud de los microsatélites debido a la pérdida de función de genes reparadores de ADN, siendo la hipermetilación del promotor la principal causa del silenciamiento génico (Keum and Giovannucci, 2019).

Durante la carcinogénesis colorrectal, estas aberraciones moleculares se acumulan de forma no aleatoria, observándose CIN, CIMP y MSI positivo en aproximadamente el 85%, el 20% y el 15% de los CCR esporádicos, respectivamente. Aunque estos fenotipos moleculares tienen características distintas, no se excluyen mutuamente. En particular, CIMP y MSI están correlacionados, ya que la hipermetilación de islas CpG inactiva los genes reparadores de errores en el ADN y conduce a altos niveles de MSI. Aproximadamente el 70% de los CCR con altos niveles de MSI también presentan altos niveles de CIMP (Keum and Giovannucci, 2019).

Una característica clave de la carcinogénesis de la mayoría de los CCR es la presencia de una lesión precursora benigna, definida como pólipo. Los pólipos adenomatosos y los pólipos serrados son dos subtipos principales que actúan como precursores directos de la mayoría de los CCR (Keum and Giovannucci, 2019).

El CCR se desarrolla a través de tres vías carcinogénicas diferentes (Fig. 6): la secuencia adenoma-carcinoma, la vía serrada y la vía inflamatoria. La secuencia adenoma-carcinoma constituye la vía clásica, que explica la mayoría de los CCR esporádicos y se asocia predominantemente con CIN positivo. En esta vía, la acumulación gradual y escalonada de alteraciones genéticas y epigenéticas impulsa la transformación de células normales en adenoma pequeño, en adenoma grande y, finalmente, en cáncer. La segunda vía más frecuente es la vía serrada, que representa el 10-15% del CCR esporádico. Este modelo destaca por la progresión de células normales a pólipo hiperplásico, a adenoma serrado sésil, y finalmente a cáncer. Por último se ha sugerido la inflamación crónica como otra vía carcinogénica, que explica menos del 2% de todos los CCR. Se ha observado que pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), y en mayor medida la colitis ulcerosa, presentan un riesgo 2,4 veces mayor de CCR que la población general. En estos pacientes, la carcinogénesis progresa de ausencia de displasia a displasia indefinida, a displasia de bajo grado, a displasia de alto grado, y finalmente a cáncer. La displasia que surge en el fondo de una inflamación crónica se presenta con frecuencia en una mucosa plana con multifocalidad, lo que dificulta la detección de las lesiones (Keum and Giovannucci, 2019).

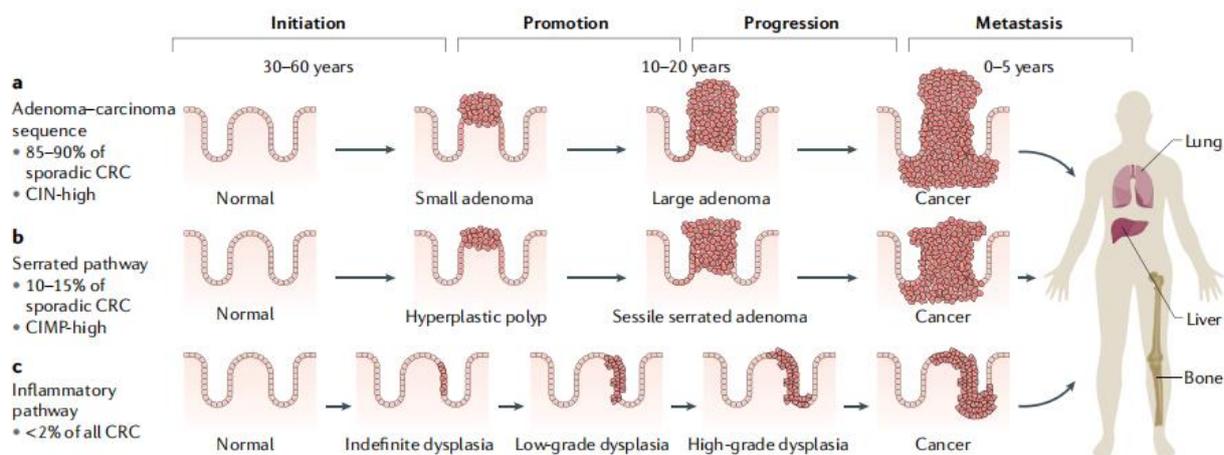


Figura 6. Vías de la carcinogénesis colorrectal. La carcinogénesis colorrectal ocurre a través de cuatro etapas: iniciación, promoción, progresión y metástasis. La iniciación implica un daño genético irreversible que predispone a las células afectadas a una posterior transformación neoplásica. En la fase de promoción, las células iniciadas proliferan, induciendo un crecimiento anormal (neoplasia). En la fase de progresión, a partir de nuevas alteraciones genéticas y epigenéticas, las células podrían obtener una ventaja selectiva en el crecimiento, las células tumorales benignas se transforman en células cancerosas malignas y adquieren características agresivas y potencial metastásico. La metástasis se caracteriza por la propagación de las células cancerosas desde el órgano primario a otros órganos o tejidos a través del torrente sanguíneo o el sistema linfático (Adaptado de Keum and Giovannucci, 2019).

9. PAPEL DE LA DIETA Y ESTILO DE VIDA EN EL CÁNCER COLORRECTAL

Como se ha comentado anteriormente los factores de riesgo ambientales promueven la adquisición y acumulación de alteraciones somáticas-genéticas y epigenéticas por lo que son los principales contribuyentes al desarrollo del CCR (Cao et al., 2022).

En general, la industrialización y el crecimiento económico conducen a un patrón dietético occidental poco saludable (con alto consumo de carne roja y procesada, bebidas azucaradas, cereales refinados, postres, etc.), un estilo de vida sedentario y un aumento de la obesidad, todos ellos factores de riesgo importantes para el CCR como se ha publicado en el informe del Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer (WCRF) y del Instituto Estadounidense de Investigación del Cáncer (AICR), basado en una revisión sistemática de estudios a nivel mundial (Keum and Giovannucci, 2019).

Los mecanismos biológicos que vinculan los patrones dietéticos con el CCR requieren un enfoque multifacético, lo que refleja una compleja interacción de varios componentes dietéticos. Patrones dietéticos desequilibrados, generan sustancias procancerígenas, como los ácidos biliares secundarios atribuibles al consumo de grasa, los compuestos N-nitrosos (NOC), o el sulfuro de hidrógeno (H₂S) entre otros. Por ejemplo, la carne roja y procesada podría contribuir directamente al CCR a través del hierro hemo; los NOC de la carne procesada a través de la alquilación del ADN; los ácidos biliares secundarios a

través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) causando daño oxidativo en el ADN; y las aminas heterocíclicas e hidrocarburos aromáticos policíclicos que se forman con la cocción de la carne a alta temperatura (Lee et al., 2022). Según un metaanálisis realizado por WCRF-AICR, cada aumento de 100 g al día en la ingesta de carne roja y procesada se asoció un aumento del 12 % en el riesgo de CCR con una asociación más fuerte con esta última (Cheng et al., 2020; Keum and Giovannucci, 2019). Otro ejemplo es el alto consumo de proteínas, que aumenta los NOC y el H₂S en el colon. El H₂S producido por las bacterias reductoras de sulfato induce daños en el ADN a través de ROS, ruptura de la barrera intestinal e inhibe la oxidación del butirato (Cheng et al., 2020).

La obesidad, que aumenta el riesgo de CCR en un 19 %, ha sido reconocida como factor de riesgo importante para el CCR. Un informe encontró que por cada aumento de 5 kg/m² en el índice de masa corporal, el riesgo de CCR aumenta en 5 % (Cheng et al., 2020). El exceso de adiposidad es un factor de riesgo establecido para el CCR, así un aumento del perímetro abdominal en torno a 10 cm se ha asociado con un aumento del riesgo de CCR del 4%. El tejido adiposo visceral en comparación con el tejido adiposo subcutáneo, está más infiltrado por células inmunitarias, secreta más adipocinas proinflamatorias y menos adiponectina (hormona sensibilizante a la insulina). Todo ello contribuye al desarrollo de inflamación sistémica crónica de bajo grado y a la resistencia a la insulina. Las condiciones inflamatorias en el microambiente del tumor promueven el crecimiento y la progresión del tumor, como ejemplifica el CCR inducido por colitis. La resistencia a la insulina y la subsiguiente hiperinsulinemia conducen a un aumento del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF1), y se ha sugerido que la vía de señalización de la insulina-IGF1 promueve el CCR al aumentar la proliferación celular y disminuir la apoptosis (Keum and Giovannucci, 2019). Con el envejecimiento, los adipocitos se convierten en el sitio principal para la producción de estrógenos tras la menopausia en las mujeres, mientras que con la adiposidad en los hombres los niveles de testosterona disminuyen. Por lo tanto, la relación positiva entre la obesidad y el riesgo de CCR podría atenuarse en mujeres postmenopáusicas con un aumento de estrógenos debido al exceso de adiposidad, pero amplificarse en hombres con una disminución de la testosterona (Keum and Giovannucci, 2019).

En cuanto al consumo de fibra dietética insoluble, encontramos que los cereales integrales están inversamente relacionados con la incidencia y la mortalidad por CCR. Se piensa que la fibra reduce la exposición de las CEI a carcinógenos de la luz intestinal al disminuir el tiempo de tránsito y aumentar el volumen fecal. Otro mecanismo ya comentado implica la interacción con la microbiota intestinal a través de la producción de AGCC (Keum and Giovannucci, 2019). Los AGCC, especialmente el butirato, pueden reducir significativamente el pH fecal en el colon, lo que inhibe la proliferación de bacterias patógenas y el daño del ADN, mejora la apoptosis y previene la proliferación de las células cancerosas. El butirato puede inhibir la actividad de las histonas deacetilasas en los colonocitos y en las células inmunitarias, dando lugar a una

reducción de los niveles de las citocinas proinflamatorias y la inducción de la apoptosis de las células del CCR (Wong and Yu, 2019).

A pesar de la fuerte relación existente entre la ingesta de fibra y el riesgo de CCR, se han obtenido resultados divergentes según el tipo de fibra. Así, en un metaanálisis de estudios observacionales prospectivos, la fibra de cereales se asoció inversamente con el riesgo de CCR pero no en el caso de las fibras de frutas, verduras y legumbres. Reflejando la incertidumbre, el informe sobre el CCR de WCRF-AICR rebajó el nivel de evidencia que respalda el papel protector de la fibra dietética de 'convinciente' en 2011 a 'probable' en 2017, y añadió el grano entero como un factor de protección probable (Keum and Giovannucci, 2019).

El consumo de alcohol, incluso leve (una bebida alcohólica al día) es otro factor de riesgo establecido para el CCR. El etanol luminal es metabolizado por la alcohol deshidrogenasa microbiana en acetaldehído (evaluado como cancerígeno para los humanos por la Agencia Internacional para la Investigación), el cual provoca lesión de la mucosa y proliferación celular regenerativa. Una vez ingresa a las CEI, se acumula debido a la baja actividad de la alcohol deshidrogenasa de la mucosa colónica. El acetaldehído intracelular podría promover la carcinogénesis colorrectal al causar daños en el ADN y destruir el folato intracelular, necesario para la síntesis y metilación adecuada del ADN (Keum and Giovannucci, 2019).

El humo del cigarrillo contiene una mezcla de compuestos que pueden inducir alteraciones genéticas y epigenéticas. Los carcinógenos del tabaco, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, forman aductos de ADN que provocan daños irreversibles. Las alteraciones epigenéticas parecen contribuir de manera importante al CCR. En fumadores se han observado cambios extensos en los patrones de metilación del ADN en comparación con los que nunca han fumado (Keum and Giovannucci, 2019).

El CCR es uno de los pocos cánceres para los que la falta de actividad física se reconoce como factor de riesgo. La actividad física podría reducir el riesgo de CCR a través de sus efectos beneficiosos sobre la motilidad intestinal, el sistema inmunitario, la inflamación y las hormonas metabólicas. La Sociedad estadounidense del Cáncer recomienda al menos 150 minutos de actividad moderada, 75 minutos de actividad intensa o una combinación equivalente de ambas por semana. El estar sentado durante mucho tiempo (medido en horas frente a la televisión) favorecería la resistencia a la insulina y por cada 2 horas al día de visualización de la televisión se elevaría el riesgo de CCR en un 7 % (Keum and Giovannucci, 2019).

Se ha visto que ciertas sustancias como la aspirina o el calcio podrían ser beneficiosas en la prevención del CCR. La aspirina podría ejercer su efecto anticancerígeno al inhibir la ciclooxigenasa 2 (COX2), una enzima que estimula la inflamación que promueve los tumores, y suprime la inmunidad antitumoral mediada por células T. En un metaanálisis, el uso diario de aspirina (75-300 mg) se asoció inversamente con el riesgo de desarrollo de CCR a largo plazo. En cuanto al calcio, se ha encontrado una asociación inversa entre

la ingesta de calcio y el riesgo de CCR. En estudios observacionales, una mayor ingesta se asoció con menor riesgo de adenoma colorrectal, el precursor de la mayoría de los CCR esporádicos. Según estudios experimentales, el calcio precipita ácidos biliares secundarios y hierro hemo en la luz colorrectal, disminuyendo sus efectos cancerígenos sobre la mucosa. Cuando el calcio se une a los receptores sensibles al calcio presentes en las CEI, se activan diversas vías de señalización intracelular, que inhiben la proliferación e inducen la diferenciación y la apoptosis (Keum and Giovannucci, 2019).

10. MICROBIOTA INTESTINAL ASOCIADA AL CÁNCER COLORRECTAL

Entre los factores de riesgo ambientales, la microbiota intestinal es un factor importante y cada vez hay más pruebas de que alteraciones de la misma desempeñan un papel fundamental en el inicio, la progresión y la metástasis del CCR. Se ha visto que el responsable del CCR no es un microorganismo específico, sino un grupo de bacterias cuyas acciones perjudiciales superan a las de los comensales beneficiosos (Cheng et al., 2020).

El análisis del microbioma intestinal de los pacientes con CCR ha mostrado una riqueza y diversidad bacteriana reducidas en comparación con las de individuos sanos, en particular, un total de 11 unidades taxonómicas operativas (OTU) pertenecientes a los géneros *Enterococcus*, *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Peptostreptococcus* y *Streptococcus* resultaron ser significativamente más abundantes en la microbiota intestinal de pacientes con CCR, mientras que 5 OTU pertenecientes a *Roseburia* y otras bacterias productoras de butirato de la familia *Lachnospiraceae* aparecieron disminuidas (Kim and Lee, 2022). Recientemente se observó un aumento de bacterias pertenecientes a la familia *Lachnospiraceae*, como *Ruminococcus gnavus* y *Blautia producta*, en los tejidos normales del colon, mientras que *Fusobacterium nucleatum* y *Peptostreptococcus anaerobius* aparecían enriquecidos en el tejido tumoral. Además, las bacterias de la familia *Lachnospiraceae* redujeron el crecimiento del tumor gracias a la activación de los linfocitos T CD8⁺ sugiriendo así que podrían controlar el crecimiento tumoral (Zhang et al. 2023).

Como hemos comentado anteriormente, la microbiota difiere a lo largo del eje longitudinal, esto cobra relevancia al comparar el CCR derecho (ciego, colon ascendente y transversal), con el CCR izquierdo (ángulo esplénico, colon descendente y la unión rectosigmoidea). Un metaanálisis que incluyó a más de 1.4 millones de pacientes mostró que el CCR derecho se asocia con un riesgo de muerte significativamente mayor (Ternes et al., 2020). De hecho el biofilm es mucho más común en segmentos proximales y rara vez es positivo en segmentos distales (Mirzaei et al., 2020). Así mismo, *F. nucleatum* se encuentra enriquecido en el ciego, donde los tumores muestran una gran prevalencia de mutaciones KRAS (Koliarakis et al., 2019). Además, es conocido que tumores MSI y CIMP alto, así como las tasas de mutación BRAF disminuyen desde el ciego al recto. Sin

embargo, la distribución espacial bacteriana no siempre muestra interacciones directas con el tumor. Por ejemplo, *B. fragilis* es abundante en el colon proximal pero la activación de IL-17 dependiente del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B), induce un gradiente de quimiocinas desde la mucosa proximal a la distal dando lugar a una infiltración de células inmunitarias junto con la carcinogénesis del colon distal (Ternes et al., 2020).

Se han propuesto varias hipótesis para comprender mejor la relación entre la microbiota intestinal y el desarrollo de CCR. A partir de estudios previos en ratones sobre *B. fragilis* enterotoxigénico (ETBF) y la carcinogénesis se ha propuesto la hipótesis "Alpha-bug". Se observó que ETBF rápidamente induce la activación selectiva del transductor de señal y activador de la transcripción-3 (STAT3) caracterizada por respuestas T-helper 17 (Th17), que podrían promover el cáncer en cooperación con un epitelio colónico modificado. Las bacterias "Alpha-bug" no solo se limitan a inducir tumores de forma directa, también remodelan la comunidad bacteriana de tal modo que favorecen la inducción de respuestas inmunitarias en la mucosa intestinal y alteraciones en las CEI que derivan en cáncer. Además, pueden aumentar la carcinogénesis al "desplazar" selectivamente bacterias intestinales protectoras contra el cáncer. Algunas de las posibles candidatas a "Alpha-bug" son ETBF, *Streptococcus gallolyticus*, *Enterococcus faecalis* productora de superóxido y *E. coli* (Cheng et al., 2020). Por otro lado se ha propuesto la hipótesis "driver-passenger" por la que ciertas bacterias intestinales autóctonas (bacterias conductoras) producirían sustancias genotóxicas para dañar el ADN de las CEI, iniciando así el CCR. Posteriormente, alteraciones en el ambiente del tumor favorecerían la proliferación de bacterias oportunistas (bacterias pasajeras) que median en la génesis del CCR. Esta hipótesis destaca que, aunque las bacterias conductoras inician el CCR, son reemplazadas por bacterias pasajeras, mientras que la hipótesis "Alpha-bug" postula que las bacterias conductoras colonizan persistentemente los tumores en desarrollo (Cheng et al., 2020).

En cuanto a los mecanismos que explican la compleja relación entre la microbiota y el CCR, los estudios emergentes sugieren que la inflamación, las bacterias patógenas, las genotoxinas, el estrés oxidativo, los metabolitos y el biofilm, están estrechamente relacionados con la microbiota intestinal tal como se muestra en la Figura 7. Las bacterias comensales o sus productos activan las células mieloides asociadas a tumores e inducen inflamación de bajo grado, las bacterias patógenas y sus factores de virulencia, como revisaremos más adelante, se adhieren a las CEI y promueven la carcinogénesis.

La microbiota intestinal también puede contribuir al desarrollo y progresión del CCR mediante la producción de genotoxinas. Por ejemplo, algunas cepas comensales de *E. coli* producen colibactina, que provoca roturas de ADN en las CEI y agrava el CCR en modelos de ratón. Los CCR humanos además albergan firmas mutacionales asociadas a la colibactina. Otro ejemplo recientemente descubierto es el de las indoliminas; genotoxinas asociadas a la EII producidas por la especie *M. morgani*, que provocan en

ratones gnotobióticos un aumento de la permeabilidad intestinal y exacerbaban la carcinogénesis del colon (Cao et al., 2022).

Hoy en día se sabe que los pacientes con EII tienen mayor riesgo de CCR y la inflamación crónica es ampliamente aceptada como factor de riesgo para el CCR (Cheng et al., 2020). Este microambiente protumoral se caracteriza por la síntesis de factores angiogénicos, factores de crecimiento, y enzimas de remodelación tisular, así como por la supresión de las respuestas antitumorales de las células T, lo que favorece la progresión tumoral (Kim and Lee, 2022).

Por último, como veremos a continuación, el biofilm promueve la carcinogénesis a través de la activación de IL-6 y su efector aguas abajo STAT3 (Cheng et al., 2020).

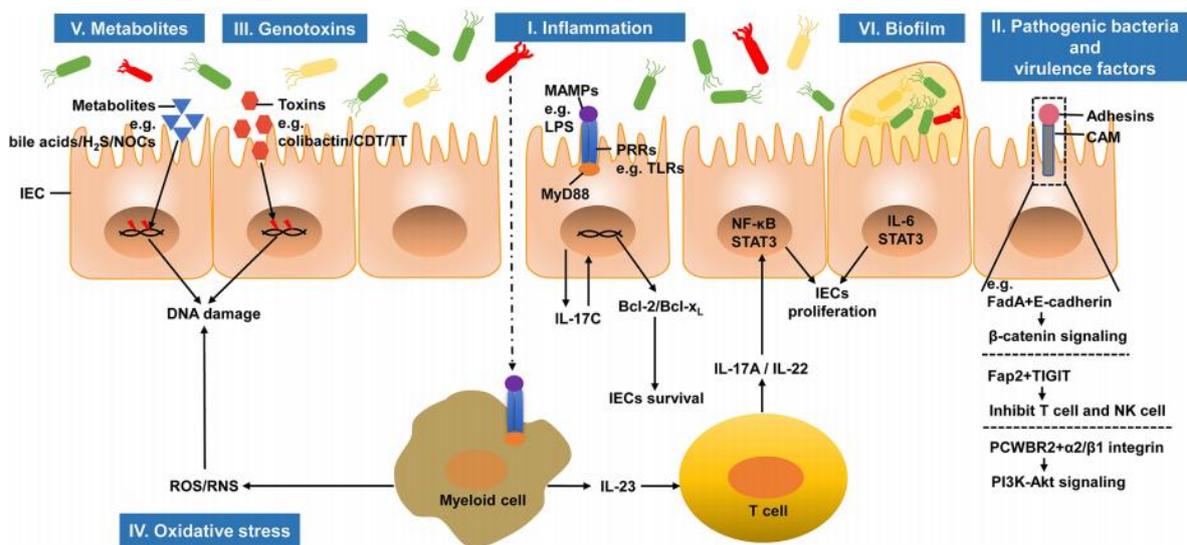


Figura 7. Mecanismos asociados a la microbiota en la carcinogénesis colorrectal. I) La infiltración de bacterias comensales o sus productos activa las células mieloideas asociadas a tumores e inducen la inflamación promotora de tumores. II) Las bacterias patógenas y sus factores de virulencia se adhieren a las CEI y promueven la tumorigénesis. III) Las genotoxinas producidas por bacterias inducen daños en el ADN e inician el desarrollo del CCR. IV) Las células inflamatorias pueden producir especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) induciendo daño en el ADN. V) Varios metabolitos bacterianos, incluidos los ácidos biliares secundarios, H₂S y NOC (nitrosaminas, nitrosamidas) pueden causar daño al ADN dando lugar a la carcinogénesis del CCR. VI) Biofilms promueven la carcinogénesis a través de IL-6 y su efector STAT-3 (Adaptado de Cheng et al., 2020).

11. PAPEL DEL BIOFILM EN LA INICIACIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL

Se han sugerido numerosos mecanismos que median el papel del biofilm bacteriano en el inicio y desarrollo del CCR. El biofilm podría aumentar la permeabilidad intestinal y

favorecer la pérdida de función de la barrera intestinal, que a su vez, constituyen los cambios fisiopatológicos primarios más significativos en la carcinogénesis colorrectal en humanos (Mirzaei et al., 2020).

El biofilm consta de agregados polibacterianos, densamente empaquetados en una matriz extracelular autoformada, que toleran mejor el aclaramiento inmunitario, los fármacos antibacterianos o la radiación entre otros. La estructura de la matriz se modifica en respuesta a la disponibilidad de diversos micronutrientes, adaptándose así a los diferentes entornos. Por tanto, la formación del biofilm favorece la supervivencia y persistencia de las comunidades polimicrobianas y constituye una de las estrategias para la progresión de la enfermedad (Chew et al., 2020; Mirzaei et al., 2020). En cuanto a la localización (Fig. 8), se detecta en la mayoría de tumores del lado derecho; un 89 %, mientras solo el 12 % lo hace en el lado izquierdo (Cheng et al., 2020), teniendo esto especial relevancia, ya que los pacientes con CCR proximal suelen presentar peores efectos clínicos que aquellos con CCR distal (Mirzaei et al., 2020).

El biofilm permite que las bacterias vivan en las proximidades de la barrera epitelial intestinal. El efecto patógeno está mediado por la alteración de la capa de moco colónico debido a la acción de enzimas bacterianas como glucosidasas y proteasas, creándose un entorno óptimo para la colonización. Estos biofilms se asocian a una mayor adherencia e invasión microbiana del epitelio del colon, a respuestas inmunitarias aberrantes, y a inflamación, en definitiva, a una mayor citotoxicidad y genotoxicidad (Koliarakis et al., 2019). Además los biofilms, como se muestra en la Figura 8B, desencadenan la pérdida de la E-cadherina de las CEI del colon y la estimulación de reacciones inmunitarias Th17, con activación de la familia IL-6 y su efector STAT3, contribuyendo así a un estado pro-oncogénico y proinflamatorio, que junto con el aumento del metabolismo de las poliaminas resulta en disbiosis y onco-transformación conduciendo a la progresión del tumor (Cheng et al., 2020; Chew et al., 2020; Mirzaei et al., 2020).

El metabolismo en el biofilm también está involucrado en la carcinogénesis del epitelio subyacente jugando un papel muy eficiente en la desconjugación de ácidos biliares, por lo que la CEI cubierta por biofilm está expuesta a tasas muy superiores de ácidos biliares secundarios. Además, el biofilm también puede constituir una reserva de nitrosaminas y H₂S. El hierro es otro factor que tiene repercusiones en la formación del biofilm y la virulencia bacteriana. Se sabe que las enterobacterias muestran mayor capacidad de captación de éste y genes que codifican su adquisición están sobreexpresados en *E. coli* invasora adherente. Datos actuales indican que la captación de hierro es un proceso crítico para conferir virulencia a los patógenos dispersos por el biofilm en individuos con EII (Mirzaei et al., 2020).

Por otro lado, el biofilm de bacterias conductoras puede formar nuevos microambientes para bacterias pasajeras y puede considerarse como impulsor independiente del CCR, antes de la conversión de adenoma a carcinoma (Fig. 8A). Estudios han revelado que bacterias periodontales son detectadas en biofilms intestinales. Por ejemplo, *Campylobacter spp.* un colonizador inocuo de la cavidad oral pero importante mediador

del adenocarcinoma de colon, puede ser reclutado por *F. nucleatum*, que actuaría como un microorganismo puente colonizando la mucosa intestinal y atrayendo a otras bacterias orales compatibles. Esto sugiere que las bacterias provenientes de la cavidad oral podrían translocarse al colon, contribuyendo a la disbiosis intestinal y al desarrollo del CCR (Chew et al., 2020; Mirzaei et al., 2020; Koliarakis et al., 20219).

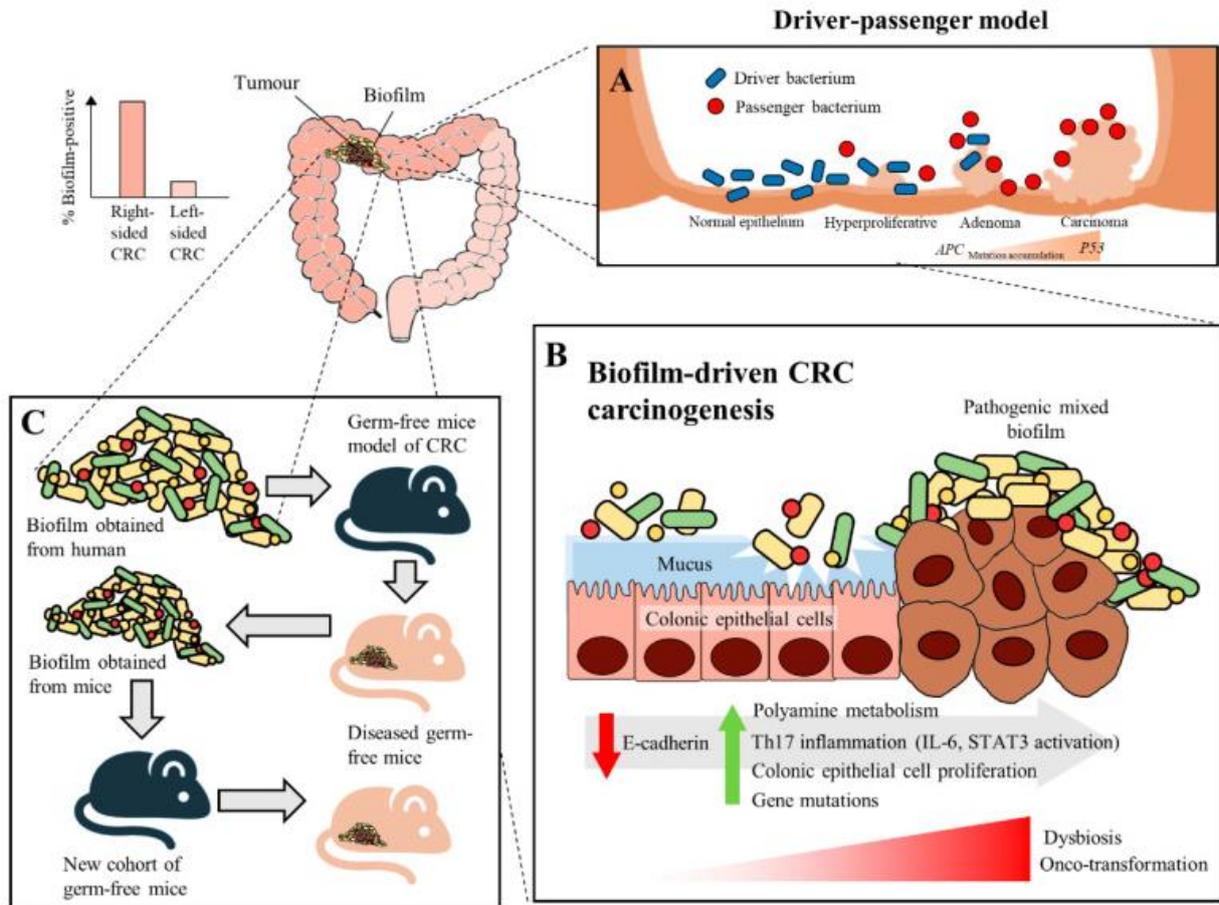


Figura 8. Papel de la microbiota colónica y del biofilm en la carcinogénesis del CCR. (Chew et al., 2020)

Un reciente experimento preclínico destinado a perfilar la causalidad de los biofilms en el CCR demostró que la inoculación de preparados de colon humano biofilm positivo en ratones produjo la formación de tumores de colon 12 semanas más tarde; mientras que los preparados a partir de colon biofilm negativo no lo hicieron (Fig. 8C). Además, el análisis metatranscriptómico de los biofilm positivos reveló una activación de genes involucrados en la invasión bacteriana de las CEI y en la biosíntesis de peptidoglicano. En contraste, en los preparados biofilm negativos se observó menor grado de reclutamiento de células mieloides inmunosupresoras y producción de IL-17, lo que demuestra que los biofilms interactúan y alteran las respuestas inmunitarias de la

mucosa. Posteriormente, un experimento de reasociación mostró que la microbiota del colon humano biofilm positivo que se inoculó en el primer grupo de ratones mantuvo su capacidad carcinogénica, incluso tras ser transferida a un nuevo grupo de ratones. En conjunto, todos estos hallazgos fortalecen aún más la noción de que la formación de biofilms por patógenos microbianos parece desempeñar un papel vital en la inducción y progresión del CCR (Chew et al., 2020).

12. MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON EL CÁNCER COLORRECTAL

En los últimos años, son múltiples los estudios que han demostrado que existen microorganismos específicos que albergan genes prooncogénicos asociados al CCR. ETBF, *F. nucleatum* y *E. coli* con la isla genómica de la poliquétido sintetasa (*E. coli pks⁺*) merecen una consideración más profunda debido a sus características de virulencia.

12.1 *Fusobacterium nucleatum*

F. nucleatum es un comensal anaerobio gramnegativo, cuyo nicho natural es la cavidad bucal humana, que sirve como soporte estructural para que otras bacterias formen biopelículas orales. Sin embargo, se ha observado que *F. nucleatum* está ampliamente presente no solo en la cavidad oral, sino también en el CCR, especialmente en el colon derecho. Dado que además se ha aislado en infecciones y múltiples muestras tumorales, como periodontitis, apendicitis o cáncer de mama, se ha considerado un patógeno oportunista y una bacteria asociada a tumores (Wang et al., 2021).

Se ha observado que los transcritos de *F. nucleatum* aumentaban aproximadamente 400 veces en el tejido del CCR en comparación con el tejido adyacente normal (Kim and Lee, 2021). Varios estudios han revelado también que la abundancia de *F. nucleatum* aumentaba junto con la secuencia adenoma-carcinoma, aumentaba en el tejido intratumoral de pacientes con metástasis o en recurrencia, y en general se correlaciona con tiempos de supervivencia más cortos y una mayor recurrencia de la enfermedad. Hoy en día, la sobreabundancia de *Fusobacterium* en el intestino se considera un biomarcador con potencial pronóstico y predictivo de CCR (Wang et al., 2021; Ternes et al., 2020). Dichas conexiones patológicas parecen sugerir que *F. nucleatum* participa en la aparición y desarrollo del CCR (Wang et al., 2021).

En cuanto a las características moleculares, *F. nucleatum* se asocia con alta MSI, el fenotipo CIMP y ciertas mutaciones genéticas (Wang et al., 2021).

La capacidad de *F. nucleatum* para adherirse e invadir células como las endoteliales, los fibroblastos o las CEI, induce respuestas en el huésped que constituyen las condiciones primarias para que *F. nucleatum* ejerza su virulencia y patogenicidad. En concreto, tres componentes principales median sus propiedades oncogénicas: las adhesinas de superficie Fap2 y FadA, junto con el LPS (Wang et al., 2021).

F. nucleatum debilita la inmunidad antitumoral y crea un microambiente inmunosupresor protector para los tumores al alterar la función de los linfocitos que infiltran el tumor mediante un mecanismo mediado por Fap2 (Fig. 9B). La adhesina Fap2 es una proteína autotransportadora capaz de inhibir la actividad de las células T por unión directa al inmunorreceptor TIGIT (inmunorreceptor de linfocitos T con dominios Ig e ITIM) impidiendo la activación de las células T $CD4^+$ y T $CD8^+$, reduciendo la citotoxicidad de las células asesinas naturales (NK), y promoviendo la muerte de células inmunitarias (Clay, et al., 2022). Además, *F. nucleatum* logra prosperar en el CCR a través de la unión de Fap2 al ligando Gal-GalNAc (D-galactosa- $\beta(1-3)$ -N-acetil-D-galactosamina) cuya expresión suele estar aumentada en la superficie de adenomas colónicos displásicos en células cancerosas como las de mama o el CCR, y en lesiones metastásicas, como las del hígado y el epiplón, revelando de esta forma a Gal-GalNAc como un posible objetivo terapéutico en tumores infectados con *F. nucleatum* (Koliarakis et al., 2019). A través de Gal-GalNAc, Fap2 también activa las CEI y las células mieloides e induce una respuesta inflamatoria protumoral (Clay et al., 2022).

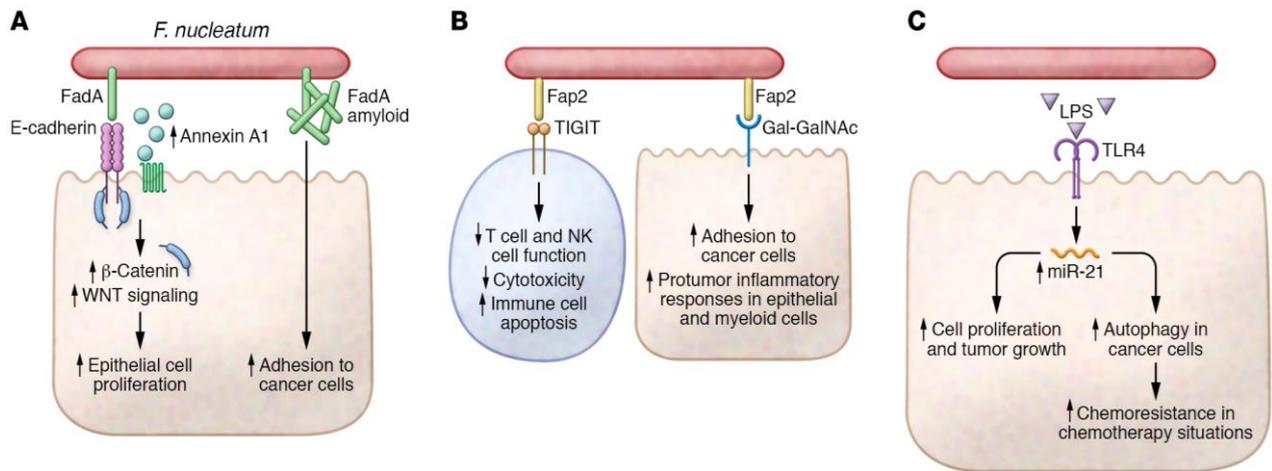


Figura 9. Potenciales mecanismos de la actividad de *F. nucleatum* en el CCR. (Clay et al., 2022)

De manera similar, la adhesina FadA parece ser otra adhesina multifunción (Fig. 9A). Así, la unión e invasión de las CEI está mediada por la unión de FadA a la E-cadherina. (Clay et al., 2022), que activa la vía de señalización β -catenina/ Wnt y aumenta la expresión de la anexina A1, un modulador importante de la señalización β -catenina/ Wnt. FadA, E-cadherina, β -catenina y Anexina A1 forman un complejo en la superficie de las células cancerosas y existe una interacción funcional entre ellas. Por un lado, la anexina A1 mejora la adhesión e invasión de FadA. Por otro lado, FadA y la E-cadherina aumentan la expresión de Anexina A1 en las células del CCR. Finalmente, a través de la E-cadherina y la Anexina A1, FadA hace que la β -catenina ingrese al núcleo, lo que aumenta el daño en el ADN y activa la expresión de genes inflamatorios y oncogenes, como la ciclina D1,

acelerando la proliferación celular y el crecimiento tumoral. FadA también tiene propiedades de tipo amiloide que mejoran la adhesión de *F. nucleatum* a las células cancerosas (Clay et al., 2022; Wang et al., 2021). FadA se encuentra aumentada en adenomas y adenocarcinomas en comparación con el tejido adyacente sano (Ternes et al., 2020).

Pero no solo FadA, el LPS de *F. nucleatum* (Fig. 9C) también puede activar la señalización de la β -catenina, aunque a través de TLR4 (Wang et al., 2021). También a través de TLR4 el LPS activa la vía MyD88/NF- κ B que conduce a un aumento de la autofagia que resulta en una reducción de la apoptosis. Además, aumenta la expresión del microARN-21 (miR-21) en las CEI del colon, resultando en una proliferación celular desregulada y crecimiento tumoral. Aunque otras bacterias, como *E. coli*, pueden activar la vía TLR4/Myd88/NF- κ B, no aumentan la expresión de miR-21. Este hallazgo sugiere que miR-21 es un ARN oncogénico específico de *F. nucleatum* (Clay et al., 2022). Por otro lado, LPS también interactúa con el ya mencionado receptor TIGIT de las células NK y T, lo que suprime la respuesta inmune antitumoral (Koliarakis et al., 2019).

Ambas vías, NF- κ B y β -catenina, alteran la expresión génica al aumentar la síntesis de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, TNF- α) y aumentar la expresión de vías oncogénicas como Cmyc/CyclinD y miR-21. En general, estos eventos crean inflamación que daña el ADN, promueven la proliferación celular y dan como resultado la carcinogénesis colorrectal (Koliarakis et al., 2019).

Aunque los análisis metagenómicos han demostrado la asociación de *F. nucleatum* con el CCR en humanos; las vías mecánicas responsables de esta interacción siguen siendo difíciles de identificar y sigue sin estar claro si se trata de un efecto indirecto o causal, (Kim and Lee, 2022; Ternes et al., 2020; Koliarakis et al., 2019) ya que dependiendo de la cepa, no siempre induce la formación de cáncer *in vivo*, ni causa hiperproliferación en todas las líneas celulares de cáncer *in vitro*. Parece requerir 'dos golpes': primero una mutación somática y luego la exposición a *F. nucleatum* (Ternes et al., 2020).

12.2 E. coli con la isla genómica de la poliéptido sintetasa (productor de colibactina)

E. coli es un anaerobio facultativo gramnegativo altamente prevalente en el intestino que también se relaciona con el crecimiento del CCR. Los estudios han demostrado que el nivel de *E. coli* aumenta en los tejidos del CCR en comparación con los tejidos sanos adyacentes. Determinadas cepas patógenas de *E. coli* han mostrado una correlación con la inflamación y la producción de ROS, lo que puede propagar la infiltración tumoral (Clay et al., 2022; Kim and Lee, 2022). Pero también expresan genotoxinas que se caracterizan por producir efectos perjudiciales en el ADN, como el factor inhibidor del ciclo celular (CIF), el factor necrosante citotóxico (CNF-1), la toxina de distensión citoletal, o la colibactina (Clay et al., 2022; Cheng et al., 2020). Los CIF son capaces de bloquear la mitosis e inducir la apoptosis en líneas celulares epiteliales, CNF-1 afecta al citoesqueleto de actina, provocando senescencia celular potencialmente relacionada con aberraciones cromosómicas e inestabilidad genómica (Ternes et al., 2020).

La colibactina es producida por la cepa de *E. coli* que expresa la isla genómica de la poliquétido sintetasa (*pks*). La colibactina contiene un anillo de ciclopropano en su molécula que forma aductos o enlaces cruzados de ADN mediante la alquilación de residuos de adenina (Fig. 10), e induce *in vitro* e *in vivo* roturas de doble cadena de ADN que desregulan la división celular y aumentan la mutagénesis. *E. coli pks*⁺ se asocia positivamente con el CCR, con una tasa de detección de aproximadamente del 60 % en pacientes con CCR, pero también, del 20 % en individuos sanos (Clay et al., 2022)

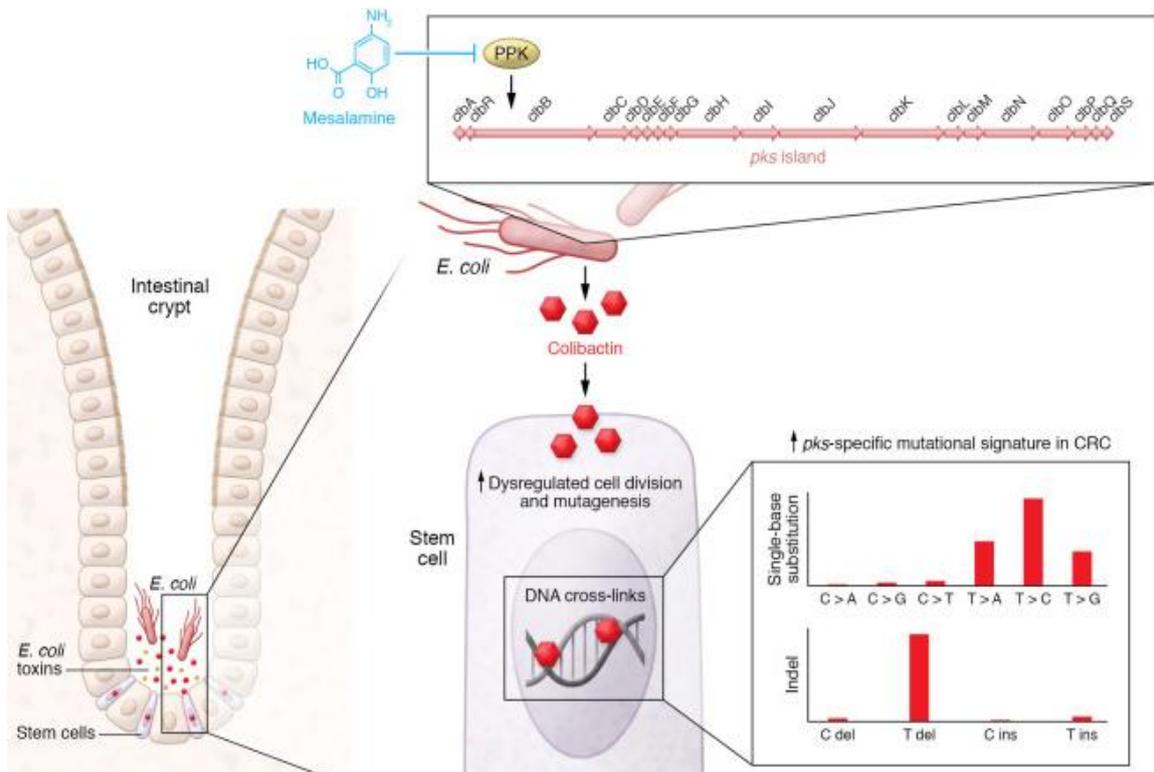


Figura 10. Efectos mutagénicos posibles de *E. coli pks*⁺. Arriba: La isla *pks* codifica la síntesis de colibactina. La polifosfato quinasa (PPK) es esencial para la función y el metabolismo de la colibactina. La mesalazina (medicamento para la colitis ulcerosa) reduce la actividad de PPK y la producción de colibactina. Abajo: La firma mutacional específica de colibactina, caracterizada por sustituciones, deleciones e inserciones de una sola base en los sitios T, está enriquecida en CRC (Adaptado de Clay et al., 2022).

Se han identificado mutaciones somáticas específicas de la colibactina, y también en genes implicados en la señalización de p53. La secuenciación masiva del genoma reveló que las células expuestas a *E. coli pks*⁺ acumulan un patrón específico de mutaciones somáticas. En datos de dos cohortes de pacientes se identificó dicho patrón en 112 mutaciones del *gen APC (adenomatous polyposis coli)*, el gen más mutado en el CCR (Clay et al., 2022). En un modelo de xenoinjerto, otros factores se vieron afectados por la presencia de *E. coli pks*⁺ como la proteasa 1 específica de sentrina y los receptores del

factor de crecimiento de hepatocitos, cuya inducción promueve indirectamente el crecimiento tumoral (Kim and Lee, 2022).

En conjunto, los enfoques básicos, clínicos y bioinformáticos han revelado que la colibactina impulsa directamente las mutaciones asociadas al CCR. Aún queda sin resolver por qué *E. coli pks⁺* se encuentra en aproximadamente el 20 % de las personas sanas. Si bien la expresión de *pks* aumenta en el CCR, los factores que regulan la expresión o supresión aún no se han estudiado. Cuestiones de cómo, dónde y cuándo intervenir para la prevención del CCR cobran mucha importancia, pero los inhibidores de colibactina parecen una vía de tratamiento en el futuro cercano (Clay et al., 2022).

12.3 *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF)

ETBF es un anaerobio gramnegativo que causa diarrea e inflamación del tracto GI. La patogenicidad depende de su toxina BFT, una metaloproteasa detectable en biopelículas que recubren adenomas y CCR (Clay et al., 2022; Garret, 2019). La BFT actúa sobre las CEI iniciando múltiples vías cuyos efectos pueden promover la carcinogénesis (Fig. 11) al estimular la proliferación de las CEI, suprimir la apoptosis, inducir alteraciones epigenéticas o impulsar la desregulación inmune (Clay et al., 2022).

Tanto los estudios clínicos como los modelos in vivo brindan información sobre el potencial de ETBF para desregular la función epitelial, impulsar modificaciones epigenéticas, daños en el ADN, e inducir inflamación para promover la carcinogénesis colorrectal. Destacar que la toxina BFT señala a través del receptor GPR-35 expresado en la CEI (Fig. 11A) y cuya activación induce la escisión de la E-cadherina, cuya pérdida, como se ha comentado anteriormente, lleva a cambios morfológicos en las CEI, dañando la mucosa colónica al inducir la expresión de citoquinas proinflamatorias (Ternes et al., 2020) y la consiguiente colitis en ratones. Por lo que la señalización de GPR-35 podría ser una vía importante que contribuye a la patogénesis de ETBF (Clay et al., 2022).

Si bien la hiperproliferación es un sello distintivo de la carcinogénesis, las modificaciones epigenéticas y la genotoxicidad que provoca ETBF (Fig. 11B) también contribuyen de manera esencial al desarrollo de cáncer (Clay et al., 2022).

Además de los efectos pro-carcinogénicos mediados por ETBF en las CEI, la contribución de una respuesta inmune proinflamatoria es un factor crítico para la carcinogénesis (Fig. 11C). La infección en ratones con ETBF induce selectivamente la activación de los factores de transcripción STAT3 y de NF- κ B dando lugar a un incremento de la permeabilidad intestinal y la producción de citocinas inflamatorias (Cheng et al., 2020).

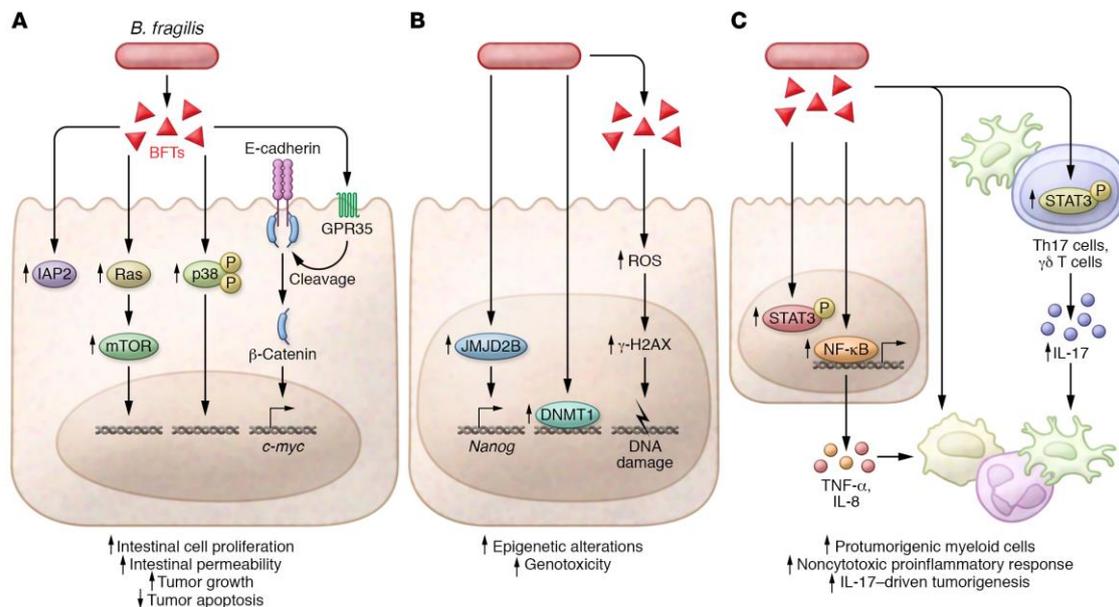


Figura 11. *ETBF* promueve la carcinogénesis por distintos mecanismos. **A.** BFT activa las vías de señalización intracelular mTOR y la proteína quinasa p38 activada por mitógenos. BFT también induce la expresión de la proteína inhibidora de la apoptosis-2 (IAP2), que provoca aumento del crecimiento tumoral por inhibición de la apoptosis. BFT también aumenta la proliferación y la permeabilidad de las CEI al inducir la expresión de *c-myc* tras la escisión de la E-cadherina y la localización nuclear de la β-catenina. **B.** *ETBF* promueve alteraciones epigenéticas con el potencial de causar daños en el ADN tras inducir el reclutamiento de la ADN metiltransferasa 1 (DNMT1) y la desmetilasa de histonas 2B con el dominio JMJD (JMJD2B) en las CEI del CCR. BFT también aumenta la generación de ROS, lo que induce daño en el ADN y activa la histona γ-H2AX, que es indicativa de reparación del ADN. **C.** *ETBF* y BFT inducen un entorno proinflamatorio que contribuye a la carcinogénesis (Adaptado de Clay et al., 2022).

Pero *ETBF* también tiene el potencial de impulsar el CCR estableciendo un nicho para otras oncobacterias como *E. coli pks⁺* (Clay et al., 2022). La colonización conjunta de *E. coli pks⁺* y *ETBF* condujo a una alta carga tumoral y a adenocarcinoma invasivo. En particular, la carcinogénesis dependía de la expresión de BFT y colibactina, ya que las deleciones de *BTF* o *PKS* anulaban el desarrollo del tumor. Pero además, *ETBF* promueve la degradación de la mucina favoreciendo así la colonización por *E. coli pks⁺* y el contacto directo entre la colibactina y las CEI. De esta forma, *ETBF* puede potenciar los efectos genotóxicos de *E. coli pks⁺* (Clay et al., 2022; Ternes et al., 2020).

13. IMPACTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA EFICIENCIA Y TOXICIDAD DE LAS TERAPIAS CONTRA EL CÁNCER COLORRECTAL

Si bien la microbiota intestinal está involucrada en la carcinogénesis colorrectal, también parece contribuir de forma crucial a la eficacia y toxicidad de las distintas terapias. Numerosos estudios se están centrado en investigar el efecto de la microbiota con el fin

de utilizarla como un biomarcador que ayude a predecir la respuesta al tratamiento o las reacciones adversas, y al mismo tiempo, modularla para mejorar el tratamiento del cáncer y el resultado en el paciente (Wong and Yu, 2019).

Además de los agentes quimioterapéuticos o la radioterapia existentes, se están realizando nuevos descubrimientos sobre los efectos sinérgicos de la microbiota intestinal con los inhibidores del punto de control inmunitario (ICI). La Figura 12 resume los hallazgos de la investigación discutidos a continuación (Kim and Lee, 2022).

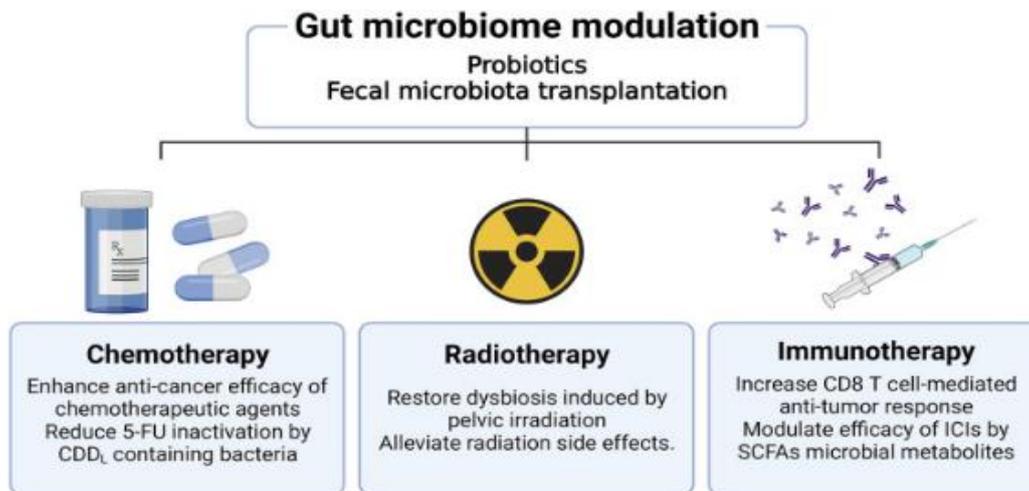


Figura 12. Efectos de la modulación del microbioma intestinal en el tratamiento del cáncer. Terapias que modulan el microbioma intestinal como la administración de probióticos o el trasplante de microbiota fecal (FMT) entre otras, mejoran la eficacia del tratamiento del cáncer (Adaptado de Kim and Lee, 2022).

Quimioterapia

La evidencia emergente sugiere que la microbiota intestinal puede mediar en los efectos anticancerígenos de agentes quimioterapéuticos como el oxaliplatino, la gemcitabina, el 5-fluorouracilo (5-FU) o la ciclofosfamida, a través de mecanismos como la translocación microbiana, la inmunomodulación, el metabolismo, la degradación enzimática o una diversidad ecológica reducida (Wong and Yu, 2019).

Se sabe que cierta microbiota intestinal puede modular la eficacia de la quimioterapia al participar en el metabolismo regulando así la citotoxicidad. Se ha observado en ratones modelo de CCR tratados con antibióticos un efecto anticancerígeno disminuido del oxaliplatino, del 5-FU y de los oligodesoxinucleótidos CpG (ODN); se produjo una secreción más baja de citoquinas y de ROS, que resultó en una reducción de la apoptosis en las células tumorales (Kim and Lee, 2022). También en ratones modelo de CCR se ha

demostrado que la gemcitabina se convierte en una forma inactivada cuando una gammaproteobacteria específica está presente en el tumor; se observó que el efecto anticancerígeno se suprime cuando bajo tratamiento antibiótico las bacterias se eliminan. El análisis 16S rRNA, reveló que bacterias patógenas como *Escherichia*, *Enterobacter* o *Shigella* aumentaron significativamente cuando se administraron antibióticos, estos cambios se restauraron tomando probióticos (Kim and Lee, 2022). Se ha observado un potencial beneficio en la introducción de probióticos como *Lactobacillus* o *Enterococcus*, estos pueden restaurar la composición fisiológica de la microbiota intestinal y estimular la respuesta inmune Th17, mejorando así la eficacia de tratamientos entre los que también se incluye la ciclofosfamida (Koliarakis et al., 2019).

Pero además de influir en el metabolismo, la microbiota intestinal puede desencadenar ciertos efectos adversos, como en el caso del irinotecan, un inhibidor de la topoisomerasa comúnmente utilizado para tratar el CCR que tras ser metabolizado por las enzimas hepáticas en un conjugado inactivo, es de nuevo activado en el intestino por las β -glucuronidasas bacterianas, causando daño intestinal y diarrea severa. La administración de un inhibidor selectivo podría prevenir la reactivación y la toxicidad concomitante, lo que ilustra un enfoque para modificar las actividades microbianas y así reducir los efectos adversos de los agentes quimioterapéuticos (Wong and Yu, 2019).

Algunos estudios se han centrado en el impacto de *F. nucleatum* en la resistencia a la quimioterapia. *F. nucleatum*, que influye en gran medida en el inicio y progresión del CCR, afecta también al resultado del tratamiento. La abundancia de *F. nucleatum* se correlaciona positivamente con una respuesta deficiente al 5-FU y el oxaliplatino en pacientes con CCR (Wang et al., 2021). Como hemos visto anteriormente, el LPS de *F. nucleatum* induce la expresión de miR-21 en las CEI de colon de una manera dependiente de TLR4 (Clay et al., 2022). Esta misma vía aumenta la autofagia, que contribuye a una reducción de la apoptosis, lo que hace a estos tumores más resistentes a la muerte celular inducida por el oxaliplatino (Kim and Lee, 2022). Por todo esto la medición de *F. nucleatum* podría proporcionar una nueva estrategia en la predicción de resultados y el tratamiento de pacientes con CCR (Wong and Yu, 2019).

Radioterapia

La radioterapia causa disbiosis, la cual puede afectar negativamente a otras modalidades de tratamiento del CCR. Tras analizar el microbioma intestinal después del tratamiento con radiación se observó una disminución de bacterias comensales como *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* y *Clostridium spp.*, así como un aumento de *Bacteroides* y *Enterococcus spp.* En el caso de los pacientes que recibieron radioterapia en la región pélvica, *Fusobacterium spp* aumentó en aproximadamente un 3%. Como resultado del daño epitelial inflamatorio causado por la radioterapia, la microbiota alterada puede atravesar la deteriorada barrera intestinal produciendo una respuesta inflamatoria y un daño tisular adicional, empeorando así el pronóstico de los pacientes con CCR. Estos efectos secundarios se pueden mejorar mediante el trasplante de microbiota fecal (FMT) y la administración de probióticos (Kim and Lee, 2022).

Inmunoterapia

La inmunoterapia se ha convertido en un pilar importante en el tratamiento del cáncer, e investigaciones recientes destacan el potencial beneficioso de la microbiota mediante la restricción del crecimiento tumoral o la promoción de un fenotipo tumoral inmunológicamente "caliente" que responde a los inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI) (Clay et al., 2022). Los ICI eliminan las señales tumorales que inhiben la activación de las células T reactivas encargadas de generar una respuesta antitumoral eficaz (Wong and Yu, 2019). Así, se ha demostrado que ipilimumab, un ICI dirigido al antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), altera la función de las células Treg y aumenta la abundancia de *B. fragilis*, mejorando la eficacia del tratamiento (Koliarakis et al., 2019). La literatura ha identificado la importancia de *Bacteroides spp.* en la modulación inmunoestimuladora del bloqueo de CTLA-4, ya que puede aumentar directamente la respuesta antitumoral de las células Th1 y TCD8⁺ (Fig. 12). También se ha demostrado que la eficacia de otro tipo de ICI dirigidos contra el ligando 1 de muerte programada (PD-L1) es modulada por la composición de la microbiota intestinal (Kim and Lee, 2022). *Bifidobacterium spp.* estimula la activación de las células dendríticas y optimiza la respuesta al tratamiento con anti-PDL1. Sin embargo, los hallazgos anteriores se basan en estudios en ratones por lo que cobran importancia futuros ensayos clínicos que verifiquen la validez de dichos hallazgos para futuras aplicaciones clínicas (Koliarakis et al., 2019).

En cuanto a bacterias asociadas al efecto antitumoral, estudios recientes han indicado una asociación positiva con *Bifidobacterium spp*, *Akkermansia*, *Faecalibacterium* y *Clostridiales*. Como ejemplo, *A. muciniphila* mejora la eficacia de los agentes inmunoterapéuticos de manera dependiente de IL-12 a través de la interacción directa con las células dendríticas en el ganglio linfático. Aunque quedan por comprender algunos detalles, dicho efecto se ha atribuido parcialmente a metabolitos microbianos como el butirato y el propionato (Fig. 12). En la misma línea, la inosina, otro bioactivo microbiano, puede mejorar la terapia antitumoral al actuar sobre las respuestas de las células T mediante la señalización del receptor de adenosina A2A (Kim and Lee, 2022), y puede mejorar la terapia antitumoral al proporcionar una fuente de energía para las células T en un entorno con restricción de glucosa como es el microambiente tumoral (Clay et al., 2022).

14. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA D Y SU IMPACTO EN LA MICROBIOTA INTESTINAL

La vitamina D y su receptor están involucrados en la salud y la enfermedad a través de múltiples mecanismos que incluyen la modulación del sistema inmune y la microbiota intestinal, cuya variación tiene enormes implicaciones en los trastornos extraintestinales e intestinales como el CCR (Rinninella et al. 2022; Murdaca et al., 2021).

La vitamina D es una vitamina liposoluble considerada tradicionalmente un regulador fundamental de la homeostasis ósea. En humanos, tan solo el 10 % de la vitamina D se obtiene de la ingestión de unos pocos alimentos como los pescados grasos, por lo que la mayor parte se sintetiza en la piel bajo la exposición a la radiación solar UVB. La vitamina D, tanto la de la dieta como la de la síntesis dérmica es biológicamente inactiva y requiere conversión a metabolitos activos. La vitamina D se convierte enzimáticamente en 25-hidroxivitamina D o calcidiol en el hígado, cuya concentración sérica es utilizada como biomarcador para determinar el estado de la vitamina D en personas. Tras otra modificación que tiene lugar principalmente en los riñones y también en varios tipos de células, se obtiene 1,25- dihidroxivitamina D o calcitriol, que es el ligando activo del receptor de la vitamina D (VDR) (Carlberg and Muñoz, 2022; Rinniella et al., 2022).

VDR es un receptor hormonal nuclear y un factor de transcripción que se expresa en gran variedad de tejidos, incluidos el intestino, el tejido adiposo o el hígado entre otros, así como en la mayoría de células inmunitarias (Murdaca et al., 2021). Una porción de VDR se ubica también en el citosol, donde media efectos moduladores rápidos en vías de señalización que afectan diversas enzimas y canales iónicos. Estos efectos no requieren cambios en la transcripción de genes. Por tanto, la vitamina D además del efecto directo sobre la regulación génica modulando vías intracelulares con impacto en el crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis influye también sobre el epigenoma (Carlberg and Muñoz, 2022). Esta expresión generalizada desempeña un papel crucial en la homeostasis intestinal, la regulación inmunitaria o la proliferación (Na et al., 2022), y puede explicar en gran medida los efectos pleiotrópicos de la vitamina D (Rinniella et al., 2022).

La señalización de VDR contribuye a la eubiosis intestinal al inducir la expresión de enzimas desintoxicantes xenobióticas y al ejercer efectos complejos sobre las células inmunes regulando la tolerancia y la inmunidad a la microbiota intestinal (Rinniella et al., 2022; Na et al., 2022).

La vitamina D también tiene un papel fundamental en el sistema inmune regulando las respuestas innatas ya que participa en la síntesis del péptido de defensa del huésped (con actividad antimicrobiana e inmunomoduladora), la producción PRR, AMPs y de citosinas. Por otro lado al expresarse VDR en células como las T CD4⁺ y CD8⁺, las células B, los neutrófilos o las células presentadoras de antígenos es capaz de modular la respuesta inmune adaptativa (Murdaca et al., 2021).

Son varios los estudios que han demostrado el papel beneficioso de la vitamina D en la modulación microbiana intestinal. Se ha confirmado la evidencia de que hombres con niveles plasmáticos elevados de vitamina D tienen más probabilidades de poseer bacterias productoras de butirato. En otro estudio clínico, la suplementación con vitamina D cambió significativamente la composición de la microbiota intestinal, reduciendo patógenos oportunistas de la clase *Gammaproteobacteria* (*Escherichia spp*, *Shigella spp* y *Pseudomonas spp*), y aumentando la riqueza bacteriana. Se piensa que los

efectos sobre la microbiota se deben a que la suplementación con vitamina D produce un cambio de una forma T CD8⁺ naive a efectora, la cual a través de la síntesis de calcitriol reduce el entorno inflamatorio permitiendo que bacterias beneficiosas como *Bacteroidetes* superen a patógenos oportunistas. Estas modulaciones microbianas intestinales podrían contrarrestar las disfunciones de la barrera intestinal y la disbiosis observada durante el desarrollo del CCR (Rinniella et al., 2022).

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

La deficiencia de vitamina D se define por un nivel sérico menor de 20 ng/mL. Actualmente es una pandemia, y uno de los principales problemas de salud mundial (Na et al., 2022). La deficiencia de vitamina D influye profundamente en la microbiota al alterar su composición. Son múltiples los estudios que han demostrado que la deficiencia de vitamina D o los polimorfismos inactivadores en VDR están asociados con la disbiosis intestinal (Fig. 13), con el consiguiente aumento de los filos *Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, y los trastornos inflamatorios (Murdaca et al., 2021). También cada vez hay más pruebas de la relación entre la disbiosis y muchas enfermedades, entre ellas el CCR (Ferrer-Mayorga et al., 2019).

La inflamación crónica (asociada a la respuesta inmune) y la infección, ya sea bacteriana o vírica, se influyen mutuamente y pueden alterar la barrera epitelial (Ferrer-Mayorga et al., 2019). La vitamina D promueve la integridad epitelial de la mucosa colónica (Fig. 13) al inducir la expresión de proteínas de unión celular como ZO-1, E-cadherina u ocludina las cuales estabilizan las uniones estrechas y adherentes entre las CEI (Rinniella et al., 2022; Murdaca et al., 2021). Cuando esta capa se ve comprometida y las bacterias acceden a la lámina propia, la vitamina D vuelve a tener un papel importante mediante la activación del sistema inmune innato provocando inflamación y desencadenando la respuesta inmunitaria adaptativa. La señalización de VDR también mantiene la integridad de la barrera intestinal al detener la apoptosis de las CEI inducida por la inflamación. Cuando existe déficit de vitamina D, estos mecanismos se ven afectados y el equilibrio entre la actividad proinflamatoria y antiinflamatoria se altera en favor de la primera (Murdaca et al., 2021).

La vitamina D regula además los niveles de ROS a través de sus efectos antiinflamatorios y la expresión mitocondrial de antioxidantes. El estrés oxidativo a menudo se correlaciona con la disbiosis ya que disminuye la diversidad microbiana intestinal y promueve el crecimiento de bacterias como *Salmonella* y *Citrobacter* que utilizan como transportador de electrones el nitrato y el tetrionato. Se cree que el estrés oxidativo inducido por ROS aumenta la reacción inflamatoria, una mayor producción de ROS y un daño tisular añadido (Murdaca et al., 2021).

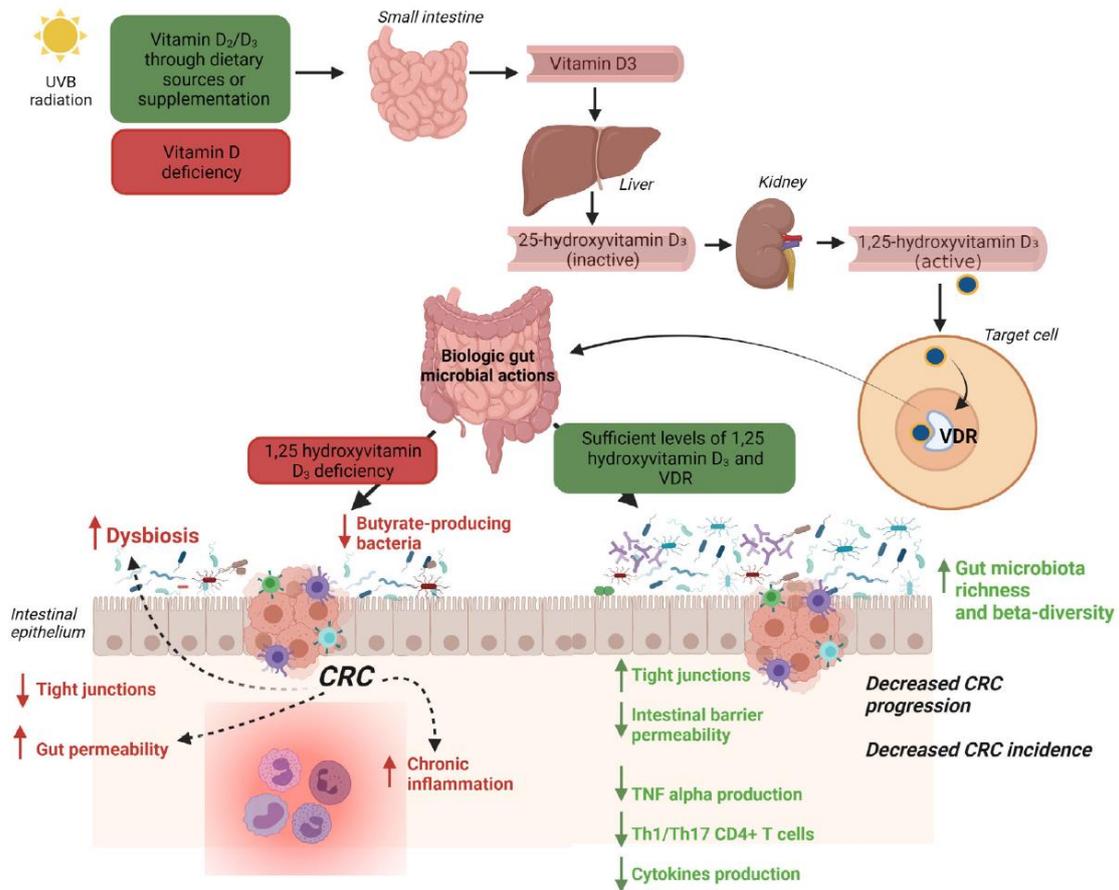


Figura 13. El impacto de la ingesta de la vitamina D en el proceso de carcinogénesis colorrectal a través de la modulación de la microbiota intestinal. La vitamina D inhibe la producción de interferón IFN- γ de IL-17 desde las células T, induce la citocina antiinflamatoria IL-10 desde las células Treg Foxp3⁺ y la IL-22 antimicrobiana desde las ILC3. Por todo ello se le atribuye a la vitamina D un papel preventivo y antiproliferativo en la carcinogénesis del CCR (Adaptado de Rinniella et al., 2022).

Son varios los estudios que señalan el papel beneficioso de la vitamina D. En fechas recientes, se ha visto que la suplementación con Vitamina D en mujeres sanas con deficiencia resultó en un aumento significativo de la diversidad microbiana intestinal; en concreto, aumentó la ratio *Bacteroidetes/Firmicutes*. A nivel de género, las variaciones significativas en *Bacteroides* y *Prevotella*, junto con la abundancia de los taxones probióticos promotores de la salud como *Akkermansia* y *Bifidobacterium*, indicaron una variación beneficiosa de los enterotipos (Rinniella et al., 2022).

También se ha relacionado el déficit de vitamina D con la aparición de EII. Otro estudio clínico correlacionó los cambios estacionales de los niveles circulantes de 25-hidroxi vitamina D con la composición de la microbiota intestinal en pacientes con EII, observando una reducción en géneros bacterianos típicos de la inflamación como *Eggerthella lenta*, *Collinsella aerofaciens*, *Helicobacter spp*, *Fusobacterium spp* y

Bacteroides spp cuando la exposición a la luz es más alta (verano-otoño) y la síntesis de calcitriol es mayor (Rinniella et al., 2022).

Además, la deficiencia de vitamina D agrava la disbiosis desencadenada por el CCR al disminuir la producción bacteriana de butirato y aumentar la inflamación crónica de tal forma que conduce a la inmunosupresión. Un estudio que analizó la dieta (incluida la vitamina D), la composición de la microbiota y la regulación de los marcadores de inflamación en el CCR encontró una asociación inversa entre el riesgo de CCR y el alto consumo de pescado graso, rico en vitamina D. Además, el perfil microbiano intestinal de los pacientes con CCR se enriqueció en especies proinflamatorias como *Parvimonas micra*, *F. nucleatum* y *B. fragilis*, mientras que las muestras de los controles se asociaron con una mayor abundancia de *Bacteroidetes* y *Bifidobacterium spp* (Rinniella et al., 2022).

En relación al CCR y la homeostasis intestinal inmune (Fig. 14), la vitamina D promueve tanto la actividad antimicrobiana como una respuesta de tolerancia hacia miembros de la microbiota, como se ha visto en modelos experimentales de colitis, al actuar como una prohormona reguladora que modula el sistema inmune y la composición de la microbiota, lo que a su vez influye en la inmunidad de la mucosa. Estos efectos influyen en los mecanismos más conocidos del desarrollo del CCR. En conclusión, La vitamina D se ha asociado con la prevención del CCR y mejores resultados clínicos (Rinniella et al., 2022).

16. ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE LA VITAMINA D EN EL CÁNCER COLORRECTAL

La respuesta celular a la vitamina D está determinada principalmente por el nivel de VDR y la expresión y actividad de las hidroxilasas CYP27B1 y CYP24A1 que determinan la concentración de calcitriol dentro del núcleo. La expresión de VDR y las hidroxilasas está alterada en el CCR (Ferrer-Mayorga et al., 2018).

Se ha observado que el nivel de VDR aumenta en los pólipos hiperplásicos y en las primeras etapas de la carcinogénesis, pero disminuye en las últimas etapas de tumores pobremente diferenciados y está ausente en las metástasis (Na et al., 2022; Peixoto et al., 2022). Asimismo, CYP27B1, que hidroxila el calcidiol a calcitriol, aumenta en carcinomas bien a moderadamente diferenciados, pero su presencia es escasa en las metástasis a ganglios linfáticos (Ferrer-Mayorga et al., 2018). En cambio CYP24A1, que inactiva el calcitriol, apenas se detecta en las CEI normales, pero aparece aumentada en los adenomas colorrectales y hasta en el 60% de los CCR (Ferrer-Mayorga et al., 2018).

Una gran proporción de casos de CCR avanzado no expresa el *gen VDR*, lo que se debe al aumento de la expresión de factores de transcripción como SNAI1 y SNAI2, que promueven la transición epitelio-mesénquima y actúan como represores de la

transcripción de *VDR* al unirse a su región promotora y bloquearla (Carlberg and Muñoz, 2022; Ferrer-Mayorga et al., 2018). En resumen, la baja expresión de *CYP27B1* y *VDR*, junto con la alta expresión de *CYP24A1* en las células tumorales, puede resultar en una resistencia a los efectos del calcitriol (Ferrer-Mayorga et al., 2018). Estos hallazgos podrían explicar por qué los agonistas de *VDR* muestran efectos protectores en la prevención y en las etapas tempranas del CCR.

Los mecanismos por los que *VDR* afecta al CCR se han centrado fundamentalmente en factores del huésped como la vía de la B-catenina o la inflamación. Sin embargo, se sabe poco sobre los mecanismos moleculares responsables de la regulación del microbioma por parte de este. Recientemente un estudio en ratones *VDR*^{ΔIEC} (con *VDR* intestinal inactivado) y organoides derivados de colon ha revelado que la disfunción de *VDR* está involucrada en la carcinogénesis a través de la microbiota intestinal. El *gen VDR* humano da forma al microbioma, y su ausencia conduce a un estado proinflamatorio de las CEI y a un cambio del perfil bacteriano de normal a susceptible de carcinogénesis con un aumento de bacterias como *B. fragilis*, *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Peptostreptococcus* (Zhang et al., 2020). Se sabe que estas bacterias están asociadas con cambios en metabolitos como los AGCC o los ácidos biliares en el CCR. Entre los diferentes ácidos biliares secundarios que aumentaron debido a la pérdida de *VDR*, se encuentran el litocólico y el desoxicólico, lo que concuerda con los marcadores del microbioma observados en el CCR humano (Zhang et al., 2020).

También se vio que los ratones *VDR*^{ΔIEC} presentaban un mayor número de tumores en el colon y una ubicación cambiada, del colon distal al proximal. Datos inmunohistoquímicos mostraron que el marcador nuclear de células en proliferación (PCNA) y el regulador de la proliferación β-catenina, aumentaron en ratones y organoides humanos tratados con muestras fecales de ratones *VDR*^{ΔIEC}, seguido de la activación del *gen JAK2* (Janus quinasa 2). Además, se observó que la proteína *VDR* se une al promotor de *JAK2*, lo que sugiere que *VDR* regula su transcripción. La vía *JAK2/STAT3* y sus genes aguas abajo son fundamentales tanto en la homeostasis intestinal como en la microbiana, y la interferencia en la vía *JAK/STAT* puede suprimir el crecimiento del CCR. Los inhibidores de *JAK/STAT* ya se utilizan clínicamente en pacientes con EII y recientemente se ha visto que un inhibidor de *JAK/STAT* eliminó la activación de *STAT3* inducida por el microbioma (Zhang et al., 2020).

En el futuro, la comprensión de las interacciones anormales entre el huésped y el microbioma ayudará a desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que restauren las funciones de *VDR* en el cáncer de colon asociado con colitis (Zhang et al., 2020).

17. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL CALCITRIOL EN EL CÁNCER COLORRECTAL

La vitamina D ejerce efectos sobre la mayoría de tipos celulares intestinales y sobre muchas líneas celulares de carcinoma de colon con un nivel suficiente de VDR (Ferrer-Mayorga et al., 2018). Dado que las células inmunes y tumorales de rápido crecimiento utilizan las mismas vías y genes para controlar procesos como la proliferación, diferenciación y apoptosis entre otros, la señalización de la vitamina D también cambia estos procesos en las células neoplásicas (Fig. 14) (Carlberg and Muñoz, 2022). La vitamina D inhibe la proliferación y la capacidad de invasión del tumor al promover la diferenciación de las CEI actuando como una barrera que interfiere en la migración de las células tumorales. Una acción clave en este efecto consiste en inhibir la vía Wnt/ β -catenina ya sea por la unión de VDR a la β -catenina evitando la activación de complejos TCF en el núcleo (Rinniella et al., 2022), incrementando la expresión de la E-cadherina, que atrae a la β -catenina del núcleo (Carlberg and Muñoz, 2022) o por el aumento de la expresión extracelular del inhibidor *DKK-1* de la vía de Wnt/ β -catenina. La activación aberrante de esta vía ocurre temprano en el CCR y contribuye al desarrollo y progresión de la carcinogénesis (Na et al., 2022) de tal forma que más del 94% del CCR primario contiene mutaciones en genes que activan de forma anómala dicha vía (Carlberg and Muñoz, 2022).

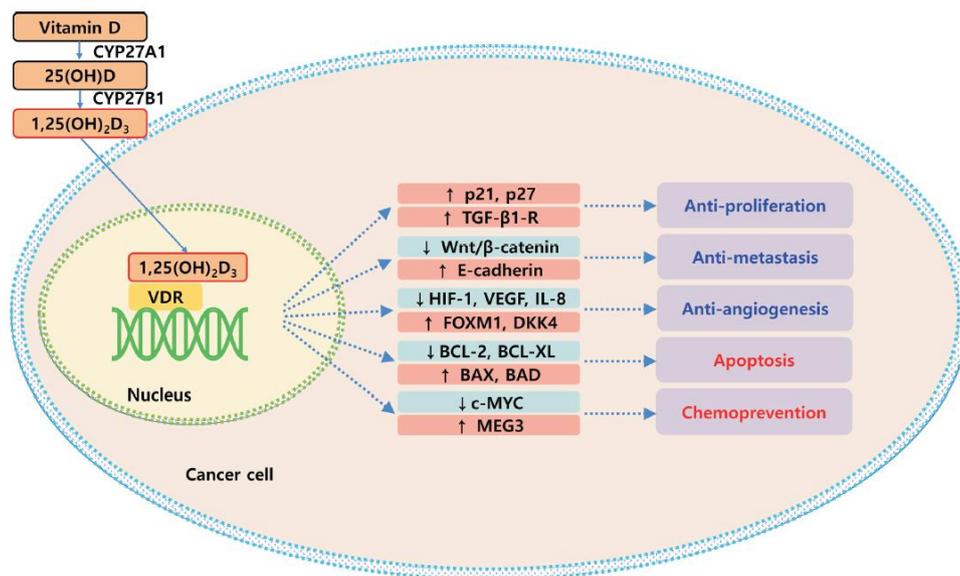


Figura 14. Efectos mediados por la vitamina D en el CCR. (Adaptado de Na et al., 2022)

Pero la vitamina D también reduce la proliferación celular mediante otros mecanismos como son: la represión de quinasas dependientes de ciclinas, la inducción del *gen GADD45A* y de los inhibidores del ciclo celular $p21^{CIP1}$ y $p27^{KIP1}$, y la represión directa e

indirecta del *gen C-MYC*, un importante regulador del ciclo celular inducido por la vía Wnt/ β -catenina y sobreexpresado en el CCR (Ferrer- Mayorga et al., 2018).

La señalización de VDR ejerce un papel clave en la biología de las CEI del colon contrarrestando alteraciones genéticas y epigenéticas que favorecen la aparición del carcinoma de colon (Carlberg and Muñoz, 2022). Estudios transcriptómicos en líneas celulares de CCR han identificado cientos de genes implicados en dichas vías. Pero la vitamina D también tiene una acción epigenética reguladora mediada por receptores VDR extranucleares, controlando por ejemplo la expresión de la histona JMJD3 o activando el *gen de la cistatina D*. La cistatina D inhibe varias cisteín proteasas, reduce la proliferación y la migración de las células tumorales (Rinniella et al., 2022), además aumenta la adhesión célula-célula. Por su parte, JMJD3 media efectos antiproliferativos y de antagonismo de la vía Wnt/ β -catenina en las células del CCR, y su represión activa la expresión de varios inductores de la transición epitelio-mesénquima (EMT). En conjunto, la vitamina D es un potente inductor de la diferenciación epitelial intestinal que previene la EMT (Rinniella et al., 2022; Ferrer- Mayorga et al., 2018).

Otro de los mecanismos por los que la vitamina D disminuye la proliferación es inhibiendo la angiogénesis necesaria para el crecimiento y diseminación del tumor a través de la regulación de diferentes moléculas como el factor 1 inducible por hipoxia HIF-1, la IL-8 (Na et al.,2022), el inhibidor de la diferenciación ID-1/ID-2, la trombospondina- 1 (Ferrer- Mayorga et al., 2018), o el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). El calcitriol también desencadena efectos antiangiogénicos a través de la señalización de NF- κ B (Na et al.,2022).

En la misma línea, la vitamina D favorece la apoptosis de las células tumorales mediante la inducción de proteínas proapoptóticas (BAX, BAK y BAD) (Peixoto et al., 2022) y la represión de proteínas antiapoptóticas (BCL2, BAG1 y BCL-XL). El calcitriol facilita que las mitocondrias liberen citocromo c dando lugar a la activación de las caspasas 3 y 9 (Na et al.,2022). Además de este efecto sobre las células tumorales, previene la apoptosis de las CEI mediante el bloqueo de NF- κ B y también disminuyendo la expresión de PUMA, un regulador proapoptótico inducido por p53. De este modo protege la barrera mucosa, reduce la inflamación y previene la propagación de las células dañadas (Na et al.,2022; Rinniella et al., 2022).

La vitamina D además, ejerce un efecto antiinflamatorio al interferir con la síntesis de prostaglandinas, con la señalización de quinasas activadas por estrés y con la producción de citoquinas proinflamatorias (Na et al.,2022). Así la suplementación con vitamina D en pacientes con adenoma colorrectal disminuye la inflamación calculada a partir de los niveles de los marcadores proinflamatorios proteína C reactiva, TNF- α o la IL-6, y del marcador antiinflamatorio IL-10. Los efectos del calcitriol sobre estas y otras citocinas (IL-12, TGF- β) que se sobreexpresan en pacientes con CCR están mediados en parte por la inhibición multinivel de NF- κ B (Ferrer-Mayorga et al., 2018).

Otras vías adicionales afectadas por la señalización de VDR son la desintoxicación y la inmunomodulación tanto de las células tumorales como de las células del estroma tumoral. En las células madre de las criptas, la vitamina D contribuye a preservar un fenotipo indiferenciado atenuando su transformación en células madre cancerosas. En el estroma tumoral, reprograma los fibroblastos hacia un fenotipo menos protumoral al atenuar la capacidad para alterar el gel de colágeno y promover la migración de células tumorales (como ya se ha demostrado para el cáncer de hígado y páncreas). En conjunto, la vitamina D modula una amplia gama de vías de señalización en diversos tipos de células, lo que indica claramente una fuerte acción protectora multinivel de la vitamina D contra el CCR (Carlberg and Muñoz, 2022).

Muchos estudios observacionales han examinado la asociación entre los niveles séricos de vitamina D y la incidencia de CCR, y la evidencia de una asociación inversa parece relativamente fuerte. Pero además, niveles altos de vitamina D parecen tener un papel protector sobre otros aspectos del CCR como son la supervivencia general y la falta de progresión (Na et al., 2022). Un estudio confirmó que la ingesta de vitamina D podría tener impacto en pacientes con CCR avanzado o metastásico que reciben quimioterapia. Durante el estudio, el curso de la enfermedad se desaceleró significativamente, con una mayor supervivencia libre de progresión en el brazo que recibió la suplementación más alta. En 2 años, el CCR tenía un 36 % menos de probabilidades de diseminarse o ser fatal en sujetos que consumían más vitamina D (Rinniella et al., 2022). Varios metaanálisis han informado de la asociación entre altos niveles de vitamina D y la mejora de la supervivencia general y específica para el CCR. Los estudios también han demostrado que niveles más altos de vitamina D previos al diagnóstico se asocian con una reducción estadísticamente significativa en la mortalidad general y específica por CCR (Peixoto et al., 2022).

Sin embargo varios ensayos recientes han mostrado que la suplementación con vitamina D no previene el CCR, aunque en alguno de ellos (VITAL y CAPS) el objetivo principal no fue la incidencia de CCR (Na et al., 2022). En contraste, un metaanálisis publicado posteriormente informó de una disminución del 4 % de riesgo de CCR con suplementaciones de 100 UI/día de vitamina D. Además, otro metaanálisis demostró una función protectora de la vitamina D en la incidencia de CCR (OR 0,87 – IC del 95 %: 0,82–0,92) con fuentes dietéticas o suplementarias. Por lo tanto, se necesita más investigación para abordar mejor la cuestión de si la suplementación con vitamina D reduce el riesgo de CCR (Peixoto et al., 2022).

18. MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON FINES TERAPÉUTICOS

Dada la creciente evidencia sobre el impacto que la microbiota intestinal ejerce sobre la carcinogénesis colorrectal, hay un gran interés por explorar nuevas aplicaciones clínicas con el objetivo de restaurar la homeostasis microbiana. Hasta el momento, las

estrategias en desarrollo incluyen intervenciones dietéticas, prebióticos/probióticos, antibióticos, FMT o las terapias basadas en fagos entre otras (Kim and Lee, 2022; Cheng et al., 2020; Garret, 2019).

Las medidas preventivas representan una estrategia atractiva para reducir la carga de CCR. Ya hemos comentado anteriormente varios factores de riesgo vinculados al CCR que podrían modificarse, incluido el patón dietético. Hoy sabemos que la microbiota intestinal cambia en respuesta a los cambios en la dieta, y que esta puede modular las interacciones huésped-microbio con efecto sobre la respuesta inmune y las vías metabólicas. Por lo que la implementación de intervenciones dietéticas para influir en la aparición y progresión del CCR sugiere un enfoque terapéutico prometedor (Saus et al. 2019; Wong and Yu, 2019).

Otra línea de investigación actual incluye el uso de probióticos. Los probióticos son "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped" (Cheng et al., 2020; Chew et al., 2020). Los probióticos confieren resistencia a la colonización patógena al competir por los nutrientes y adherirse a la superficie de las CEI o el moco, o bien al antagonizar la colonización mediante la agregación con los patógenos. Además producen metabolitos como el ácido láctico, el acético, o las bacteriocinas, que inhiben el crecimiento de patógenos al reducir el pH luminal y ejercen una actividad antimicrobiana directa (Fong et al., 2020).

Hasta la fecha, varios estudios en modelos animales han demostrado que la administración de probióticos ejerce efectos protectores contra el CCR. Varias bacterias, incluyendo *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.*, han mostrado propiedades anticancerígenas a través de diferentes mecanismos (Kim and Lee, 2022; Wong and Yu, 2019) como son la inhibición de la proliferación celular, la inducción de la apoptosis en células cancerosas, la modulación de la inmunidad del huésped, la inactivación de toxinas cancerígenas, o la producción de compuestos anticancerígenos (Wong and Yu, 2019). Especies productoras de butirato como *Clostridium butyricum* y *Bacillus subtilis* pueden tener un efecto antitumoral (Saus et al., 2019), y *F. prausnitzii*, produce moléculas antiinflamatorias que pueden reprimir la expresión de la vía NF-κB en las CEI previniendo la colitis (Cheng et al., 2020).

Pero también han demostrado resultados prometedores en ensayos clínicos y se ha sugerido como un enfoque quimiopreventivo viable para combatir la carcinogénesis colorrectal. Numerosos ensayos han informado de los efectos en pacientes con CCR, incluidas menos infecciones postoperatorias y estancias hospitalarias más breves (Cheng et al., 2020). Un tratamiento con *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium longum* aumentó la cantidad de proteínas de unión celular, mejorando así la integridad de la barrera intestinal (Cheng et al., 2020). La ingesta oral de *L. casei* redujo la atipia de los tumores colorrectales en pacientes sometidos a resección (Cheng et al., 2020; Wong and Yu, 2019). Otro estudio reveló que en los pacientes que recibieron *B. lactis BI-04* y *L. acidophilus NCFM* aumentaron el número de bacterias

productoras de butirato como *Faecalibacterium* y *Clostridiales spp.*, mientras que disminuyeron géneros asociados al CCR como *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus* (Cheng et al., 2020).

Los probióticos generalmente se consideran seguros y bien tolerados por sujetos sanos, pero su perfil de seguridad ha sido cuestionado en pacientes con afecciones médicas (Fong, et al., 2020) pudiendo actuar como patógenos oportunistas que penetren fácilmente una barrera intestinal y un entorno inmunitario debilitados por los tumores intestinales (Kim and Lee, 2022). De hecho, se han publicado varios casos de bacteriemia, fungemia, endocarditis, absceso hepático y neumonía asociados a probióticos. Sin embargo, como se informó en algunos metaanálisis de pacientes con cáncer, la incidencia de estos efectos secundarios es rara y aún no es concluyente si el uso de probióticos se asocia a un mayor riesgo de complicación infecciosa. La evidencia actual no sugiere una contraindicación absoluta, pero justifica la necesidad de más estudios clínicos para confirmar los beneficios terapéuticos y equilibrar los riesgos y beneficios en pacientes susceptibles a infecciones (Fong et al., 2020).

Otros autores sugieren estrategias que promuevan el crecimiento de bacterias positivas, mediante el uso de prebióticos (Saus et al., 2019). Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que alimentan a las bacterias intestinales beneficiosas y mejoran la salud del huésped (Cheng et al., 2020). En la última década se ha propuesto que además de los prebióticos a base de carbohidratos y fibra, otras sustancias como los ácidos grasos poliinsaturados y los polifenoles, poseen potencial prebiótico. Varios ensayos clínicos han informado del aumento de la abundancia de probióticos como *Faecalibacterium*, *Akkermansia*, *Ruminococcus* y especies de *Roseburia*, tras la administración de prebióticos (Fong et al., 2020). Pero los prebióticos, además de estimular el crecimiento de los probióticos, pueden ejercer un efecto directo sobre el intestino al interactuar con el receptor bacteriano y evitar que los patógenos se adhieran a las CEI, lo que inhibe la colonización de patógenos (Fong et al., 2020).

También se ha formulado la combinación sinérgica de prebióticos y probióticos en forma de suplementos dietéticos o ingredientes, denominándose simbióticos. Estos incluyen, por ejemplo, fibra OAT/ *L. Plantarum* y FOS/ *L. sporogens* (Saus et al., 2019). Además, están los postbióticos (como los AGCC), que son subproductos y metabolitos solubles secretados por la microbiota intestinal, y varios de ellos suprimen la inflamación colónica y restauran la integridad de la barrera intestinal. La proteína p40 derivada de *L. rhamnosus GG* inhibe la apoptosis epitelial inducida por citocinas y aumenta la sIgA (Fong et al., 2020).

Otro método emergente consiste en el FMT, el cual ayuda a restaurar la eubiosis mediante el implante de un microbioma sano y libre de enfermedades en el tracto GI de pacientes que albergan una microbiota alterada. El FMT puede mejorar varios trastornos gastrointestinales, incluida la infección por *C. difficile*, la EII y el síndrome del intestino irritable (Kim and Lee, 2022; Cheng et al., 2020). En comparación con otras estrategias de modulación, el FMT parece conferir varias ventajas, pues no altera la ecología

intestinal microbiana como el tratamiento con antibióticos, y su injerto a largo plazo en régimen de dosis única, le confiere beneficios terapéuticos sobre los probióticos y prebióticos, cuya colonización parece ser transitoria (Fong et al., 2020).

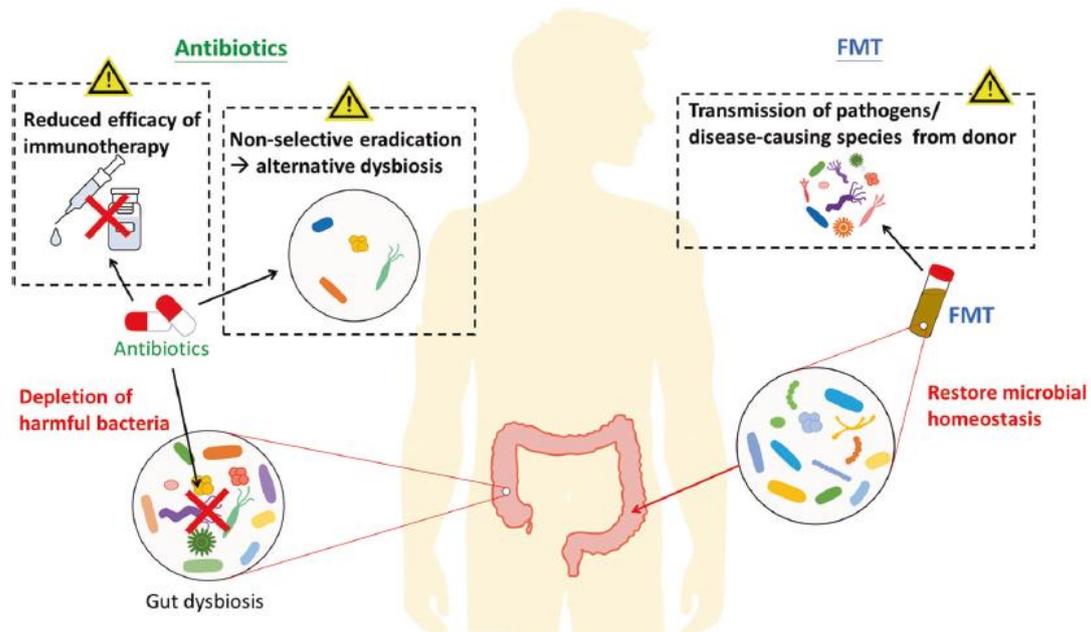


Figura 15. Posible aplicación clínica de los antibióticos y del trasplante de la microbiota fecal en la prevención y el tratamiento del CCR incluyendo las posibles desventajas. (Adaptado de Fong et al, 2020)

Aunque las aplicaciones del FMT en el tratamiento de la *C. difficile* recurrente tienen gran éxito, su aplicación en el CCR está poco explorada (Cheng et al., 2020). En general, el FMT se destaca como una estrategia prometedora en el tratamiento del CCR, y algunos informes de casos han mostrado resultados favorables (Saus et al., 2019). Sin embargo aún quedan por responder numerosas incógnitas, especialmente en relación con el perfil de seguridad (Fig. 15). A corto plazo, el FMT se considera una intervención segura, aunque algunos pacientes desarrollan eventos adversos transitorios como estreñimiento, diarrea, eructos o distensión abdominal (Fong et al., 2020), pero los resultados a largo plazo aún no están claros, y existen algunos estudios preclínicos y clínicos que han sugerido algunos riesgos asociados al FMT.

Los riesgos del FMT incluyen la transmisión de patógenos (Fig. 15), particularmente a pacientes inmunocomprometidos y la transmisión de elementos recesivos silenciosos y otros factores que explican enfermedades crónicas (Saus et al., 2019).

Se han publicado varios informes de casos de infección, incluida la gastroenteritis por norovirus, la bacteriemia por *E. coli* y la infección por citomegalovirus, así como otro

informe de un caso que desarrolló obesidad tras recibir FMT de un donante con sobrepeso. Además de la obesidad, también se ha informado que la aterosclerosis puede ser "transmisible", como se ha observado en un modelo de ratón gnotobiótico (Fong et al., 2020). Estos estudios han alertado sobre posibles complicaciones asociadas al FMT y justifican seguimientos clínicos a largo plazo para confirmar causalidad.

Otro enfoque de investigación racional consiste en el tratamiento con antibióticos para inhibir las bacterias asociadas al cáncer. Un estudio preclínico mostró que el tratamiento con metronidazol redujo tanto la carga de *F. nucleatum* como el crecimiento general del tumor (Saus et al., 2019; Wong and Yu, 2019). También se ha observado que el tratamiento con antibióticos atenuaba el desarrollo de CCR gracias a la eliminación de *B. fragilis*, y de bacterias asociadas a la degradación de mucina, la inflamación y la metilación del ADN (Fong et al., 2020).

Sin embargo, la evidencia acumulada ha revelado que los antibióticos, debido a sus acciones no selectivas, pueden conducir a otros estados de disbiosis al disminuir la microbiota comensal, e inducir la progresión de la enfermedad o comprometer la eficacia de la inmunoterapia, cuya actividad anticancerígena está modulada por dicha microbiota. Así se observó que el tratamiento con un cóctel a base de ampicilina, colistina y estreptomina, o simplemente con imipenem, eliminó el bloqueo de CTLA-4 y restauró la progresión tumoral en modelos de ratón con sarcoma, melanoma y CCR (Fong et al., 2020). Las observaciones clínicas coinciden con dichos hallazgos. Un estudio retrospectivo informó que el uso concomitante de antibióticos e inmunoterapia se asocia con un alto riesgo de progresión de la enfermedad, así como con una supervivencia global y libre de progresión más cortas. En otro estudio de cohorte, se descubrió que la exposición a antibióticos durante la edad adulta, aumentó el riesgo de desarrollar CCR. Además, la reducción 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). Por tanto, antibióticos altamente selectivos podrían representar una estrategia más viable y menos perjudicial para la ecología microbiana humana (Garrett 2019).

Las vacunas también tienen enorme potencial en la prevención del cáncer. En el caso de muchos microbios potenciadores del CCR, sus toxinas, adhesinas y proteínas de la membrana externa son dianas atractivas para provocar inmunidad antitumoral (Garret, 2019). Otros autores han destacado la importancia de explorar la interacción entre las bacterias intestinales y el componente viral, y su posible modulación a través de la terapia con fagos. La terapia con fagos es un tema de interés actual por sus ventajas potenciales en la lucha contra las bacterias resistentes a los antibióticos y su aplicación potencial en la clínica (Saus et al., 2019).

19. INTEGRACIÓN DE LOS DATOS DEL MICROBIOMA EN LA MEDICINA DE PRECISIÓN PARA LA PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORRECTAL

La considerable evidencia de que la detección del CCR en estadio precoz puede tratarse con excelentes resultados clínicos -cuentan con supervivencias del 90% a 5 años, en comparación con el 14% del CCR metastásico- justifica la continua búsqueda de una prueba de detección precisa, asequible y no invasiva con una alta sensibilidad tanto para el CCR como para los adenomas avanzados (Wong and Yu, 2019).

Una aplicación emergente de la microbiota intestinal es su uso como biomarcador; un biomarcador indica la presencia o gravedad de una enfermedad. El creciente número de datos metagenómicos de la microbiota en el CCR proporciona una rica fuente para seleccionar biomarcadores útiles. Ya son varios los estudios que han informado de las asociaciones entre biomarcadores bacterianos y los resultados clínicos o la eficacia del tratamiento en el CCR, lo que aumenta el potencial para su uso en el pronóstico y tratamiento (Wong and Yu, 2019).

Actualmente, el test inmunoquímico fecal (FIT) cuenta con una sensibilidad del 79% para la detección del CCR y del 25-27% para detectar adenomas colorrectales avanzados. Y aunque la prueba de ADN multiobjetivo en heces (ADN-MO) podría detectar potencialmente más cánceres que la FIT (sensibilidad del 92,3%), sigue estando limitada por una sensibilidad subóptima para detectar adenomas avanzados (sensibilidad del 42,4%). Varios estudios han utilizado múltiples especies bacterianas para intentar distinguir a los pacientes con CCR de los individuos sanos, entre las que *F. nucleatum* surgió como un marcador clave. Y ya se ha demostrado que la adición de *F. nucleatum* fecal a la FIT en una prueba multiobjetivo aumenta el área bajo la curva (AUC) de 0,86 a 0,95 pudiendo proporcionar una sensibilidad y especificidad superiores en la detección del CCR (Wong and Yu, 2019).

Como hemos comentado, las pruebas de detección actuales tienen baja sensibilidad para detectar adenomas colorrectales. Y hasta ahora, los diferentes estudios sobre marcadores que puedan detectar adenomas arrojan resultados no concluyentes. Pero lo que si se ha demostrado en la misma línea con lo que ocurre en el CCR, es que la cuantificación de *F. nucleatum* en muestras fecales diferencia a los pacientes con adenomas de los individuos sanos (Wong and Yu, 2019).

Los investigadores también han buscado biomarcadores más allá de las muestras fecales. Varios estudios han informado asociaciones entre el CCR y la microbiota oral, lo que plantea la posibilidad de perfilar las bacterias orales para predecir el CCR. También existen múltiples estudios que informan de asociaciones entre la bacteriemia de organismos específicos y los diagnósticos posteriores de CCR, como es el caso de *S. gallolyticus*, lo que ha llevado al desarrollo de una prueba de serología multiplex. La evaluación de anticuerpos séricos contra *F. nucleatum* también podría ser un biomarcador potencial para detectar el CCR (Wong and Yu, 2019).

Ya se mencionó que varios metabolitos microbianos están asociados al CCR, lo que convierte al metaboloma en un rico inventario para el descubrimiento de biomarcadores. Varios estudios han encontrado niveles diferenciadores de AGCC y ácidos biliares en muestras fecales en pacientes con CCR en comparación con los controles, estos metabolitos podrían servir como "huellas dactilares" para detectar CCR (Wong and Yu, 2019). Sin embargo, debido a la heterogeneidad de los estudios, es difícil hacer una comparación confiable entre los mismos, por lo que se necesitan estudios más amplios para evaluar el papel del metaboloma en la detección del CCR.

Aparte de su potencial para el diagnóstico de CCR, las asociaciones entre los biomarcadores bacterianos y los resultados clínicos del CCR han planteado la posibilidad de utilizarlos como marcadores de pronóstico. Ya se ha comentado la relación inversa entre la cantidad tumoral de *F. nucleatum* y la supervivencia en el CCR. Este hallazgo destaca el potencial de cuantificar *F. nucleatum* en el tejido tumoral como marcador pronóstico y, lo que es más importante, ofrece la esperanza de que la erradicación de la bacteria podría mejorar el pronóstico y la supervivencia de la enfermedad. Sin embargo, algunos estudios sugieren que *F. nucleatum* está asociado con el subtipo genético CIMP y una ubicación del tumor proximal. El pronóstico podría verse confundido por estos factores, y es imperativo realizar más estudios de validación antes de utilizar estos biomarcadores en el contexto clínico (Wong and Yu, 2019).

20. CONCLUSIONES

En los últimos años ha habido un aumento exponencial en el conocimiento sobre la microbiota intestinal en relación al CCR, y se han aclarado cada vez más los mecanismos por los que los microorganismos intestinales inician y facilitan el proceso de carcinogénesis, incluyendo factores de virulencia, genotoxinas, metabolitos bacterianos, la generación de ROS o la formación de biopelículas. Los estudios funcionales basados en técnicas -ómicas ayudaran a profundizar en estos hallazgos para obtener nuevas aplicaciones clínicas. Por su parte, la vitamina D ejerce una acción protectora en esta dinámica, dando forma a la composición de la microbiota y al sistema inmune gracias a la casi omnipresencia de VDR en el organismo. De ésta forma *controla procesos como la proliferación o la diferenciación en gran multitud de tipos celulares.*

Los estudios epidemiológicos han sugerido que la deficiencia de vitamina D aumenta la incidencia de CCR e impacta negativamente en la supervivencia de los pacientes con esta enfermedad. Sin embargo, los ensayos clínicos que evalúan los beneficios de los suplementos de vitamina D en el CCR no son concluyentes. Por lo tanto, se requieren más estudios clínicos con un tamaño muestral adecuado y un diseño aleatorizado para confirmar la estrecha interacción entre la vitamina D, la microbiota, y el CCR.

LISTA DE ABREVIATURAS

(AGCC)	Ácidos grasos de cadena corta
(AICR)	Instituto Estadounidense de Investigación del Cáncer
(AMPs)	Proteínas antimicrobianas
(APRIL)	Ligando inductor de proliferación
(CEI)	Células epiteliales intestinales
(CIF)	Factor inhibidor del ciclo celular
(CNF-1)	Factor necrosante citotóxico
(CTLA-4)	Antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos
(EII)	Enfermedad inflamatoria intestinal
(EMT)	Transición epitelio-mesénquima
(ETBF)	<i>B. fragilis</i> enterotoxigénico
(FIT)	Test inmunoquímico fecal
(FMT)	Trasplante de microbiota fecal
(GALT)	Tejidos linfoides asociados al intestino
(GI)	Gastrointestinal
(GLP-1)	Péptido-1 similar al glucagón
(GPR)	Receptores acoplados a proteínas G
(ICI)	Inhibidores del punto de control inmunitario
(ID)	Intestino delgado
(IGF1)	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
(IL)	Interleucina
(ILC3)	Células linfoides innatas del grupo 3

(JAK2)	Janus quinasa 2
(LPS)	Lipopolisacárido
(MAMP)	Patrones moleculares asociados a microbios
(MetaHIT)	Metagenoma del Tracto Intestinal Humano
(NF- κ B)	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
(ODN)	Oligodesoxinucleótidos CpG
(OTU)	Unidades taxonómicas operativas
(PCR)	Reacción en cadena de la polimerasa
(PD-L1)	Ligando 1 de muerte programada
(pks)	Isla genómica de la poliquétido sintetasa
(PPAR- γ)	Receptores activados por proliferadores de peroxisomas
(PRR)	Receptor de reconocimiento de patrones
(PYY)	Péptido YY
(RNS)	Especies reactivas de nitrógeno
(sIgA)	Inmunoglobulina A secretora
(SNG)	Tecnologías de secuenciación de nueva generación
(STAT3)	Transductor de señal y activador de la transcripción-3
(TLR)	Receptor tipo Toll
(VDR)	Receptor de la vitamina D
(WCRF)	Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer
(5-FU)	5-fluorouracilo

BIBLIOGRAFÍA

- Amrane, Sophie, Didier Raoult, and Jean Christophe Lagier. 2018. 'Metagenomics, Culturomics, and the Human Gut Microbiota'. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 16 (5): 373–75. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1467268>.
- Arumugam, Manimozhiyan, Jeroen Raes, Eric Pelletier, Denis Le Paslier, Takuji Yamada, Daniel R. Mende, Gabriel R. Fernandes, et al. 2011. 'Enterotypes of the Human Gut Microbiome'. *Nature* 473 (7346): 174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>.
- Cani, Patrice D. 2018. 'Human Gut Microbiome: Hopes, Threats and Promises'. *Gut* 67 (9): 1716–25. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316723>.
- Cao, Yiyun, Joonseok Oh, Mengzhao Xue, Won Jae Huh, Jiawei Wang, Jaime A. Gonzalez-Hernandez, Tyler A. Rice, et al. 2022. 'Commensal Microbiota from Patients with Inflammatory Bowel Disease Produce Genotoxic Metabolites'. *Science (New York, N.Y.)* 378 (6618): eabm3233. <https://doi.org/10.1126/science.abm3233>.
- Carlberg, Carsten, and Alberto Muñoz. 2022. 'An Update on Vitamin D Signaling and Cancer'. *Seminars in Cancer Biology* 79 (February): 217–30. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.05.018>.
- Cheng, Mingyue, and Kang Ning. 2019a. '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>.
- Cheng, Yiwen, Zongxin Ling, and Lanjuan Li. 2020a. 'The Intestinal Microbiota and Colorectal Cancer'. *Frontiers in Immunology* 11: 615056. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615056>.
- Chew, Siang-Siang, Loh Teng-Hern Tan, Jodi Woan-Fei Law, Priyia Pusparajah, Bey-Hing Goh, Nurul Syakima Ab Mutalib, and Learn-Han Lee. 2020. 'Targeting Gut Microbial Biofilms—A Key to Hinder Colon Carcinogenesis?' *Cancers* 12 (8): 2272. <https://doi.org/10.3390/cancers12082272>.
- Clay, Slater L., Diogo Fonseca-Pereira, and Wendy S. Garrett. 2022. 'Colorectal Cancer: The Facts in the Case of the Microbiota'. *The Journal of Clinical Investigation* 132 (4): e155101. <https://doi.org/10.1172/JCI155101>.
- Ternes, D., Karta J, Tsenkova M, Wilmes P, Haan S, and Letellier E. 2020. 'Microbiome in Colorectal Cancer: How to Get from Meta-Omics to Mechanism?' *Trends in Microbiology* 28 (5). <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.01.001>.
- Donaldson, Gregory P., S. Melanie Lee, and Sarkis K. Mazmanian. 2016. 'Gut Biogeography of the Bacterial Microbiota'. *Nature Reviews. Microbiology* 14 (1): 20–32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>.

- Ferrer-Mayorga, Gemma, María Jesús Larriba, Piero Crespo, and Alberto Muñoz. 2019. 'Mechanisms of Action of Vitamin D in Colon Cancer'. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 185 (January): 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.07.002>.
- Fong, Winnie, Qing Li, and Jun Yu. 2020. 'Gut Microbiota Modulation: A Novel Strategy for Prevention and Treatment of Colorectal Cancer'. *Oncogene* 39 (26): 4925–43. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1341-1>.
- Garrett, Wendy S. 2019. 'The Gut Microbiota and Colon Cancer'. *Science (New York, N.Y.)* 364 (6446): 1133–35. <https://doi.org/10.1126/science.aaw2367>.
- Jandhyala, Sai Manasa, Rupjyoti Talukdar, Chivkula Subramanyam, Harish Vuyyuru, Mitnala Sasikala, and D Nageshwar Reddy. 2015. 'Role of the Normal Gut Microbiota'. *World Journal of Gastroenterology : WJG* 21 (29): 8787–8803. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>.
- Jovel, Juan, Jordan Patterson, Weiwei Wang, Naomi Hotte, Sandra O'Keefe, Troy Mitchel, Troy Perry, et al. 2016. 'Characterization of the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics'. *Frontiers in Microbiology* 7 (April). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00459>.
- Keum, NaNa, and Edward Giovannucci. 2019. 'Global Burden of Colorectal Cancer: Emerging Trends, Risk Factors and Prevention Strategies'. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 16 (12): 713–32. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0189-8>.
- Kim, Jaeho, and Heung Kyu Lee. 2021. 'Potential Role of the Gut Microbiome In Colorectal Cancer Progression'. *Frontiers in Immunology* 12: 807648. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.807648>.
- Koliarakis, Ioannis, Ippokratis Messaritakis, Taxiarchis Konstantinos Nikolouzakis, George Hamilos, John Souglakos, and John Tsiaoussis. 2019. 'Oral Bacteria and Intestinal Dysbiosis in Colorectal Cancer'. *International Journal of Molecular Sciences* 20 (17). <https://doi.org/10.3390/ijms20174146>.
- Lee, Seung Yun, Da Young Lee, Ji Hyeop Kang, Jae Hyeon Kim, Jae Won Jeong, Hyun Woo Kim, Dong Hoon Oh, Seung Hyeon Yoon, and Sun Jin Hur. 2022. 'Relationship between Gut Microbiota and Colorectal Cancer: Probiotics as a Potential Strategy for Prevention'. *Food Research International* 156 (June): 111327. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111327>.
- Malla, Muneer Ahmad, Anamika Dubey, Ashwani Kumar, Shweta Yadav, Abeer Hashem, and Elsayed Fathi Abd_Allah. 2019. 'Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment'. *Frontiers in Immunology* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02868>.
- Murdaca, Giuseppe, Alessandra Gerosa, Francesca Paladin, Lorena Petrocchi, Sara Banchemo, and Sebastiano Gangemi. 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>.

Na, Soo-Young, Ki Bae Kim, Yun Jeong Lim, and Hyun Joo Song. 2022. 'Vitamin D and Colorectal Cancer: Current Perspectives and Future Directions'. *Journal of Cancer Prevention* 27 (3): 147–56. <https://doi.org/10.15430/JCP.2022.27.3.147>.

Peixoto, Renata D'Alpino, Leandro Jonata de Carvalho Oliveira, Thaís de Melo Passarini, Aline Chaves Andrade, Paulo Henrique Diniz, Gabriel Prolla, Larissa Costa Amorim, et al. 2022. 'Vitamin D and Colorectal Cancer - A Practical Review of the Literature'. *Cancer Treatment and Research Communications* 32: 100616.
<https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100616>.

Mirzaei,R., Mirzaei H, Alikhani My, Sholeh M, Arabestani Mr, Saidijam M, Karampoor S, et al. 2020. 'Bacterial Biofilm in Colorectal Cancer: What Is the Real Mechanism of Action?' *Microbial Pathogenesis* 142 (August). <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104052>.

Rinninella, Emanuele, Maria Cristina Mele, Pauline Raoul, Marco Cintoni, and Antonio Gasbarrini. 2022. 'Vitamin D and Colorectal Cancer: Chemopreventive Perspectives through the Gut Microbiota and the Immune System'. *BioFactors (Oxford, England)* 48 (2): 285–93. <https://doi.org/10.1002/biof.1786>.

Saus, Ester, Susana Iraola-Guzmán, Jesse R. Willis, Anna Brunet-Vega, and Toni Gabaldón. 2019. 'Microbiome and Colorectal Cancer: Roles in Carcinogenesis and Clinical Potential'. *Molecular Aspects of Medicine, New insights on the molecular aspects of colorectal cancer*, 69 (October): 93–106. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.05.001>.

Shabana, null, Saleem U. Shahid, and Uzma Irfan. 2018. 'The Gut Microbiota and Its Potential Role in Obesity'. *Future Microbiology* 13: 589–603. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0179>.

Song, Mingyang, Andrew T. Chan, and Jun Sun. 2020. 'Influence of the Gut Microbiome, Diet, and Environment on Risk of Colorectal Cancer'. *Gastroenterology* 158 (2): 322–40. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.06.048>.

Ternes, Dominik, Jessica Karta, Mina Tsenkova, Paul Wilmes, Serge Haan, and Elisabeth Letellier. 2020. 'Microbiome in Colorectal Cancer: How to Get from Meta-Omics to Mechanism?' *Trends in Microbiology* 28 (5): 401–23.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.01.001>.

Thursby, Elizabeth, and Nathalie Juge. 2017. 'Introduction to the Human Gut Microbiota'. *Biochemical Journal* 474 (11): 1823–36. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.

Tilg, Herbert, Timon E. Adolph, Romana R. Gerner, and Alexander R. Moschen. 2018. 'The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer'. *Cancer Cell* 33 (6): 954–64.
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>.

- Tropini, Carolina, Kristen A. Earle, Kerwyn Casey Huang, and Justin L. Sonnenburg. 2017. 'The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function'. *Cell Host & Microbe* 21 (4): 433–42. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.010>.
- Wang, Shuang, Yang Liu, Jun Li, Lei Zhao, Wei Yan, Baiqiang Lin, Xiao Guo, and Yunwei Wei. 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, Sunny H., and Jun Yu. 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, Xusheng, Dou Yu, Di Wu, Xintong Gao, Fei Shao, Min Zhao, Jiang Wang, et al. 2023. 'Tissue-Resident Lachnospiraceae Family Bacteria Protect against Colorectal Carcinogenesis by Promoting Tumor Immune Surveillance'. *Cell Host & Microbe* 31 (3): 418-432.e8. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.01.013>.
- Zhang, Yong-Guo, Rong Lu, Shaoping Wu, Ishita Chatterjee, David Zhou, Yinglin Xia, and Jun Sun. 2020. 'Vitamin D Receptor Protects Against Dysbiosis and Tumorigenesis via the JAK/STAT Pathway in Intestine'. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 10 (4): 729–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.05.010>.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de una forma u otra a la realización de este proyecto. Su apoyo, orientación y dedicación han sido fundamentales para mi.

Me gustaría comenzar agradeciendo a mi tutora, Asunción Seoane, por su apoyo constante en cada etapa del trabajo. Gracias por brindarme tu tiempo, paciencia y atención.

Tampoco puedo dejar de mencionar a mis seres queridos, por su comprensión y apoyo incondicional, ahora y siempre. Gracias por confiar en mi, por animarme a ir a por aquello que deseo, más allá de lo que yo lo hago.

Por supuesto, esto no habría sido posible sin aquellos con los que la vida se ve de otro color, seguiremos bailando, en otros sitios, en otros tiempos.

Una vez más, mi más sincero agradecimiento. Vuestro apoyo ha sido fundamental en mi camino hacia la culminación de esta etapa académica.