



Facultad de **Medicina**

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: Marta Fernández Sancho

Director/es: Asunción Seoane Seoane

Santander, junio 2024

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
OBJETIVOS Y METODOLOGÍA	2
1. INTRODUCCIÓN	2
2. LA MICROBIOTA INTESTINAL	2
3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	3
4. ESTABLECIMIENTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL	4
5. BIOGEOGRAFÍA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL	5
6. VARIACIÓN GLOBAL DE LOS METAGENOMAS INTESTINALES. ENTEROTIPOS.....	7
6.1. El enterotipo está influenciado por varios factores	8
6.2. Controversia sobre los enterotipos.....	9
7. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL	11
7.1. La microbiota intestinal en la salud	11
7.2. La microbiota intestinal en el desarrollo de enfermedades	14
8. FACTORES QUE DETERMINAN EL CRC	15
8.1. Epidemiología	15
8.2. Subtipos de cáncer colorrectal.....	17
9. MICROBIOTA INTESTINAL ASOCIADA AL CRC	18
9.1. Inflamación	19
9.2. Bacterias patógenas y sus factores de virulencia.....	20
9.3. Genotoxinas	21
9.4. Estrés oxidativo	22
9.5. Metabolitos de la dieta y las bacterias	22
10. PAPEL DE LA DIETA Y ESTILO DE VIDA EN EL CRC	24
11. PAPEL DEL BIOFILM EN LA INICIACIÓN DEL CRC	27
12. MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON EL CRC	28
12.1. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	29
12.2. <i>Bacteroides fragilis</i> enterotoxigénico (ETBF)	30
12.3. <i>E. coli</i> en la isla genómica de la poliquétido sintetasa (productor de colibactina)	32
13. IMPACTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA EFICIENCIA Y TOXICIDAD DE LAS TERAPIAS CONTRA EL CRC.....	33
13.1. Quimioterapia	33
13.2. Radioterapia.....	34
13.3. Inmunoterapia	34
14. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA D Y SU IMPACTO EN LA MICROBIOTA INTESTINAL	35

15. RELACIÓN ENTRE DÉFICIT EN VITAMINA D Y DISBIOSIS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL .	36
16. ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR VDR EN EL CRC.....	38
17. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL CALCITRIOL EN EL CRC.....	40
17.1. Efectos sobre las células del CRC	40
17.2. Efectos sobre el estroma tumoral	42
18. MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON FINES TERAPÉUTICOS.....	43
18.1. Intervención dietética	44
18.2. Probióticos	44
18.3. Prebióticos	45
18.4. Postbióticos.....	46
18.5. Trasplante de microbiota fecal.....	46
19. INTEGRACIÓN DE LOS DATOS DEL MICROBIOMA EN LA MEDICINA DE PRECISIÓN PARA LA PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CRC	47
20. CONCLUSIONES	48
LISTA DE ABREVIATURAS	50
BIBLIOGRAFÍA	53
AGRADECIMIENTOS	56

RESUMEN

La microbiota intestinal desempeña funciones fisiológicas vitales, y cada vez se hace más evidente la relación entre una microbiota intestinal equilibrada (eubiosis) y un estado de salud óptimo. El desequilibrio en la composición de la microbiota intestinal (disbiosis) se ha asociado con el desarrollo de enfermedades intestinales, incluyendo el cáncer colorrectal (CRC), que es la tercera neoplasia maligna más comúnmente diagnosticada y la segunda causa de muerte por cáncer.

Gracias a los avances en el conocimiento del microbioma intestinal, se han identificado las bacterias patógenas vinculadas a la carcinogénesis colorrectal y sus mecanismos de acción. Además, estudios recientes han demostrado que la vitamina D y su receptor (VDR) están estrechamente relacionados, tanto directa como indirectamente, con el desarrollo del CRC, debido a su papel en el mantenimiento de la homeostasis intestinal.

Estos hallazgos sugieren la posibilidad de utilizar la microbiota con fines diagnósticos y preventivos, así como la necesidad de desarrollar estrategias para la modulación de la microbiota con objetivos terapéuticos.

Palabras clave: microbiota, disbiosis, CRC, vitamina D, VDR

ABSTRACT

The intestinal microbiota performs many vital physiological functions, and the relationship between a balanced intestinal microbiota (eubiosis) and optimal health is becoming increasingly evident. Imbalance in the composition of the intestinal microbiota (dysbiosis) has been associated with the development of intestinal diseases, including colorectal cancer (CRC), which is the third most diagnosed cancer and the second leading cause of cancer death.

Thanks to advances in the understanding of the intestinal microbiome, the pathogenic bacteria linked to colorectal carcinogenesis and their mechanisms of action have been identified. Additionally, recent studies have shown that vitamin D and its receptor (VDR) are closely related, both directly and indirectly, to the development of CRC, due to their role in maintaining intestinal homeostasis.

These findings suggest the potential use of the microbiota for diagnostic and preventive purposes, as well as the need to develop strategies for microbiota modulation with clinical targets.

Key words: microbiota, dysbiosis, CRC, vitamin D, VDR

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

La finalidad de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica lo más exhaustiva posible de todo lo publicado hasta el momento acerca del papel de la microbiota intestinal en el CRC, así como del papel que juega la microbiota intestinal y las deficiencias de vitamina D en el desarrollo de la disbiosis y 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 humano alberga una población compleja y dinámica de microorganismos, la microbiota intestinal. Las bacterias intestinales desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis inmune y metabólica y en la protección contra patógenos. Son múltiples los factores que contribuyen al establecimiento de la microbiota intestinal humana durante la infancia, así como a su desarrollo a lo largo de la vida, siendo la dieta uno de los principales. La composición bacteriana intestinal alterada (disbiosis) se ha asociado con la patogénesis de muchas enfermedades e infecciones inflamatorias (Thursby and Juge 2017). En esta revisión nos centraremos en el impacto de la microbiota intestinal en el desarrollo del CRC debido a la evidencia experimental del papel clave que ejerce la microbiota intestinal. Además, también se abordará el efecto antitumoral de la vitamina D ya que la microbiota intestinal se ve alterada por deficiencias en vitamina D y que la disfunción del receptor de la vitamina D da lugar a disbiosis.

2. LA MICROBIOTA INTESTINAL

El conjunto de virus, bacterias, arqueas y eucariotas (hongos y parásitos) que colonizan el tracto gastrointestinal se denomina "microbiota intestinal" y ha evolucionado conjuntamente con el huésped durante miles de años para formar una relación intrincada y mutuamente beneficiosa. Se ha estimado que el número de microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal supera los 10^{14} , del mismo orden que el número de células humanas. Como resultado de la gran cantidad de células bacterianas en el cuerpo, así como la gran diversidad, la estabilidad y la resiliencia, y la interacción simbiótica con el huésped, podemos definir al huésped y a los microorganismos que lo habitan como un "superorganismo" (Thursby and Juge 2017).

La microbiota ofrece muchos beneficios al huésped, a través de una variedad de funciones fisiológicas como fortalecer la integridad intestinal o dar forma al epitelio intestinal, recolectar energía, proteger contra patógenos y regular la inmunidad del huésped. Sin embargo, existe la posibilidad de que estos mecanismos se alteren como resultado de una composición microbiana alterada, conocida como disbiosis. Con el desarrollo de métodos cada vez más sofisticados para perfilar y caracterizar ecosistemas

complejos, el papel de la microbiota en un gran número de enfermedades intestinales y extraintestinales se ha vuelto cada vez más evidente (Thursby and Juge 2017).

3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Hace unas décadas, la mayor parte del conocimiento sobre la microbiota intestinal humana adulta procedía de métodos basados en cultivos que requerían mucha mano de obra (Thursby and Juge 2017). La llegada de la secuenciación de Sanger hace 40 años fue revolucionaria, ya que permitió descifrar por primera vez secuencias completas del genoma. Sin embargo, esta secuenciación requería demasiada mano de obra, tiempo y dinero. Por ello, se aceleró el desarrollo de métodos más baratos y rápidos, produciéndose una segunda revolución cuando aparecieron las tecnologías de secuenciación masiva o de nueva generación (NGS) (Van Dijk et al. 2018). 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.

La utilidad del enfoque metagenómico se basa en el hecho de que la secuencia de ADN de las regiones entre áreas conservadas del ARNr 16S varía entre diferentes especies bacterianas y puede ser específica de cada especie. La metagenómica basada en amplicones del gen del ARNr 16S (bibliotecas 16S) es muy utilizada ya que el ARNr 16S está presente en todas las bacterias y arqueas. 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. 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). Este enfoque metagenómico ha ido evolucionando desde la secuenciación de la totalidad del gen ARNr 16S, pasando por la secuenciación de subregiones más cortas de dicho gen, hasta la secuenciación metagenómica de escopeta que emplea todo el genoma (Thursby and Juge 2017).

La secuenciación metagenómica de escopeta ó "shotgun" utiliza secuencias de ADN genómico aleatorias obtenidas al romper el ADN genómico total y comparando las secuencias obtenidas con una base de datos de secuencias de ADN conocidas, utilizando genes marcadores específicos de clados o secuencias comunes. La secuenciación masiva de muestras metagenómicas, como se utilizó en el Proyecto del Microbioma Humano (HMP) y Metagenómica del Tracto Intestinal Humano (MetaHIT), proporciona información extensa de secuencias incluso de componentes menores (taxones) presentes en el metagenoma. Esto permite la identificación y caracterización de los genes presentes dentro de una comunidad microbiana dada. La elección del ARNr 16S o de la secuenciación "shotgun" normalmente viene determinada por la naturaleza de los estudios que se van a realizar. Por ejemplo, el ARNr 16S es adecuado para analizar un gran número de muestras (múltiples pacientes) estudios longitudinales, etc., pero ofrece una resolución funcional limitada. Sin embargo, 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, alto rendimiento y

experiencia técnica mínima. Se han desarrollado varias plataformas NGS diferentes que se utilizan comúnmente. Sin embargo, la tecnología de secuenciación de Illumina y, en especial, Illumina HiSeq, actualmente domina el mercado de NGS, dada su rentabilidad y avances en la producción de datos (Malla et al. 2019).

Si bien las tecnologías NGS son extremadamente poderosas, su principal limitación son sus longitudes de lectura cortas (longitud de lectura máxima de 2 x 300 pb de la plataforma MiSeq de Illumina). De forma más reciente, se han desarrollado tecnologías de secuenciación de tercera generación (TGS). Algunas de estas son Pacific Biosciences (PacBio), la cual emplea tecnologías de secuenciación en tiempo real de una sola molécula (SMRT), y, más recientemente, Oxford Nanopore Technologies (ONT) que introdujo la secuenciación de nanoporos. Además de la ausencia de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y del proceso de secuenciación en tiempo real, una característica importante de la SMRT y la secuenciación de nanoporos es la producción de lecturas largas (hasta varias decenas de kilobases. o incluso hasta 1 Mb (nanoporo)). A pesar de que esta secuenciación de tercera generación también presenta algunos inconvenientes, supone un enfoque prometedor para la secuenciación de alto rendimiento y como herramienta en un futuro próximo (Van Dijk et al. 2018).

Tanto la NGS como la SMRT han generado una gran cantidad 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. Las herramientas informáticas deben ser de uso sencillo, de gran accesibilidad, disponibilidad de código abierto y con 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

El desarrollo de la microbiota intestinal comienza desde el nacimiento, aunque algunos estudios demuestran que ya desde el desarrollo intrauterino se pueden detectar microbios en los tejidos del útero, como en la placenta. Tras el nacimiento, el tracto gastrointestinal se coloniza rápidamente y es modificado a lo largo de la vida por diferentes acontecimientos (Thursby and Juge 2017). Inicialmente, la microbiota es indiferenciada y está influenciada por la edad gestacional, el tipo de parto (vaginal o cesárea), la lactancia materna y el destete. En primer lugar, la edad gestacional de nacimiento es un determinante importante en la colonización de la microbiota intestinal. La composición de la microbiota de los bebés prematuros (< 37 semanas de gestación) es diferente a la de los bebés a término. Los bebés prematuros muestran una baja diversidad (menor concentración de *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides* y *Firmicutes*) con una mayor colonización de bacterias potencialmente patógenas (Rinninella et al. 2019). Asimismo, el modo de parto también influye en la composición de la microbiota. Los bebés nacidos por vía vaginal desarrollan una microbiota con una composición similar a la microbiota vaginal de su madre, rica en *Lactobacillus*, *Bifidobacterium spp.*, *Prevotella* y *Sneathia spp.* Mientras tanto, los que nacen por cesárea adquieren bacterias derivadas del ambiente hospitalario y de la piel de la madre (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*,

Propionibacterium spp), y su microbiota está preferentemente colonizada por anaerobios facultativos (ej. *Clostridium*), por lo que se retrasa su colonización por el género *Bacteroides* (Thursby and Juge 2017, Rinninella et al. 2019). En las primeras semanas de vida, los bebés por cesárea tienen una menor diversidad bacteriana en el tracto intestinal inferior que los bebés que nacen por vía vaginal. Sin embargo, un estudio reciente informó que la microbiota intestinal se normaliza con respecto al microbioma de la madre después de 6 semanas, independientemente del modo de parto (Shabana et al. 2018). Por último, el método de lactancia es otro determinante. Así, los lactantes amamantados reciben una microbiota con mayor riqueza y diversidad de *Bifidobacterium spp* y *Ruminococcus*, mientras que los lactantes alimentados con fórmula poseen mayores proporciones de *Clostridiodes difficile*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* y *Lactobacillus*. En resumen, el perfil de la microbiota intestinal en los bebés nacidos a término, nacidos por vía vaginal y amamantados con una microbiota de la leche materna sana y equilibrada se considera saludable (Rinninella et al. 2019). Así, en las primeras etapas de desarrollo, la microbiota generalmente tiene 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 más similar al de un adulto, con patrones temporales que son únicos para cada bebé. Es alrededor de los 2,5 años, cuando tanto la composición, diversidad y capacidades funcionales de la microbiota infantil se parecen a las de la adulta, gracias a la dieta y, en concreto, la transición a alimentos sólidos, que juega un papel clave. En la edad adulta la composición es relativamente estable, dominada por los filos Bacteroidetes y Firmicutes, pero está sujeta a alteraciones por diferentes acontecimientos de la vida, como enfermedades, tratamientos con antibióticos, cambios en la dieta... (Thursby and Juge 2017).

En personas mayores de 65 años, los cambios en la dieta y el sistema inmunológico afectan potencialmente la composición de la microbiota intestinal. La comunidad microbiana cambia, con una disminución de *Bifidobacterium* y un aumento de *Proteobacteria* y *Clostridium* grupo IV (Thursby and Juge 2017). La disminución de la bacteria anaeróbica *Bifidobacterium* se considera relevante para el deterioro del estado inflamatorio debido a su papel en la estimulación del sistema inmunológico (Hou et al. 2022).

5. BIOGEOGRAFÍA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota intestinal está compuesta por varias especies de microorganismos, incluidas bacterias, arqueas y eucariotas. Sólo unos pocos filos están representados y componen más de 160 especies. Son 5 los filos bacterianos dominantes en la microbiota intestinal humana: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria y Verrucomicrobia, donde los dos filos Firmicutes y Bacteroidetes representan el 90% de la microbiota intestinal. El filo Firmicutes está compuesto por más de 200 géneros diferentes, como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* y *Ruminococcus*, donde los géneros *Clostridium* representan el 95% de los filos de Firmicutes. Bacteroidetes se compone de géneros predominantes como *Bacteroides* y *Prevotella*. El

filo Actinobacteria es proporcionalmente menos abundante y está representado principalmente por el género *Bifidobacterium* (Rinninella et al. 2019).

La localización microbiana varía según las regiones anatómicas del intestino, que varían en términos de fisiología, pH y tensión de O₂, tiempo de tránsito, disponibilidad de sustrato y secreciones del huésped (Figura 1) (Rinninella et al. 2019). Por un lado, el intestino delgado es más ácido y rico en oxígeno y antimicrobianos (incluidos los ácidos biliares, segregados por el conducto biliar), y presenta un tiempo de tránsito corto, propiedades que limitan el crecimiento bacteriano, por lo que alberga principalmente anaerobios facultativos adaptados a competir por los carbohidratos simples. En el intestino delgado, las familias *Lactobacillaceae* y *Enterobacteriaceae* son dominantes. Por otro lado, las condiciones del ciego y el colon sustentan una comunidad densa y diversa de bacterias, principalmente anaerobias fermentativas, con la capacidad de utilizar polisacáridos complejos que no se digieren en el intestino delgado. Las familias predominantes en el colon son *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* (Donaldson, et al. 2016).

Además de la variación en la composición de la comunidad microbiana en el eje longitudinal, varios factores del huésped impulsan diferencias de la comunidad en el eje transversal del intestino (Figura 1). Se han observado diferencias significativas entre el compartimento luminal central y las regiones entre pliegues. Específicamente, las familias de Firmicutes como *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* están enriquecidas entre pliegues, mientras que las familias de Bacteroidetes como *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae* y *Rikenellaceae* están enriquecidas en la digesta (fibras digeridas que transitan por el tracto gastrointestinal) (Donaldson, et al. 2016). Las criptas y los pliegues transversales proporcionan un hábitat protegido y separado del flujo que transporta la digesta luminal. Por lo tanto, los microbios localizados en tales refugios seguros tienen una ventaja al volver a poblar el colon durante el tránsito normal del contenido intestinal y tras la interrupción causada por antibióticos e infecciones (Tropini et al. 2017).

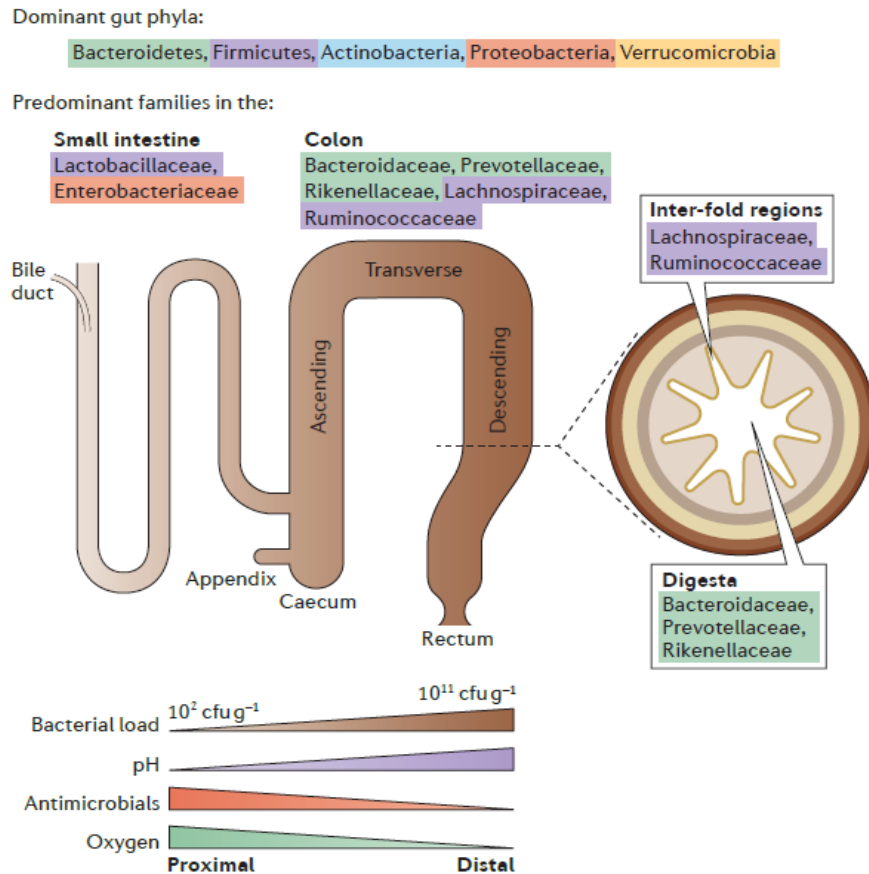


Figura 1. Hábitats microbianos en el tracto gastrointestinal inferior humano. Los filos dominantes en el intestino son Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria y Verrucomicrobia. En la sección transversal del colon se puede observar una zona luminal en la que predominan las *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*, y una zona entre los pliegues del lumen en la que predominan las familias *Lachnospiraceae* y las *Ruminococcaceae*. Adaptado de (Donaldson, et al. 2016).

Tradicionalmente, los estudios basados en cultivos han dado como resultado un concepto de microbioma central, es decir, hay un núcleo de colonizadores estables (por ejemplo, *E. coli* se aísla de la mayoría de los individuos) alrededor del cual otros microbios fluctúan ligeramente en número y diversidad. Sin embargo, estudios de secuenciación independientes del cultivo han mostrado que la microbiota intestinal presenta gran variabilidad tanto intra como interindividual, debida principalmente al nivel del índice de masa corporal (IMC) y a factores externos como el estilo de vida, la frecuencia del ejercicio, el origen étnico y los hábitos dietéticos y culturales. Por lo tanto, la composición final de la microbiota intestinal es muy específica y el concepto de microbioma central es cada vez menos aceptado (Rinninella et al. 2019).

6. VARIACIÓN GLOBAL DE LOS METAGENOMAS INTESTINALES. ENTEROTIPOS

El microbioma intestinal varía considerablemente entre individuos en términos de tiempo y espacio, lo cual ha sido un obstáculo para las aplicaciones médicas basadas en la microbiota intestinal. El concepto de enterotipo, propuesto en 2011 y definido como

“grupo de comunidades microbianas intestinales con composición bacteriana similar”, busca superar esta variabilidad al estratificar la microbiota intestinal en tres grupos robustos: Enterotipo 1 con gran abundancia de *Bacteroides*, enterotipo 2 con gran abundancia de *Prevotella* y enterotipo 3 con gran abundancia de *Ruminococcus*. Este último enterotipo no está bien separado y algunos estudios sugieren fusionarlo con los *Bacteroides* y/o *Prevotella*, debido a su menor relevancia entre las muestras del microbioma intestinal y posibles sesgos analíticos (Cheng and Ning 2019).

6.1. El enterotipo está influenciado por varios factores

Dado que los enterotipos se definen en función de la microbiota intestinal, que cambia rápidamente en respuesta a las intervenciones, los enterotipos no son constantes para los individuos, sino que también se ven afectados dinámicamente por diversos factores. Por ejemplo, la ingesta dietética y la administración de antibióticos tienen un impacto significativo en nuestra mucosa intestinal. Además, muchos factores como la dieta, el estilo de vida y el estrés ambiental varían durante las diferentes etapas de edad, haciendo de la edad una combinación de estos factores que impacta en gran medida tanto patrones de enterotipo como de identificación. Sin embargo, la alternancia de la composición de la microbiota en un corto plazo podría no ser suficiente para cambiar el enterotipo, debido a la reversibilidad y estabilidad relativa de la microbiota intestinal (Cheng and Ning 2019).

6.1.1. Los efectos de la dieta. El impacto del ajuste dietético a corto plazo (menos de un mes) en la microbiota intestinal puede provocar un cambio rápido y significativo en la composición de la microbiota que, sin embargo, no es lo suficientemente fuerte como para conducir a cambios estables entre los enterotipos (Cheng and Ning 2019). Por otro lado, durante los cambios ambientales a largo plazo, la composición de la microbiota intestinal está determinada predominantemente por hábitos dietéticos, y dicha dinámica es muy variable entre individuos. Por ejemplo, el enterotipo *Bacteroides* prefiere las proteínas y grasas animales, caracterizadas por el consumo de carne, como en una dieta occidental, mientras que el enterotipo *Prevotella* prefiere los carbohidratos y azúcares simples, típicos de la dieta basada en carbohidratos de las sociedades agrarias. Aún se desconoce si las intervenciones dietéticas a largo plazo (que generalmente duran más de varios meses) pueden cambiar de manera estable los enterotipos, pero un estudio reciente ha revelado que, incluso al cabo de medio año, los enterotipos de los individuos chinos pueden revertirse después de que los sujetos vuelvan a su dieta habitual. Por lo tanto, es necesario investigar más a fondo el impacto del cambio dietético a largo plazo (Cheng and Ning 2019).

6.1.2. Los efectos de los antibióticos. Los antibióticos pueden tener efectos tanto temporales como permanentes en nuestra microbiota intestinal, pero, además, es probable que estos efectos se vean influidos por los enterotipos de los sujetos (provocando un aumento y/o disminución de diferentes géneros bacterianos)(Cheng and Ning 2019).

6.1.3. Correlación con la edad. La estabilidad y composición de la microbiota intestinal varían en gran medida con las diferentes etapas de la vida humana (infancia, niñez, edad adulta y vejez), por lo que los resultados del análisis de enterotipo serían diferentes cuando se utilizan muestras intestinales de sujetos en diferentes etapas de edad (Cheng and Ning 2019).

6.2. Controversia sobre los enterotipos

Existen controversias sobre la consistencia de los enterotipos ya que diferentes métodos aplicados a las mismas muestras pueden arrojar resultados variables. Lo esperado sería que los enterotipos pudieran separar muestras y observar un gradiente de la relación logarítmica de la abundancia relativa entre *Bacteroides* y *Prevotella* que nos permitiese estratificar las muestras en grupos. Sin embargo, cuando los estudios ampliaban el número de muestras lo que se observó es que las muestras de diferentes enterotipos no podían ser separadas en grupos distintos como se observa en la Figura 2. Es decir, en lugar de enterotipos discretos, la distribución se considera un continuo que cambia del tipo de microbiota impulsado por *Bacteroides* al impulsado por *Prevotella* (Cheng and Ning 2019).

Aunque inicialmente se ha considerado que los enterotipos de los sujetos son estables durante un largo periodo de tiempo (5-10 años), con una composición de microbiota variable, pero dentro de límites, estudios posteriores a corto y largo plazo han revelado que dicha estabilidad está sujeta a cambios ambientales y no es sólida a largo plazo. Es cierto que debe validarse en una cohorte grande, pero, en un principio, parece inapropiado clasificar a las personas únicamente según sus enterotipos. Es necesario monitorear la variación de estos a intervalos de tiempo frecuentes para comprender la variabilidad de la microbiota intestinal (Cheng and Ning 2019).

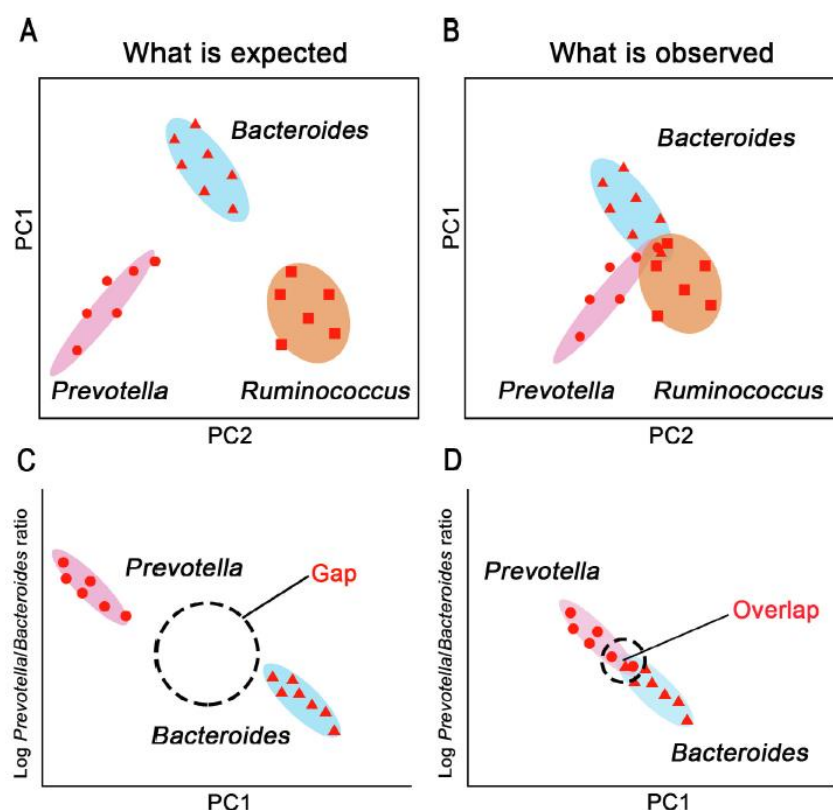


Figura 2. Los enterotipos podrían ser continuos más que discretos. Se estima que la distribución de los enterotipos es continua cambiando de patrones de microbiota donde *Bacteroides* es dominante a patrones de microbiota donde *Prevotella* es dominante. Adaptado de (Cheng and Ning 2019).

Se ha pensado que los enterotipos podrían ser útiles como biomarcadores para correlacionar el microbioma con enfermedades (determinación de riesgo de enfermedad por enterotipos). Se plantea la idea de agrupar pacientes según enterotipos para diagnóstico y terapia personalizados. Sin embargo, estos podrían carecer de resolución suficiente para taxones específicos relacionados con enfermedades, pues, la presencia de un taxón relacionado con una enfermedad en varios enterotipos podría conducir a interpretaciones engañosas del riesgo de enfermedad basado en enterotipos, debido a la falta de límites claros entre ellos. Se concluye que, a pesar de su correlación con algunas enfermedades, los enterotipos podrían no ser apropiados para predecir el riesgo real de la enfermedad debido a los efectos de enmascaramiento, siendo necesarias más investigaciones sobre su viabilidad como biomarcadores (Cheng and Ning 2019).

En resumen, el concepto de enterotipo en el microbioma intestinal humano sigue siendo controvertido, debatiendo si el microbioma intestinal humano puede categorizarse en tipos distintos o simplemente sigue un gradiente continuo. A pesar de la necesidad pragmática de clasificar el microbioma en categorías, los estudios actuales no respaldan ni refutan completamente este concepto. La validación a mayor escala espacial podría permitir una categorización efectiva mediante un método de enterotipo unificado, lo que facilitaría la comprensión de las correlaciones con enfermedades y avanzaría la medicina de precisión basada en la microbiota intestinal (Cheng and Ning 2019).

7. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

7.1. La microbiota intestinal en la salud

Debido a su gran contenido genómico y complemento metabólico, la microbiota intestinal ejecuta muchas funciones vitales que el cuerpo humano no puede realizar, lo que da como resultado una relación simbiótica entre la microbiota y el cuerpo humano. Algunas de las funciones fisiológicas más importantes son ayudar a mantener la integridad de la barrera mucosa, fermentar la fracción no digerible de los alimentos, proporcionar nutrientes (ej. vitaminas), proteger contra patógenos y regular la inmunidad del huésped (interacción microbiota comensal-sistema inmunológico de las mucosas) (Thursby and Juge 2017).

7.1.1. Extracción de energía y nutrientes. Las bacterias del colon expresan enzimas activas en carbohidratos, que les confieren la capacidad de fermentar carbohidratos complejos (que el cuerpo humano no puede metabolizar), generando metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Estos AGCC son rápidamente absorbidos por las células epiteliales en el tracto gastrointestinal, donde participan en la regulación de procesos celulares como la expresión genética, la quimiotaxis, la diferenciación, la proliferación y la apoptosis. Los tres AGCC predominantes son el propionato, butirato y acetato, que se encuentran típicamente en una proporción de 1:1:3 en el tracto gastrointestinal (Thursby and Juge 2017). El acetato es producido por la mayoría de los anaerobios intestinales y participa en la lipogénesis en el tejido adiposo y se oxida en el músculo. El propionato se metaboliza en el hígado y es producido por diferentes subconjuntos de bacterias intestinales, principalmente por Bacteroidetes como *Akkermansia muciniphila* (productor clave de propionato especializado en la degradación de mucina). El butirato es la principal fuente de energía de los colonocitos y, como se muestra en la Figura 3, participa en la mediación de la integridad de la barrera intestinal y se sugiere que tienen efectos saludables directos sobre las células epiteliales intestinales. Es producido por diferentes subconjuntos de bacterias intestinales, fundamentalmente por Firmicutes (ej. *Eubacterium rectale* o *E. hallii*). Este es conocido por sus actividades antiinflamatorias y anticancerígenas, puede atenuar la translocación bacteriana y mejorar la función de la barrera intestinal al afectar el ensamblaje de las uniones estrechas y la síntesis de mucina (Hou et al. 2022).

Además, el propionato y el butirato son reconocidos por los receptores 41 y 43 acoplados a proteínas G (GPR-41 y GPR-43) expresados por las células L-enteroendocrinas dando lugar a la secreción del péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) y del péptido YY (PYY). Esto contribuye a acelerar el metabolismo de la glucosa. El butirato también activa los receptores activados por proliferadores de peroxisomas-gamma (PPAR-γ) provocando la beta-oxidación de ácidos grasos y aumentando el consumo de oxígeno (mantienen 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 lipopolisacárido a la sangre dando lugar a una inflamación de bajo grado (Figura 3) (Hou et al. 2022).

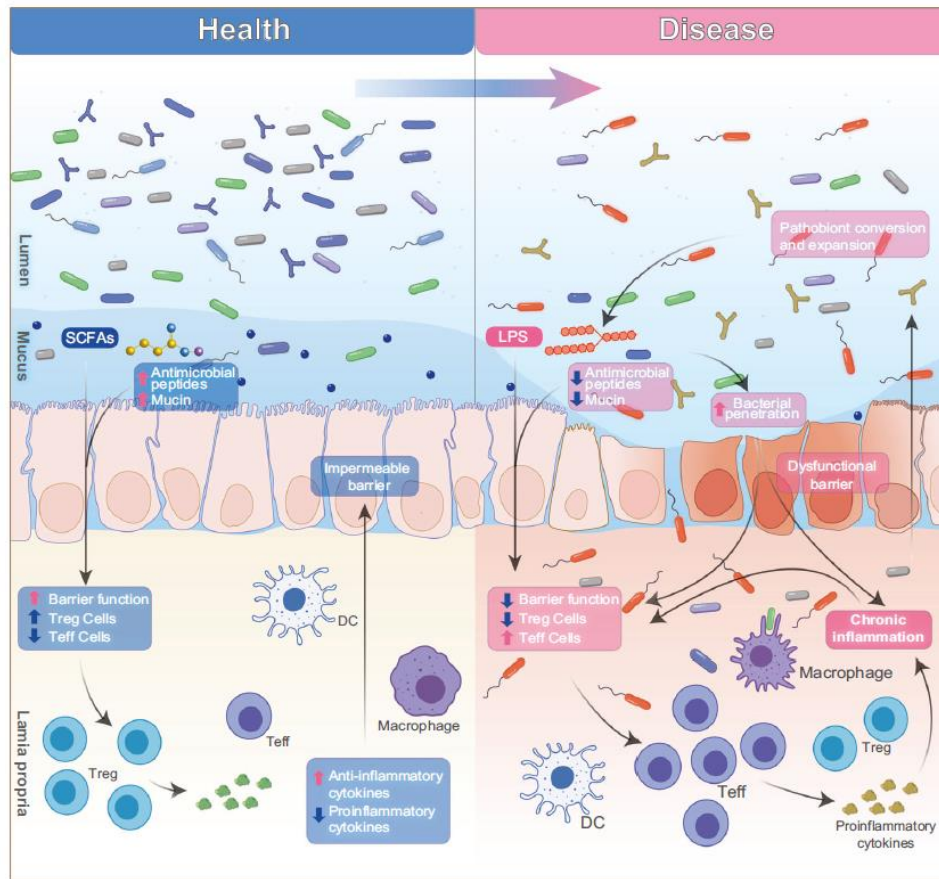


Figura 3. Factores que afectan a la inflamación crónica asociada a la microbiota en la salud y en la enfermedad. Adaptado de (Hou et al. 2022).

Bacterias del género *Bacteroides* contribuyen al metabolismo de los carbohidratos con hidrolasas, transferasas y liasas. Hay que destacar que *Bacteroides thetaiotaomicron* posee un genoma que codifica más de 260 hidrolasas, cifra muy superior a la codificada por el genoma humano.

7.1.2. Síntesis de moléculas bioactivas. La microbiota gastrointestinal también es crucial para la síntesis de novo de vitaminas esenciales que el huésped es incapaz de producir. Un ejemplo son las bacterias lácticas, que participan en la producción de vitamina B12, o las bifidobacterias, que son productoras de folato. Otras vitaminas que la microbiota intestinal sintetiza en humanos son la vitamina K, la riboflavina, la biotina, el ácido nicotínico, el ácido pantoténico, la piridoxina y la tiamina (Thursby and Juge 2017).

7.1.3. Desarrollo del sistema inmunológico e inmunomodulación. La microbiota humana no sólo protege al huésped de patógenos externos mediante la producción de sustancias antimicrobianas, sino que también sirve como un componente importante en el desarrollo de la mucosa intestinal y el sistema inmunológico. La microbiota intestinal

contribuye al desarrollo del sistema inmunológico a través de los tejidos linfoides asociados al intestino compuestos por placas de Peyer (PP), células plasmáticas y linfocitos (Hou et al. 2022). Adicionalmente, para persistir en el intestino, el sistema inmunológico debe tolerar las bacterias no patógenas que se asocian íntimamente con el tejido del huésped. Las bacterias comensales del intestino inducen la inmunomodulación mediante interacciones con células epiteliales y células presentadoras de antígeno (como las células dendríticas), y mediante la producción de metabolitos señalizadores, promoviendo así su propia tolerancia inmunológica. Adicionalmente, varias señales inespecíficas en el intestino también promueven la tolerancia hacia los microorganismos beneficiosos. Por ejemplo, el moco o los AGCC estimulan el desarrollo de células T reguladoras (Donaldson, et al. 2016).

7.1.4. Resistencia a la colonización. La microbiota es un escudo crucial para protegernos de microorganismos exógenos. Esta resistencia a la colonización se logra gracias a varios mecanismos potenciales, entre los que se encuentran la competencia de nutrientes, la producción de antimicrobianos y de moco, el despliegue de bacteriófagos y la infección abortiva (Hou et al. 2022).

Competencia de nutrientes. La composición y abundancia de la microbiota intestinal está determinada por uno o varios substratos nutricionales. Es decir, la capacidad de una especie bacteriana para colonizar el intestino está determinada por su capacidad para utilizar un nutriente limitante específico. En consecuencia, la variedad de sustratos de crecimiento derivados del huésped podría explicar la diversidad estable de la microbiota intestinal (Donaldson et al. 2016).

Producción de antimicrobianos. Debido a la necesidad de competir con bacterias extrañas, las bacterias intestinales han desarrollado diversas formas de suprimir a los competidores, incluida la secreción de diversas bacteriocinas, como el sistema de secreción tipo VI, o bactericidas como la lectina (producida por las células de Paneth) (Donaldson et al 2016). Asimismo, tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa tienen un papel fundamental en el mantenimiento de un entorno homeostático mediante la eliminación de bacterias patógenas. Estos efectos están mediados por factores como la inmunoglobulina A secretora, el receptor tipo toll 5 (TLR5), la autofagia y los inflammasomas. Así el componente principal del flagelo bacteriano, la flagelina, es reconocido por TLR5, que se encuentra expresada activamente en las células B y en las células T CD4+. Las células B diferenciadas producen IgA secretora, que neutraliza el patógeno y la posible infección posterior (Hou et al. 2022).

Producción de moco. El moco, producido por las células caliciformes en el intestino delgado y colon, actúa como una barrera física y antimicrobiana entre el lumen intestinal y el tejido del huésped. Existe una diferencia en la estructura del moco entre el intestino delgado y el colon, con una mayor densidad bacteriana y del propio moco en este último. La superficie del intestino delgado presenta una única capa de moco firmemente adherida, pero más fácilmente penetrable, la cual está colonizada por ciertas especies adherentes, incluidas las bacterias filamentosas segmentadas (SFB), implicadas en la regulación del sistema inmunológico, *Lactobacillaceae* y *Helicobacter spp.* Por el contrario, en el colon, el moco se organiza en dos estructuras de moco distintas. Por un lado, la capa externa suelta, que está colonizada por bacterias degradadoras de mucina

y se caracteriza por la presencia de *A. muciniphila*. Por otro lado, la capa interna de moco adherente y las criptas, que son penetradas a baja densidad por una comunidad más restringida que incluye *Bacteroides fragilis* y *Acinetobacter spp* (Donaldson et al. 2016).

Despliegue de bacteriófagos e infección abortiva. Mediante el mecanismo de despliegue de bacteriófagos, las cepas resistentes exhiben composiciones similares a las de la superficie bacteriana, sirviendo como señuelos para atacar a los fagos, previniendo así las infecciones. El último mecanismo potencial es la infección abortiva, en la que las células infectadas mueren y las circundantes quedan protegidas (Donaldson et al. 2016).

7.1.5. Eje microbiota-intestino-cerebro. El eje intestino-cerebro es fundamental en el mantenimiento de la homeostasis, siendo la microbiota un factor regulador clave del mismo. El eje involucra las interacciones entre los sistemas nerviosos autónomos: sistema nervioso entérico, sistema nervioso central, sistema inmune y sistema endocrino. Este eje es bidireccional entre la microbiota intestinal y el cerebro y existen una serie de factores comunes que contribuyen a la actividad intestino-cerebro: genética, estatus socioeconómico, dieta, medicamentos, factores ambientales, vía de parto, actividad física, relaciones sociales, situaciones de estrés o felicidad, comportamiento cognitivo o enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson. Dentro de todos estos factores, se ha demostrado que los estilos de vida, especialmente la dieta, es uno de los factores más críticos en la modulación del eje intestino-cerebro. Así, una dieta rica en grasas da lugar a una reducción en los niveles de Bacteroidetes y un aumento tanto en Proteobacteria como en Firmicutes. Por el contrario, la dieta mediterránea compuesta de cereales integrales, frutos secos, verduras, frutas y sólo ciertos productos animales (pescado y aves de corral) presenta efectos beneficiosos, reduciendo significativamente la aparición de trastornos neurovegetativos, afecciones psiquiátricas, cáncer y enfermedades cardiovasculares. Asimismo, los medicamentos, especialmente los antibióticos, aunque también cada vez más psicotrópicos (propiedades antimicrobianas), afectan directamente a la microbiota intestinal y, posteriormente, al eje intestino-cerebro (Hou et al. 2022). La microbiota intestinal es el principal productor de serotonina en humanos y está ligada a la activación del sistema nervioso entérico por los receptores de la serotonina (5-HT).

7.2. La microbiota intestinal en el desarrollo de enfermedades

El desequilibrio en la composición de la microbiota intestinal (disbiosis) puede provocar un amplio espectro de enfermedades como cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, diabetes, enfermedades inflamatorias intestinales (EII), enfermedades renales crónicas, enfermedades hepáticas e incluso enfermedades neurodegenerativas a través del conocido eje intestino-cerebro (Hou et al. 2022).

En relación con el cáncer, cada vez hay más pruebas que sugieren que la microbiota intestinal está asociada con el inicio y la progresión del CRC. Tanto las bacterias comensales como las patógenas facilitan la progresión del CRC: 1) Aprovechando los defectos de la barrera de la superficie del tumor, 2) invadiendo el tejido colónico normal e induciendo inflamación local, y 3) produciendo metabolitos genotóxicos para inducir

la transformación oncogénica de las células epiteliales del colon. Se ha caracterizado que las principales bacterias que contribuyen al CRC son *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *B. fragilis*, *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium nucleatum* y *H. pylori*. Estas bacterias son capaces de producir sustancias genotóxicas como colibactina, la toxina de *B. fragilis* y toxina tifoidea que causan daños en el ADN del huésped (Hou et al. 2022).

8. FACTORES QUE DETERMINAN EL CRC

A nivel mundial, el CRC es la tercera neoplasia maligna más comúnmente diagnosticada y la segunda causa de muerte por cáncer. Con su continua progresión en los países occidentales, se prevé que la incidencia del CRC aumentará a 2.2 millones de nuevos casos y 1.1 millones de muertes en todo el mundo para 2030 (Cheng et al. 2020).

8.1. Epidemiología

Como ocurre en muchas enfermedades, la etiología del CRC es muy compleja e involucra factores tanto genéticos como ambientales. Como se muestra en la Figura 4, la mayor parte de los CRC (60 – 65%) surgen esporádicamente a través de alteraciones genómicas somáticas adquiridas. Por otro lado, entre el 35 – 40% de los casos se asocian a una susceptibilidad hereditaria al CRC. Estos componentes hereditarios son aportados por antecedentes familiares de CRC, síndromes de cáncer hereditario como la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y el cáncer colorrectal hereditario no polipósico o síndrome de Lynch (HNPCC), variaciones genéticas comunes conocidas, pero de baja penetrancia, y otras aberraciones hereditarias aún por descubrir, siendo mayor el riesgo cuanto mayor sea el número de familiares de primer grado afectado, y cuando a los familiares se les diagnosticó antes de los 50 años. Independientemente de si los CRC surgen esporádicamente o tienen componentes hereditarios, los factores ambientales pueden influir en su carcinogénesis (Keum and Giovannucci. 2019).

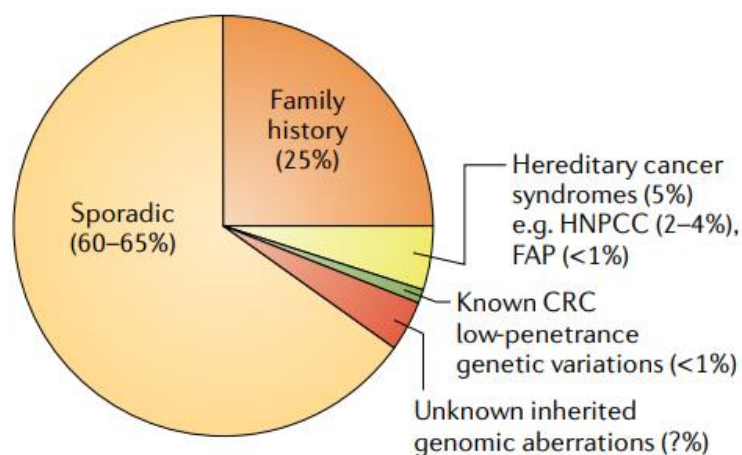


Figura 4. Proporción de casos de cáncer colorrectal asociados con factores esporádicos y hereditarios.
Adaptado de (Keum and Giovannucci 2019).

8.1.1. Factores de riesgo epigenéticos.

Tendencias temporales y regionales. Como ya hemos visto, la mayoría del CRC es esporádico y en gran medida atribuible a la constelación de factores de riesgo ambientales modificables que caracterizan la occidentalización (por ejemplo, obesidad, inactividad física, dietas deficientes, consumo de alcohol y tabaco). Por ello, las tasas de incidencia de CRC más altas se observan en los países económicamente desarrollados, como América del Norte, Europa y Oceanía, y se está desplazando a aquellos países que se van occidentalizando, como América del Sur, Europa del Este y Asia (Keum and Giovannucci. 2019).

Tendencias de edad, sexo y etnia. Como el cáncer es una enfermedad del envejecimiento, las tasas de desarrollo y muerte del CRC aumentan rápidamente después de los 50 años, y se estima que el 90% de los casos y muertes globales ocurren después de esta edad. Asimismo, las tasas de desarrollo y muerte ajustadas por edad son más altas en hombres que en mujeres. Esto se explica porque, en comparación con las mujeres, los hombres parecen tener una vulnerabilidad potencialmente mayor a los factores de riesgo ambientales, y una mayor exposición a dichos factores de riesgo (por ejemplo, grasa visceral, bebidas alcohólicas, tabaquismo y patrones dietéticos deficientes), así como una menor aceptación de la detección del CRC basada en muestras fecales. Además, los hombres no se benefician del efecto protector del estrógeno endógeno como lo hacen las mujeres. Por último, se ha informado que las tasas de CRC son más altas en personas de raza negra. Aunque se han identificado nuevos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) asociados con el riesgo de CRC entre personas de raza negra, no se han informado diferencias raciales en la frecuencia de mutaciones somáticas en genes impulsores de CRC conocidos. La exposición desproporcionada a factores de riesgo modificables y atención médica (por ejemplo, detección y tratamiento) podría impulsar predominantemente las disparidades raciales, más que los factores genéticos (Keum and Giovannucci. 2019).

8.1.2. Factores de riesgo genéticos. La carcinogénesis colorrectal abarca tres aberraciones genéticas y epigenéticas globales: inestabilidad cromosómica (CIN), fenotipo metilador de islas CpG (CIMP) e inestabilidad de microsatélites (MSI). La CIN se caracteriza por anomalías en el número de copias cromosómicas y en la estructura, que se cree que son causadas por errores durante la mitosis, a niveles de genes clave (*APC*, *KRAS*, *TP53*...). CIMP se refiere a la hipermetilación en dinucleótidos CG repetitivos (llamados islas CpG) en las regiones promotoras de genes supresores de tumores (como *MLH1*, *MINT1*, *MINT2* y *MINT3*) que silencian la expresión génica. Por último, MSI se caracteriza por alteraciones en la longitud de los microsatélites, impulsado por la pérdida de genes reparadores del ADN (por ejemplo, *MLH1*), donde la hipermetilación del promotor es la principal causa del silenciamiento génico (Keum and Giovannucci. 2019).

El CRC surge a través de tres vías carcinogénicas principales: la secuencia adenoma-carcinoma, la vía serrada y la vía inflamatoria (Figura 5):

Secuencia adenoma-carcinoma. Esta vía clásica explica la mayoría de los CRC esporádicos y se asocia predominantemente con el desarrollo del subtipo positivo de CIN. En ella, las

células normales progresan a un adenoma pequeño, posteriormente a un adenoma grande y, finalmente, al cáncer.

Vía serrada. Este modelo representa del 10 al 15% del CRC esporádico y se asocia con alta frecuencia con desarrollo del subtipo positivo de CIMP. Esta vía se caracteriza por la progresión desde células normales hasta pólipos hiperplásicos, adenomas serrados sésiles y, finalmente, cáncer.

Vía inflamatoria. En ella, impulsadas por la inflamación crónica, las células normales progresan hacia una displasia indefinida, que evoluciona hacia una displasia de bajo grado, posteriormente hacia una displasia de alto grado y, finalmente, un cáncer. Debido a la baja incidencia de enfermedades inflamatorias intestinales y al tratamiento con colectomía profiláctica, esta vía explica menos del 2% de todo el CRC (Keum and Giovannucci. 2019).

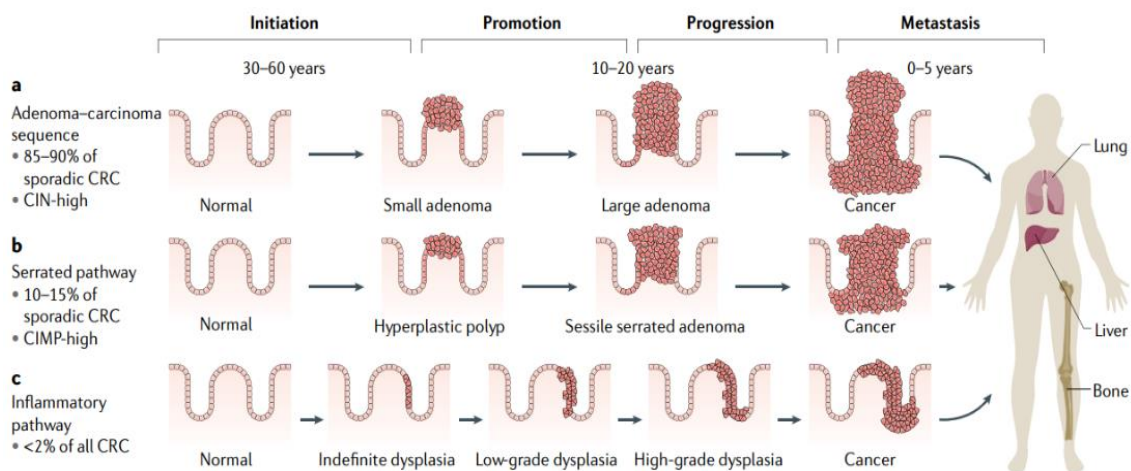


Figura 5. Vías de carcinogénesis CRC. Adaptado de (Keum and Giovannucci. 2019).

8.2. Subtipos de cáncer colorrectal

El CRC es una enfermedad muy heterogénea que consta de diferentes subtipos con etiología y resultados clínicos variables. Los subtipos de CRC se han definido según la localización anatómica del tumor en tres segmentos del colorrectal: colon proximal (desde el ciego hasta el colon transversal), colon distal (desde el ángulo esplénico hasta colon sigmoide) y recto. Los estudios han demostrado que los CRC en diferentes subsitios anatómicos tienen distintos factores de riesgo. Así también, los subtipos moleculares se distribuyen de manera desproporcionada a lo largo del colon y recto (Figura 6). Esta heterogeneidad etiológica del CRC en todas las ubicaciones del tumor podría, en parte, estar relacionada con variaciones en las características microbianas y del huésped del intestino grueso (Keum and Giovannucci. 2019).

El **cáncer de colon proximal**, por factores demográficos, es más prevalente en mujeres, personas de edad avanzada y de raza blanca y negra. Además, este cáncer se enriquece

con subtipos caracterizados por MSI alta, CIMP alto o mutación *BRAF*. Así también, el HNPCC ocurre predominantemente en este segmento.

El **cáncer de colon distal** es más prevalente en hombres y personas más jóvenes. Este cáncer se enriquece por el subtipo CIN positivo (mutaciones en *APC*, *KRAS*, *TP53*...). Además, el PAF ocurre en este segmento.

El **cáncer de recto** es más prevalente en individuos asiáticos y se caracteriza por la aparición temprana (diagnóstico antes de los 50 años) (Keum and Giovannucci. 2019).

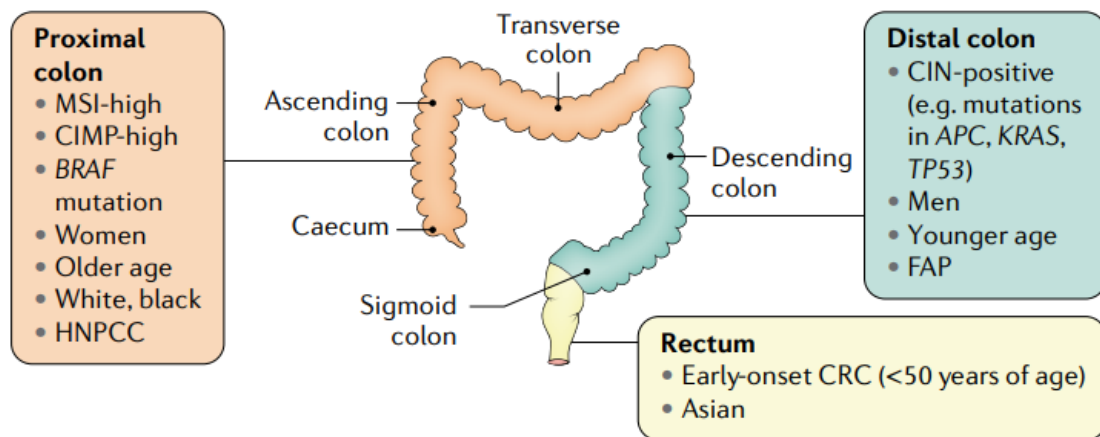


Figura 6. Subtipos anatómicos de cáncer colorrectal y sus asociaciones con características moleculares del tumor y otros factores. Adaptado de (Keum and Giovannucci.2019).

9. MICROBIOTA INTESTINAL ASOCIADA AL CRC

Como ya hemos visto, la carcinogénesis colorrectal es muy compleja e involucra factores genéticos y ambientales. Los estudios emergentes sugieren que existen varios mecanismos clave que inducen la carcinogénesis colorrectal, que incluyen la inflamación, las bacterias patógenas y sus factores de virulencia, las genotoxinas, el estrés oxidativo, los metabolitos y el biofilm, todos ellos estrechamente relacionados con la microbiota intestinal (Figura 7) (Cheng et al. 2020).

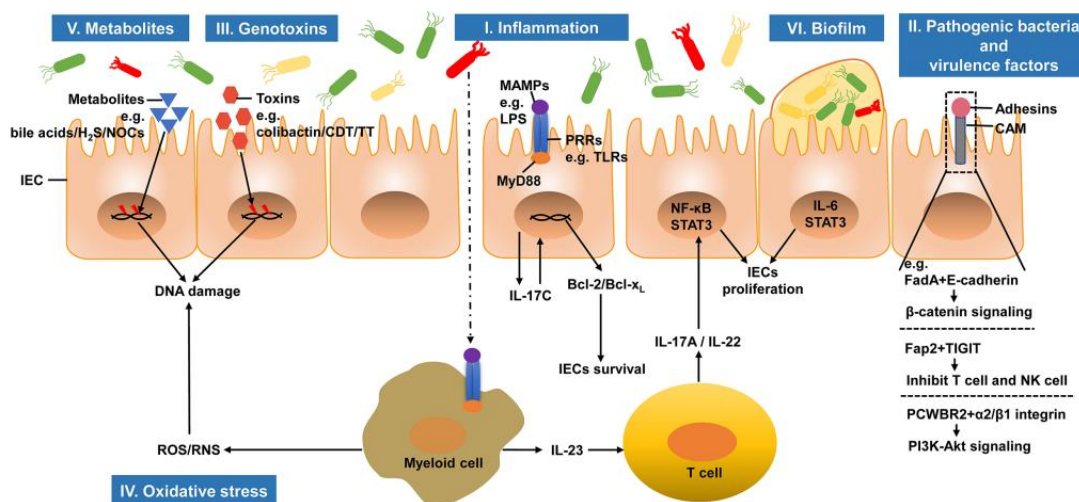


Figura 7. Mecanismos asociados a la microbiota en la carcinogénesis colorrectal. Adaptado de (Cheng et al. 2020).

9.1. Inflamación

La inflamación es una respuesta adaptativa del sistema inmunológico del huésped ante alteraciones en la microbiota intestinal. La invasión de la mucosa intestinal por patógenos desencadena la activación de células T inmunitarias y la liberación de citocinas proinflamatorias secretadas por macrófagos (como la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tisular (TNF)), así como la liberación de factores de crecimiento. Todo ello impulsa el proceso de inflamación. Tanto las células T como las citocinas proinflamatorias desencadenan la diferenciación de las células Th17 proinflamatorias. La inflamación persistente produce proliferación de células epiteliales, angiogénesis e inhibición de la apoptosis, lo que conduce al cáncer. Esto explica el hecho de que pacientes con EII presenten un mayor riesgo de desarrollar CRC (Pandey et al. 2023).

La barrera intestinal está compuesta por una única capa de células epiteliales intestinales unidas por proteínas de unión estrecha, limitando así la entrada de patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMPs). Los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), como los TLR y los receptores tipo NOD (NLRs) desempeñan un papel importante en el reconocimiento de MAMPs como el peptidoglicano, flagelina, lipoproteínas, ácido lipoteicoico y lipopolisacáridos (Pandey et al. 2023).

Los TLR son una clase importante de PPR expresada en macrófagos y células dendríticas que reconocen microbios y activan una respuesta inmune si se altera la barrera mucosa. Los TLR más importantes en el CRC son TLR-2 y TLR-4, cuya activación por los diferentes MAMPs, como el ácido lipoteicoico, inicia la señalización de la vía dependiente de MyD88, que está involucrado en la inducción del CRC y que presenta el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-κB) y la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) como activadores posteriores. Esto desencadena

la producción de citoquinas proinflamatorias, además de la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y un mayor riesgo de CRC (Pandey et al. 2023).

Por otro lado, los NLR se encuentran en el citoplasma de células inmunes y no inmunes. La activación de NLR desencadena la producción de citocinas proinflamatorias y autofagia, por lo que también están involucrados en la carcinogénesis colorrectal (Pandey et al. 2023).

En resumen, la inflamación de bajo grado es una característica principal y un factor clave que desencadena la aparición de cáncer.

9.2. Bacterias patógenas y sus factores de virulencia

Varias bacterias patógenas candidatas desempeñan funciones vitales en la carcinogénesis colorrectal al unirse a la superficie de la mucosa. Las especies bacterianas comúnmente asociadas con la carcinogénesis colorrectal incluyen *Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*, *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus bovis/gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Clostridium septicum*. Cada una de estas bacterias presenta sus factores de virulencia, que les permiten unirse a las células epiteliales intestinales, activando así diferentes vías de señalización implicadas en la tumorigénesis del CRC. A continuación, hablaremos en detalle sobre *Streptococcus bovis/gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Helicobacter pylori* (Tabla 1), dejando *Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*, *Bacteroides fragilis* para ser explicadas con mayor detenimiento en el apartado 12.

Streptococcus bovis/gallolyticus es una bacteria grampositiva asociada con endocarditis cuya infección está asociada con su participación durante las primeras etapas de la carcinogénesis colorrectal. *S. gallolyticus* utiliza el pilus Pil3 para la adhesión y la translocación a través de las células epiteliales del colon. Además, los sistemas de secreción tipo VII pueden mediar en las interacciones de *S. gallolyticus* con las células huésped y son importantes por su virulencia. Su papel en el desarrollo del CRC se fundamenta en la regulación positiva de los niveles de β -catenina e inducción de inflamación a través de IL-1, IL-8 y COX-2 (Pandey et al. 2023).

Enterococcus faecalis es una bacteria anaeróbica facultativa, grampositiva comensal. Su papel en el desarrollo del CRC sigue siendo controvertido, pues algunos estudios indican que *E. faecalis* es un microorganismo probiótico importante que puede desempeñar un papel en la prevención del CRC. Sin embargo, muchos otros estudios han sugerido su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y superóxido extracelular que pueden dañar el ADN de las células epiteliales del colon y provocar mutaciones y CRC. Asimismo, produce metaloproteasa, que puede afectar la barrera epitelial intestinal e inducir inflamación, favoreciendo el desarrollo de CRC (Pandey et al. 2023).

Peptostreptococcus anaerobius es una bacteria anaerobia gramnegativa que se encuentra comúnmente en la cavidad bucal y el intestino. Promueve la carcinogénesis modulando las células inmunes e interactuando con receptores tipo toll como TLR-2 y

TLR-4, en las células del colon para inducir la formación de ROS. La unión de *P. anaerobius* a las células de cáncer de colon está mediada por su proteína de superficie, la PCWBR2, que interactúa con las integrinas $\alpha 2/\beta 1$ en las células del colon, activando la vía de señalización oncogénica PI3K-Akt, que estimula la inflamación y la proliferación de células tumorales (Pandey et al. 2023).

Helicobacter pylori es una bacteria microaerófila gramnegativa que se encuentra en el estómago y es responsable de úlceras pépticas, gastritis crónica, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) gástrico y adenocarcinoma gástrico. Aunque algunos estudios lo han relacionado con el CRC, todavía no hay evidencia causal de la asociación entre infección por *H. pylori* y CRC (Luo et al. 2023).

Tabla 1. Microbios intestinales putativos asociados al CRC. Adaptado de (Pandey et al. 2023).

Microbe	Virulence Factor/Effector	Mechanism
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	FadA, Fap2	Modulates E-cadherins/ β -catenin pathway, blocks anti-tumor immune response
Enetrotoxigenic <i>Bacteroides fragilis</i>	<i>B. fragilis</i> toxin (BFT)	Activates β -catenin and STAT3 pathway, increases expression of COX-2 and NF- κ B
<i>E. coli</i>	Colibactin, cyclolethal distending toxins (CDTs)	Causes DNA double-stranded breaks
<i>Streptococcus bovis/gallolyticus</i>	Pil3 pilus	Upregulates β -catenin, promotes inflammation and cell proliferati-on
<i>Enterococcus faecalis</i>	Metalloprotease	Damages DNA by producing reactive oxygen species (ROS) and extracellular superoxide
<i>Helicobacter pylori</i>	CagA and VacA	Activates β -catenin/MAPK signaling pathway
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Putative cell wall-binding repeat 2 (PCWBR2) protein	Interacts with TLR-2 and TLR-4 on colon cells to induce ROS formation

9.3. Genotoxinas

Otro mecanismo cancerígeno relacionado con la microbiota es la producción de toxinas con efectos dañinos para el ADN (genotoxicidad). Son muchas las bacterias patógenas que producen toxinas asociadas con el desarrollo del CRC. Las ciclodulinas, como la colibactina (genotoxina péptido-poliquétido), la toxina distendente citoletal (CDT), el factor inhibidor del ciclo, el factor necrotizante citotóxico (CNF), son genotoxinas que inducen daño al ADN e interfieren con el ciclo celular. Las CDT y la colibactina se consideran verdaderas genotoxinas ya que median directamente el daño del ADN al inducir roturas del ADN de doble cadena. Las CDT son toxinas producidas por la mayoría de las bacterias Gram negativas asociadas con el CRC, como *Escherichia* y *Campylobacter*. Las subunidades CdtA y CdtC permiten interacciones con las células huésped, y la subunidad CdtB puede translocarse al núcleo y dañar el ADN de la célula huésped. Asimismo, las CDT inducen la producción de IL-6, TNF- α , NF- κ B y COX-2. Por otro lado, la colibactina induce daño en el ADN, formación de ROS y detención del ciclo celular. Por último, la toxina de *B. fragilis* (BFT), producida por *B. fragilis*

enterotoxigénico, activa diferentes vías que pueden promover la tumorigénesis; así como la toxina tifoidea producida por la *Salmonella* (Pandey et al. 2023, Cheng et al. 2020).

9.4. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de moléculas prooxidativas, como ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS), y la eficacia de las defensas antioxidantes. Este afecta a las biomoléculas, daña las membranas celulares e induce roturas y mutaciones en el ADN, pudiendo activar aún más oncogenes o inactivar genes supresores de tumores, lo que aumenta el desarrollo del CRC. Asimismo, también induce NF-κB y regula positivamente la expresión de citoquinas proinflamatorias y la señalización antiapoptótica (Pandey et al. 2023).

Se ha descubierto que en el CRC la producción de moléculas oxidativas está aumentada (en respuesta a la inflamación crónica) mientras que los mecanismos de defensa antioxidantes están alterados. Las ROS son producidas por la microbiota intestinal, como *E. faecalis*, *P. anaerobius*, *E.coli* y *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF); o por las células inmunitarias del huésped, como los macrófagos y los neutrófilos, en respuesta a la inflamación inducida por bacterias patógenas u otros factores ambientales externos. Por otro lado, las RNS son producidas por algunas especies bacterianas, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Pandey et al. 2023).

9.5. Metabolitos de la dieta y las bacterias

Los componentes dietéticos y sus metabolitos juegan un papel importante en el desarrollo y progresión del CRC (Tabla 2).

Tabla 2. Componentes dietéticos y sus productos metabólicos en la tumorigénesis del CRC. Adaptado de (Pandey et al. 2023).

Dietary Compound	Microbial Metabolic Product	Effect
Complex/non-digestible carbohydrates	Short-chain fatty acids (acetate, propionate, and butyrate)	Reduce inflammation, modulate gut microbiota, anti-carcinogenic
Protein	Ammonia	ROS production, genotoxic
	Hydrogen sulfide	
	Polyamines	
Fats	Secondary bile acid	ROS production, genotoxic, resistance to apoptosis, modulate gut microbiota
Ethanol	Acetaldehyde	ROS production, genotoxic
Ellagic acid	Urolithins	Inhibit Wnt signaling, anti-carcinogenic
Phytochemicals	Phenolic substances	Inhibit pro-inflammatory mediators, anti-carcinogenic

AGCC. Como ya hemos mencionado anteriormente, los AGCC se derivan de la fermentación bacteriana y del metabolismo de carbohidratos no digeridos y fibras dietéticas. El butirato es el AGCC con mayor efecto antitumoral. Por un lado, inhibe la actividad de las histona-deacetilasas en los colonocitos y las células inmunitarias, lo que, en consecuencia, regula negativamente las citoquinas proinflamatorias e induce la apoptosis en las células CRC. Por otro lado, puede reducir significativamente el pH fecal en el colon, inhibiendo así la proliferación de bacterias patógenas y el daño del ADN, y mejorando la apoptosis y previniendo la proliferación de células cancerosas. Además, los AGCC interactúan con GPR, expresados en células epiteliales del colon humano y los activan. GPR43 reconoce acetato, propionato y butirato, mientras que GPR109A interactúa únicamente con butirato. El butirato activa GPR109A y promueve la diferenciación de las células T reguladoras (Tregs) y también activa los macrófagos y las células T CD+, reduciendo la inflamación y ejerciendo efectos anticancerígenos. Asimismo, el butirato provoca la degradación de la β -catenina mediada por autofagia, lo que limita la proliferación de células CRC. Por lo tanto, la disminución de los niveles de AGCC y silenciamiento de GPRs se relaciona con un alto riesgo de CRC (Cheng et al. 2020, Pandey et al. 2023).

Ácidos biliares secundarios. Los ácidos biliares son ácidos esteroideos sintetizados por el hígado y metabolizados a formas secundarias por las bacterias intestinales. Se ha descubierto que las personas con dietas ricas en grasas son susceptibles al CRC porque los microorganismos específicos de la microbiota intestinal transforman los ácidos biliares en ácidos biliares secundarios. Ejemplos de ácidos biliares secundarios son el ácido desoxicólico (DCA) y el ácido litocólico (LCA), ambos considerados como metabolitos promotores del cáncer de colon. Por un lado, activan al receptor de ácidos biliares acoplado a proteína G (GPBAR1), induciendo la proliferación de células epiteliales. Asimismo, producen genotoxicidad a través del estrés oxidativo (al producir ROS y RNS). Por último, los ácidos biliares tienen fuertes propiedades antimicrobianas y provocan cambios en el microbioma intestinal al matar selectivamente microbios, lo que conduce a un aumento en la población de Bacteroidetes y Gamma-proteobacterias asociadas al CRC (Cheng et al. 2020, Pandey et al. 2023).

Componentes derivados del óxido nitroso y ácido sulfhídrico. La ingesta elevada de proteínas aumenta los metabolitos perjudiciales en el colon, como los NOC y el ácido sulfhídrico. Los NOC están correlacionados positivamente con CRC mediante la alquilación del ADN. Por otro lado, el ácido sulfhídrico, procedente de la reducción de sulfato por las bacterias reductoras de sulfato (SRB) utilizando metionina y cisteína como sustratos, puede estimular la progresión del CRC al inhibir la oxidación del butirato e inducir la ruptura de la barrera intestinal (Cheng et al. 2020).

Glucuronidasa. De forma fisiológica, el hígado inactiva algunos carcinógenos mediante la conjugación mediada por ácido glucurónico, excretándose así a través del tracto digestivo. Sin embargo, este proceso puede revertirse en el colon mediante la glucuronidasa bacteriana, cuya actividad está elevada en pacientes con dietas ricas en proteínas, reactivando así los carcinógenos (Pandey et al. 2023).

N-óxido de trimetilamina (TMAO). El TMAO se produce mediante una reacción entre la flavina monooxigenasa y la trimetilamina (TMA), que es un metabolito microbiano

producido a partir de carnes rojas y grasas. Una dieta rica en grasas y carnes rojas conduce a la producción de más TMAO porque los microbios intestinales procesan la L-carnitina (una TMA) para formar TMAO. El TMAO se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollo de CRC al inducir daño en el ADN, inflamación, estrés oxidativo y plegamiento incorrecto de las proteínas (Pandey et al. 2023).

Acetaldehído. El acetaldehído se produce a partir de etanol por la actividad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas en el intestino y es altamente tóxico y procarcinógeno, pues puede dañar el ADN y perjudicar la reparación por escisión del ADN, promoviendo la carcinogénesis colorrectal (Pandey et al. 2023).

10. PAPEL DE LA DIETA Y ESTILO DE VIDA EN EL CRC

Ya hemos visto cómo la genética contribuye al riesgo individual de CRC, pero la incidencia de este en una población se ve afectada en gran medida por factores modificables de la dieta y el estilo de vida.

El extenso informe resumido de 2017 del Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer (WCRF) y el Instituto Americano de Investigación del Cáncer (AICR), basado en una revisión sistemática de estudios disponibles a nivel mundial, concluyó que la obesidad, la baja actividad física, el tipo de dieta, el alcohol y el tabaco aumentan el riesgo de CRC al inducir cambios en la microbiota intestinal hacia un tipo proinflamatorio. Es la constelación de todos estos factores probablemente el factor determinante de la elevada incidencia de CRC en los países económicamente desarrollados (Keum and Giovannucci 2019).

Obesidad. El exceso de adiposidad es un factor de riesgo establecido para el CRC, siendo más fuerte para el cáncer de colon que para el cáncer de recto. Varios estudios evidencian que un aumento de 10 cm en la circunferencia de la cintura se asocia con un aumento del 4 % en el riesgo de cáncer de colon. Por otro lado, en comparación con el tejido adiposo subcutáneo (TAS), el tejido adiposo visceral (TAV) secreta más adipocinas proinflamatorias (como el TNF) y menos adiponectina (una hormona sensibilizadora de la insulina), y está más infiltrado con células inmunitarias (como los macrófagos). Todos estos rasgos contribuyen al desarrollo de inflamación sistémica crónica de bajo grado y resistencia a la insulina. Son estas condiciones inflamatorias en el microambiente tumoral las que promueven el crecimiento y la progresión del tumor. La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia posterior conducen a un aumento del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF1) libre, y se ha sugerido que la vía de señalización de la insulina-IGF1 promueve la carcinogénesis colorrectal al aumentar la proliferación celular y disminuir la apoptosis. Por lo tanto, es el TAV el que tiene un papel subyacente en la carcinogénesis colorrectal. Así mismo, la obesidad visceral es más prevalente en los hombres que en las mujeres, debido a las hormonas sexuales. El aumento de la adiposidad con el envejecimiento tiene efectos diferenciales sobre estas hormonas; los adipocitos se convierten en el principal sitio de producción de estrógenos después de la menopausia en las mujeres, mientras que los niveles de testosterona disminuyen con la adiposidad en los hombres. La evidencia sugiere que los niveles altos de estrógenos

endógenos confieren protección contra el CRC en las mujeres y los niveles altos de testosterona endógena podrían reducir el riesgo en los hombres. Por lo tanto, la relación positiva entre la obesidad y el riesgo de CRC podría atenuarse en mujeres postmenopáusicas con niveles elevados de estrógenos debido a un exceso de adiposidad, pero amplificarse en hombres con una disminución de la testosterona (Keum and Giovannucci 2019).

Actividad física y sedentarismo. La falta de actividad física es un factor de riesgo para el desarrollo de CRC, especialmente cáncer de colon. No existe una respuesta definitiva sobre la intensidad y dosis óptimas de actividad física para la prevención del CRC, pero la Sociedad Estadounidense del Cáncer recomienda que los adultos realicen al menos 150 minutos de actividad de intensidad moderada, 75 min de actividad de intensidad vigorosa o una combinación equivalente de ambas durante la semana. Incluso se ha visto que el ejercicio aeróbico, a diferencia del ejercicio de resistencia (como el levantamiento de pesas), induce una pérdida significativa de TAV, lo que supone una mayor reducción del riesgo de cánceres del sistema digestivo. El mecanismo por el que la actividad física reduce el riesgo de CRC sería a través de sus efectos beneficiosos sobre la motilidad intestinal, el sistema inmunológico, la inflamación y las hormonas metabólicas (Keum and Giovannucci 2019).

Asimismo, independientemente del nivel de actividad física, el sedentarismo (por ejemplo, permanecer largas horas viendo televisión), es también un factor de riesgo para el CRC, y cada aumento de 2 horas por día en las horas de visualización de televisión se asocia con un riesgo elevado de CRC del 7% (Keum and Giovannucci 2019).

Patrones dietéticos. Frente al patrón dietético "saludable", se encuentra el patrón "no saludable" (alto consumo de carnes rojas y procesadas, bebidas azucaradas, cereales refinados, postres y patatas), característico del occidente y que está relacionado con la carcinogénesis colorrectal, fundamentalmente involucradas la carne roja y procesada. La carne procesada y la carne roja están clasificadas como carcinógenos de Clase 1 y Clase 2A, respectivamente, por la OMS. Cada aumento de 100 g por día en la ingesta de carnes rojas y procesadas se asocia con un aumento del 12 % en el riesgo de CRC, siendo más fuerte la asociación con la carne procesada y el cáncer de colon que para el de recto (Keum and Giovannucci 2019).

La influencia de la carne roja y procesada en el CRC puede ocurrir a través de compuestos cancerígenos como el hierro hemo de la carne roja, que se convierte en compuestos N-nitroso cancerígenos. Además, el hierro hemo también aumenta las bacterias que degradan la mucina, como *Akkermansia muciniphila*, lo que provoca deterioro de la función de barrera intestinal y CRC. El hemo provoca disbiosis intestinal persistente, con aumento de proteobacterias, lo que provoca inflamación e hiperproliferación del epitelio intestinal. Por último, se descubrió que, así como una dieta rica en carne aumenta los Bacteroidetes y las proteobacterias, también disminuye los Firmicutes (Pandey et al. 2023).

Fibra y cereales integrales. La fibra dietética insoluble reduce la exposición del epitelio colorrectal a carcinógenos en la luz al disminuir el tiempo de tránsito y aumentar el volumen de las heces. Otro mecanismo propuesto implica la interacción con la

microbiota intestinal. La fibra soluble que llega al colon sin digerir es fácilmente fermentada por la microbiota intestinal anaeróbica en AGCC (principalmente acetato, propionato y butirato), donde el butirato promueve la supervivencia de los colonocitos normales y la apoptosis de los colonocitos neoplásicos, y regula negativamente las vías proinflamatorias. De hecho, no todas las fibras dietéticas participan en la reducción del riesgo de CRC; es la fibra de cereales integrales la que se ha asociado inversamente con el riesgo de CRC (por un incremento de 10 g por día), pero no así las fibras de frutas, verduras y legumbres (Keum and Giovannucci 2019).

Alcohol. El etanol en bebidas alcohólicas de cualquier tipo es un factor de riesgo establecido para el CRC, incluso en leves cantidades (≤ 1 bebida alcohólica por día) y su primer metabolito, el acetaldehído, ha sido evaluado como cancerígeno para los seres humanos por la Agencia Internacional de Investigación. El alcohol ingerido llega a los colonocitos a través de la circulación sistémica y se difunde hacia la luz. El etanol luminal es metabolizado por la alcohol deshidrogenasa microbiana en acetaldehído, lo que causa lesión de la mucosa y proliferación celular regenerativa. El acetaldehído tóxico también ingresa a las células epiteliales intestinales y se acumula debido a la baja actividad de la acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) de la mucosa colónica. El acetaldehído intracelular podría promover la carcinogénesis colorrectal al causar daño al ADN y destruir el folato intracelular, necesario para la síntesis y metilación adecuadas del ADN (Keum and Giovannucci 2019).

Tabaco. El humo del cigarrillo contiene una mezcla de compuestos que pueden llegar fácilmente a la mucosa colorrectal a través del sistema circulatorio o por ingestión directa e inducir aberraciones genéticas y epigenéticas. El riesgo de CRC aumenta con número de paquetes de tabaco/año y disminuye con la edad de inicio del tabaquismo (aproximadamente un 4% de reducción por cada 10 años de retraso) (Keum and Giovannucci 2019).

Potencial quimiopreventivo de la aspirina y el calcio. Diversas investigaciones han señalado que tanto la aspirina como el calcio podrían tener efectos preventivos en el CRC. En el caso de la aspirina, su posible acción anticancerígena podría deberse en parte a la inhibición de la COX-2, una enzima que promueve la inflamación asociada con los tumores y suprime la respuesta inmunológica antitumoral mediada por células T. El uso regular de aspirina, en dosis de 75 a 300 mg al día, se ha relacionado de manera inversa con el riesgo a largo plazo de desarrollar CRC. Por otro lado, se ha observado una asociación inversa entre el consumo de calcio y el riesgo de CRC. Estudios observacionales han mostrado que un mayor consumo de calcio se relaciona con un menor riesgo de adenomas colorrectales, que son considerados los precursores más probables de la mayoría de los CRC esporádicos. Este efecto del calcio contra las neoplasias colorrectales se sustenta en diversos mecanismos biológicos. Por ejemplo, el calcio precipita ciertos compuestos como los ácidos biliares secundarios, los ácidos grasos ionizados y el hierro hemo en el tracto colorrectal, reduciendo así su potencial cancerígeno sobre la mucosa. Además, al unirse a los receptores de calcio en las células epiteliales intestinales, el calcio activa diversas vías de señalización intracelular que inhiben la proliferación celular e inducen la diferenciación y apoptosis (Keum and Giovannucci 2019).

11. PAPEL DEL BIOFILM EN LA INICIACIÓN DEL CRC

El biofilm consta de comunidades polimicrobianas que están encerradas en una matriz que se forma en superficies bióticas y abióticas. Comienza con microcolonias (pequeñas agregaciones de células bacterianas) que se adhieren a las superficies, donde se encapsulan en una matriz compuesta de polisacáridos autosecretados, formando así biofilms maduros. El biofilm confiere a estas comunidades polimicrobianas una mayor tolerancia a los fármacos antibacterianos y una mayor eliminación inmune, además de retener los nutrientes y el agua también. Por tanto, las biopelículas favorecen la supervivencia y persistencia de las comunidades polimicrobianas (Chew et al. 2020).

Recientemente, se ha establecido una conexión entre las biopelículas y el desarrollo y progresión del CRC. Una teoría sostiene que estas biopelículas albergan diversas especies bacterianas en lugar de una sola variante del microorganismo invasor, lo que podría potencialmente desencadenar respuestas inflamatorias exacerbadas y la producción de compuestos genotóxicos derivados de bacterias. Es la región del colon proximal hasta el ángulo hepático (CRC del lado derecho) donde se ha visto particularmente evidente, en comparación con una minoría (12%) de los tumores CRC distales al ángulo hepático. Esto puede explicar el peor pronóstico asociado con el CRC del lado derecho, dado que aquellos con biopelículas positivas podrían experimentar lesiones adicionales más graves en el tejido epitelial y mayor inflamación intestinal (Chew et al. 2020).

Se han propuesto numerosos mecanismos para explicar el papel de los biofilms en la carcinogénesis del CRC. Por un lado, el biofilm induce una mayor proliferación del epitelio del colon, un aumento de la expresión de IL-6, la activación del transductor de señal y activador de la transcripción-3 (STAT3), un aumento de la síntesis de poliamina y la pérdida de E-cadherina de las células epiteliales del colon (consistente con la alteración de la función de la barrera intestinal), lo que resulta en disbiosis y oncotransformación y conduce a la progresión del tumor. Además, los niveles elevados de metabolitos de poliaminas (Figura 8) actúan sinérgicamente para promover la formación de biofilms y la proliferación celular (Chew et al. 2020).

Por otro lado, también se han detectado biofilms en pacientes con PAF que han heredado una mutación en el gen *APC* y son altamente propensos al CRC debido al desarrollo de pólipos y formación de adenomas como etapa temprana de la “secuencia adenoma-carcinoma”. Por lo tanto, esto sugiere que el biofilm puede considerarse como el impulsor de la secuencia adenoma-carcinoma en una etapa temprana de la progresión del CRC (Chew et al. 2020).

Además, los estudios muestran que en los biofilms intestinales se detectan bacterias periodontales comensales (*Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*) y patógenas (*F. nucleatum*, *P. gingivalis*). Por lo tanto, se ha propuesto una hipótesis interesante para ilustrar la posible participación de la microbiota oral en el desarrollo del CRC, mediante la cual las bacterias periodontopáticas orales pueden haberse translocado al colorrectal, contribuyendo a la disbiosis intestinal (Chew et al. 2020)

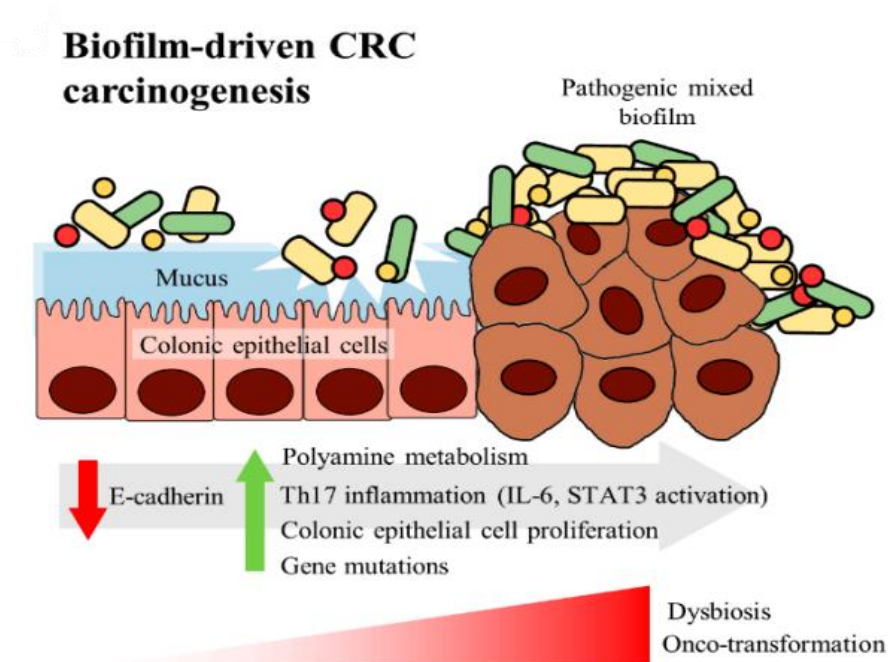


Figura 8. Carcinogénesis de CRC impulsada por el biofilm. Adaptado de (Chew et al. 2020).

12. MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON EL CRC

La microbiota intestinal en individuos con CRC difiere de la microbiota de individuos sanos, presentando una menor diversidad y riqueza del microbioma. La microbiota intestinal en el CRC se caracteriza por una menor abundancia de bacterias comensales protectoras (como bacterias productoras de butirato de la familia *Lachnospiraceae*, por ejemplo, *Roseburia*) y mayor abundancia de bacterias procarcinogénicas. Las especies bacterianas comúnmente asociadas con la carcinogénesis colorrectal incluyen *Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*, *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus bovis/gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Clostridium septicum* (Pandey et al. 2023).

Además de las bacterias, se han identificado muchos virus, incluidos el virus del papiloma humano y el citomegalovirus; así como cambios en el microbioma (mayor abundancia de *Malassezia* y otros hongos) y en el arqueoma (enriquecimiento de halófilos y agotamiento de metanógenos) en muestras de CRC. Esto sugiere que la comunicación entre reinos podría ser necesaria para la carcinogénesis colorrectal (Pandey et al. 2023).

El papel de los microorganismos en el desarrollo del CRC ha sido explicado por el modelo bacteriano conductor-pasajero, propuesto por Tjalsma et al (Tjalsma et al. 2012) que clasifica a los microbios en dos categorías: bacterias conductoras y bacterias pasajeras. Según este modelo, la mucosa colónica de pacientes con riesgo de CRC se coloniza por bacterias intestinales patógenas llamadas "conductoras", como *Fusobacterium spp* o *Streptococcus spp*. Estas bacterias cancerígenas pueden producir genotoxinas que inducen daños en el ADN, provocando inestabilidad del genoma y la iniciación del CRC,

creando un entorno tumoral único propicio para el crecimiento de bacterias pasajeras. El microambiente CRC promueve la proliferación de bacterias oportunistas específicas llamadas “bacterias pasajeras”, que no sólo tienen ventajas de crecimiento, sino que también muestran efectos cancerígenos. Estas bacterias pasajeras pueden superar a otras especies debido a una ventaja competitiva e incluyen miembros de las familias bacterianas *Streptococcaceae* y *Coriobacteriaceae* como ejemplos (Cani and Jordan 2018, Pandey et al. 2023, Cheng et al. 2020; Wong and Yu 2019).

A continuación, se evalúan tres bacterias que se correlacionan con el CRC, así como sus características de virulencia: *Fusobacterium nucleatum*, ETBF y *E. coli* con la isla genómica de la poliquétido sintetasa (*pks+*). Nos centramos en estos oncomicrobios porque son muchos los estudios realizados tanto en humanos como en modelos animales que han respaldado y enfatizado su papel en la aparición y progresión del CRC.

12.1. *Fusobacterium nucleatum*

F. nucleatum es una bacteria anaerobia Gram negativa, comensal oral cuyo nicho natural es la cavidad bucal humana, pero que, en condiciones patológicas puede formar parte de la microbiota intestinal. Actúa en la etapa inicial de la carcinogénesis colorrectal. La especie *F. nucleatum* es notablemente diversa y consta de cuatro subespecies (*nucleatum*, *animalis*, *vincentii* y *polimorfo*) (Clay et al. 2022).

Mientras que *E. coli pks+* y ETBF expresan toxinas, *F. nucleatum* adquiere su virulencia gracias a los sistemas de secreción, que incluyen tanto maquinaria de transporte/exportación como efectores biológicos. De los nueve tipos de sistemas de secreción, las subespecies *F. nucleatum* albergan sólo el tipo V, y no todas lo hacen. Los sistemas de secreción tipo V a menudo se denominan autotransportadores y se dividen en tipos Va-Ve. Los autotransportadores tipo Va incluyen adhesinas, proteínas que ayudan a las bacterias a adherirse a superficies bióticas o abióticas y serina proteasas. Las adhesinas tipo Va del *F. nucleatum* conocidas incluyen Fap2, Aim1, RadD y CmpA (Clay et al. 2022).

Fap2 (Figura 9B) se une a la lectina Gal-GalNAc en las células cancerosas, favoreciendo el reclutamiento de *F. nucleatum* en los tumores y la activación de las células epiteliales y mieloides, induciendo una respuesta inflamatoria protumoral. Asimismo, también se une y activa la señalización del inhibidor del punto de control inmunológico TIGIT (inmunorreceptor de células T con dominios Ig), lo que altera la función de las células T y de las células Natural Killer (NK), reduce la citotoxicidad y promueve la muerte de las células inmunitarias, resultando en que el tumor escape de la inmunovigilancia (Figura 9B) (Clay et al. 2022).

En contraste con Fap2, RadD y CmpA son adhesinas menores con papel en la unión polimicrobiana de *F. nucleatum*, el cual emplea RadD para adherirse a *Clostridioides difficile* y mejorar la producción de polisacáridos extracelulares y la formación de biofilms de *C. difficile* (Clay et al. 2022).

Más allá de las adhesinas autotransportadoras tipo V, se han estudiado otras adhesinas por su papel en la virulencia del CRC de *F. nucleatum*. FadA y sus homólogos FadA2 y FadA3 son una familia de pequeñas adhesinas que están presentes en los genomas de *F. nucleatum*. FadA se une a la E-cadherina expresada en líneas celulares de cáncer de colon y activa la señalización de β -catenina y WNT y regula positivamente la anexina A1, impulsando así la proliferación de células epiteliales (Figura 9A). Asimismo, FadA también tiene propiedades similares al amiloide que mejoran la adhesión de *F. nucleatum* a las células cancerosas (Figura 9A) (Clay et al. 2022).

Finalmente, el lipopolisacárido de *F. nucleatum* actúa como factor de virulencia. De manera dependiente de TLR4, el lipopolisacárido regula positivamente la expresión de microARN-21 en células epiteliales del colon, lo que da como resultado una proliferación celular desregulada y un crecimiento tumoral. Esta misma vía también aumenta la autofagia de las células cancerosas, lo que confiere resistencia a la muerte celular inducida por la quimioterapia (Clay et al. 2022).

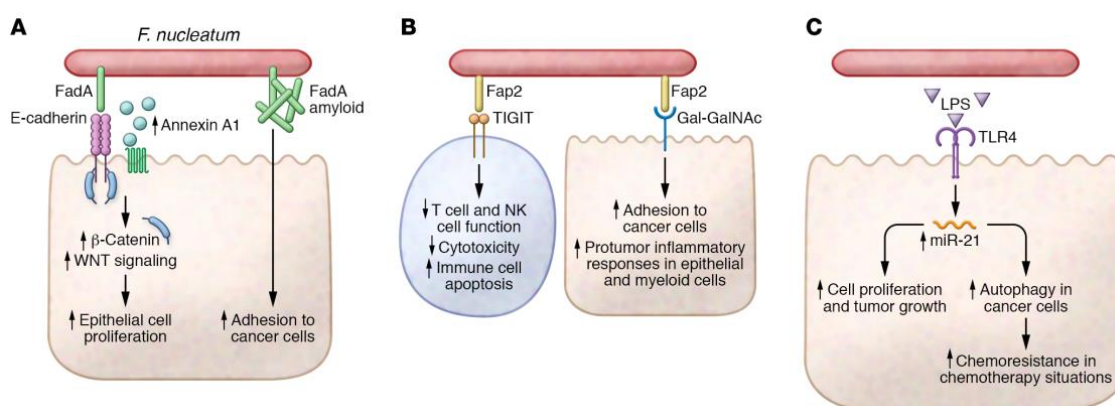


Figura 9. Mecanismos potenciales de la actividad de *Fusobacterium nucleatum* en el CRC. Adaptado de (Clay et al. 2022).

12.2. *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico (ETBF)

B. fragilis es una bacteria anaerobia gramnegativa comensal que representa menos del 1% de la microbiota intestinal. Las cepas de *B. fragilis* se pueden clasificar en no toxigénicas o enterotoxigénicas. Aunque *B. fragilis* no toxígeno puede enriquecerse en las primeras etapas de la tumorigénesis colorrectal e influir en la progresión neoplásica, son las cepas de ETBF las que se asocian con enfermedades inflamatorias intestinales y CRC (Clay et al. 2022).

La mayoría de las cepas de ETBF tienen un gen *bft* que codifica la BFT, que es responsable de su toxigenicidad. La toxina BFT actúa sobre las células epiteliales del colon para iniciar múltiples vías posteriores que pueden promover la tumorigénesis.

En primer lugar, las BFT activan las vías de señalización intracelular Ras/mTOR y la proteína quinasa activada por mitógenos p38, además de inducir la expresión del inhibidor de la proteína 2 de la apoptosis (IAP2), resultando en un mayor crecimiento

tumoral e inhibición de la apoptosis, respectivamente. Asimismo, las BFT también aumentan la proliferación y permeabilidad de las células intestinales al inducir la expresión de c-myc, producida como consecuencia de la escisión de E-cadherina (unida a la membrana de las células epiteliales) y localización y señalización nuclear de β -catenina, en un proceso en el que recientemente se ha demostrado que está involucrado el GPR35 (Figura 10A) (Clay et al. 2022).

En segundo lugar, ETBF promueve alteraciones epigenéticas con el potencial de causar daño al ADN al inducir el reclutamiento de la ADN metiltransferasa 1 (DNMT1) y al inducir la histona desmetilasa 2B que contiene el dominio JmjC (JMJD2B) en las células del CRC. Además, las BFT producidas por ETBF también inducen daño en el ADN al aumentar la generación de ROS (Figura 10B) (Clay et al. 2022).

Por último, ETBF y BFT inducen un ambiente proinflamatorio que contribuye a la carcinogénesis. Las BFT inducen la activación de los factores de transcripción STAT3 y NF- κ B, aumentando la permeabilidad intestinal y la producción de citoquinas inflamatorias como IL-8 y TNF- α . Así también, ETBF induce la fosforilación de las células T Th17 y $\gamma\delta$ productoras de STAT3 e IL-17. Ambos procesos promueven el reclutamiento de células mieloides protumorales que suprimen la inmunidad antitumoral citotóxica (Figura 10C) (Clay et al. 2022).

Además del potencial del ETBF para impulsar modificaciones epigenéticas y daños en el ADN así como desregular la función epitelial e inducir inflamación para promover la carcinogénesis colorrectal, ETBF también tiene el potencial de impulsar el CRC al establecer un nicho para que otros oncomicrobios, incluidos *E.coli pks+*, promuevan un entorno protumoral (Clay et al. 2022).

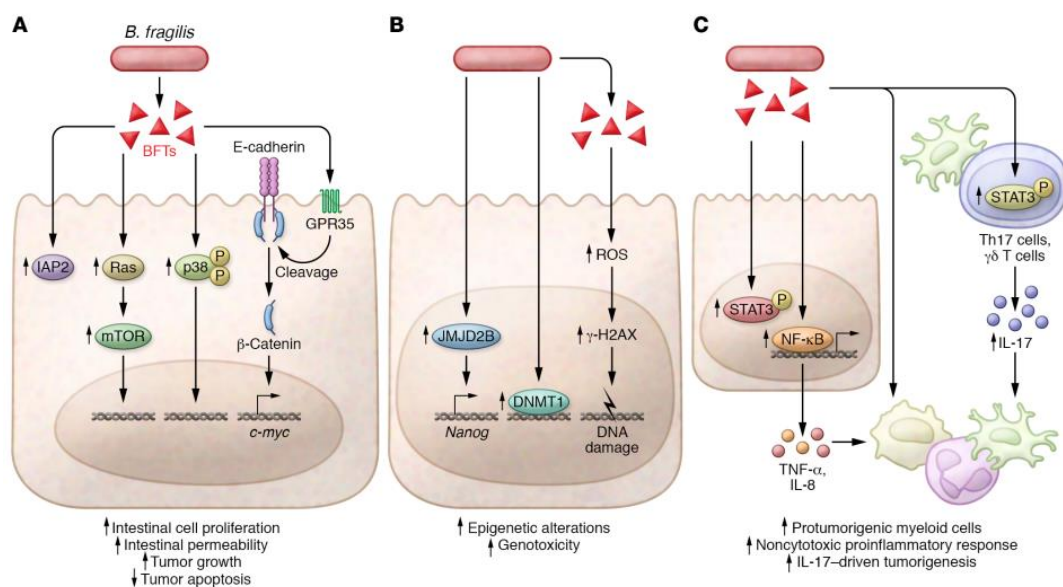


Figura 10. ETBF promueve la tumorigénesis mediante distintos mecanismos. Adaptado de (Clay et al. 2022).

12.3. *E. coli* en la isla genómica de la poliquétido sintetasa (productor de colibactina)

E. coli es un anaerobio facultativo Gram negativo muy prevalente, pero no muy abundante, del tracto gastrointestinal distal. Representa un amplio y diverso grupo de bacterias, incluyendo más de 700 serotipos identificados, y se clasifica en cuatro grupos filogenéticos (A, B1, B2 y D) que predominan en varias poblaciones humanas, donde el filogrupo B2 se ha vinculado particularmente con el CRC. Muchas cepas patógenas de *E. coli* pueden producir toxinas llamadas ciclodulinas, como la colibactina, codificada por la *pks*; la CDT, el factor inhibidor del ciclo y el CNF (Pandey et al. 2023).

E. coli productora de colibactina se asocia positivamente con el CRC, con una tasa de detección de aproximadamente el 60 % en pacientes con CRC y aproximadamente el 20% en individuos sanos. La unión de colibactina al ADN forma entrecruzamientos y roturas entre cadenas que desregulan la división celular y aumentan la mutagénesis. Es importante destacar que en el CRC se enriquece una firma mutacional específica de colibactina, caracterizada por inserciones de timina (T) en los homopolímeros T y un aumento de sustituciones de base única T>N, que ocurren preferentemente en regiones ricas en adenina (Figura 11). Estas sustituciones de base única son consistentes con mutaciones desencadenadas por las “ojivas” duales del anillo de ciclopropano de la colibactina, que forman enlaces cruzados en los residuos de adenina. Este patrón mutacional se ha identificado en 112 mutaciones conductoras de CRC conocidas. *APC*, el gen más mutado en el CRC, alberga el mayor número de mutaciones que coinciden con la firma *pks* (>5%). Otros estudios han identificado mutaciones somáticas específicas de colibactina y en genes implicados en la señalización de p53. Además, estudios recientes han demostrado que la actividad de la polifosfato quinasa (PPK) es esencial para la función y el metabolismo de la colibactina y, al atacar la PPK con mesalamina, un medicamento empleado para la colitis ulcerosa, se reduce la actividad de PPK y la producción de colibactina (Clay et al. 2022). Todavía no está claro cómo se regulan los genes *pks*, qué señales ambientales promueven la producción de colibactina, qué nivel de carga bacteriana de *E. coli pks+* es problemática y si existen interacciones críticas con otros factores de virulencia dentro de la microbiota luminal o tumoral que influyan en los efectos de la colibactina en el desarrollo del CRC. Sin embargo, en conjunto, se ha revelado que la colibactina impulsa directamente las mutaciones asociadas al CRC.

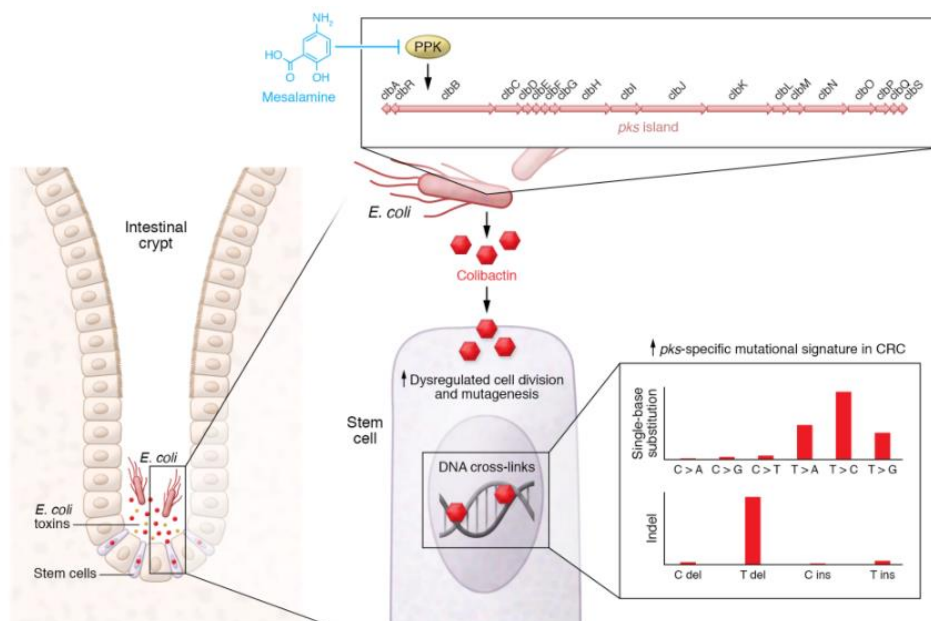


Figura 11. Potenciales efectos mutagénicos de *E. coli pks+*. Adaptado de (Clay et al. 2022).

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

Debido a que el microbioma intestinal está estrechamente asociado con el CRC, numerosos estudios se han enfocado en investigar su efecto en el tratamiento del CRC. Cada vez hay más pruebas de que la microbiota intestinal media la eficacia y la toxicidad de la quimioterapia, radioterapia e inmunoterapia.

13.1. Quimioterapia

La evidencia emergente sugiere que la microbiota intestinal puede mediar en los efectos anticancerígenos de algunos agentes quimioterapéuticos, incluyendo el 5-fluorouracilo, ciclofosfamida, gemcitabina y oxaliplatino. En ratones tratados con antibióticos o libres de gérmenes, las células mieloides tumorales infiltrantes respondieron deficientemente a la terapia, lo que resultó en una producción deficiente de ROS y citotoxicidad después de la quimioterapia. Asimismo, el uso de antibióticos aumenta las bacterias patógenas como *Escherichia*, *Shigella* y *Enterobacter* (Kim and Lee 2022, Pandey et al. 2023). Por otro lado, un estudio reciente encontró que, en pacientes que recibieron oxaliplatino en combinación con 5-fluoracilo y leucovorina, el butirato estimula la respuesta citotóxica antitumoral de las células T CD8+, donde los pacientes respondedores tenían niveles séricos más altos de butirato que los no respondedores (Pandey et al. 2023).

También se ha estudiado el papel de la microbiota intestinal en la resistencia a la quimioterapia, ya que *F. nucleatum* puede activar la autofagia al estimular las señales

inmunes innatas TLR4 y Myd88 e interferir con la apoptosis, confiriendo resistencia al oxaliplatino y al 5-fluoracilo, según datos experimentales (Kim and Lee 2022).

Además, la microbiota intestinal controla el metabolismo y los efectos adversos de agentes quimioterapéuticos como el irinotecán (CPT-11), un profármaco de SN-38 que es un inhibidor de la topoisomerasa comúnmente utilizado para tratar el CRC. Farmacológicamente, el SN-38 es glucuronidado por enzimas hepáticas del huésped en un conjugado inactivo (SN-38G). Al llegar al intestino a través de la excreción biliar, las β -glucuronidasas bacterianas del intestino hidrolizan el SN-38G de nuevo a SN-38, causando daño intestinal y diarrea severa. La administración de un inhibidor selectivo podría prevenir la reactivación de SN-38 en el intestino y su toxicidad concomitante en ratones (Wong and Yu 2019).

13.2. Radioterapia

La radioterapia causa disbiosis, la cual tiene el potencial de afectar adversamente a otras modalidades de tratamiento del CRC. El análisis del microbioma intestinal después del tratamiento con radiación mostró una disminución de bacterias comensales como *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* y *Clostridium spp.*, así como un aumento de *Bacteroides* y *Enterococcus spp.* Además, en el caso de pacientes que reciben radioterapia en la región pélvica, hubo una tendencia a que *Fusobacteria spp* aumentara aproximadamente en un 3%. Estas bacterias pueden atravesar la barrera intestinal deteriorada como resultado del daño inflamatorio epitelial causado por la radioterapia, lo que lleva a una respuesta inflamatoria intestinal adicional y daño tisular. Estos cambios muestran la potencial capacidad de la radioterapia en la promoción de tumores (Kim and Lee 2022).

13.3. Inmunoterapia

La inmunoterapia se ha convertido en un pilar importante en el tratamiento del cáncer. Los inhibidores de puntos de control inmunitario (ICIs) eliminan las señales inhibitorias de la activación de las células T para permitir que las células T reactivas al tumor monten una respuesta antitumoral efectiva. La microbiota intestinal es necesaria para la respuesta inmune efectiva en la inmunoterapia, y puede afectar la respuesta a los ICIs que se dirigen al eje de la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1), al ligando 1 de la proteína de muerte celular programada 1 (PD-L1) y al eje del antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) (Wong and Yu 2019).

Se ha observado una correlación positiva entre bacterias específicas y la respuesta inmunoterapéutica, donde cierta microbiota intestinal actúa para mejorar la eficacia de la inmunoterapia. Por ejemplo, *Bacteroides* mejora la respuesta inmune de las células T CD8+, y *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Clostridiales* y *Bifidobacterium spp.* la producción de metabolitos de AGCC. Por otro lado, *Akkermansia muciniphila* también

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 (Kim and Lee 2022). Además, la microbiota intestinal puede estar asociada con los efectos adversos de la inmunoterapia, como la colitis asociada a ICIs. El aumento de la representación del filo Bacteroidetes se ha correlacionado con la resistencia a la colitis asociada a ICIs, mientras que la escasez de genes en las vías de transporte de poliaminas y biosíntesis de vitamina B se asoció con una mayor susceptibilidad a la colitis (Wong and Yu 2019).

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

La vitamina D es una vitamina liposoluble que se puede encontrar en dos estructuras químicas diferentes: colecalciferol (vitamina D3) o ergocalciferol (vitamina D2). La principal fuente de vitamina D en el ser humano es la exposición a la radiación solar UVB (90%), gracias a la cual el 7-dehidrocolesterol, presente en la piel, se convierte en vitamina D3 en una reacción no enzimática. El 10% restante se obtiene a través de la ingesta de alimentos, como pescados grasos, alimentos enriquecidos (principalmente productos lácteos) o incluso mediante suplementos. La vitamina D3 es transportada al hígado por la circulación y transformada en 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D3 o calcidiol), la principal forma circulante y marcador del estado de la vitamina D, gracias a la enzima CYP2R1 (citocromo P450 2R1). En los riñones, la 25(OH)D3 es metabolizada por CYP27B1 (citocromo p450 27B1) a 1 α ,25-dihidroxivitamina D3 (1,25(OH)2D3) o calcitriol, la forma funcional y hormonalmente activa de la vitamina D (Carlberg y Velleuer 2022, Battistini et al. 2020). Por otro lado, el gen CYP24A1 regulado positivamente codifica una 24-hidroxilasa que inicia la degradación de 25(OH) D3 y 1,25 (OH)2D3, lo que limita la cantidad de calcitriol cuando su nivel circulante es alto (Peixoto et al. 2022). El calcitriol actúa principalmente a través de los VDR, a los que se une con una afinidad notablemente alta de 0,1 nM. VDR se expresa en varios tejidos (intestino delgado, colon, tejido adiposo, hígado, células inmunes...), el cual actúa como un regulador de la transcripción nuclear (Carlberg and Velleuer 2022).

Aunque la vitamina D es tradicionalmente conocida por su papel en el metabolismo óseo, presenta otras funciones extraesqueléticas, donde la más importante es la modulación del sistema inmunológico tanto apoyando a las células del sistema inmunológico innato, como previniendo reacciones excesivas de las células del sistema inmunológico adaptativo y de las células T activadas, que pueden provocar enfermedades autoinmunes como la EII (Carlberg and Velleuer 2022). Así, la vitamina D representa un biofactor regulador que afecta al sistema inmunológico, tanto directamente como a través de la modulación de la microbiota intestinal. Por un lado, la vitamina D afecta el sistema inmunológico innato y, en concreto, a su función de barrera inmune innata en el intestino a través de la regulación positiva del péptido antimicrobiano CAMP (catelicidina) o la glicoproteína CD14 anclada a la membrana plasmática (que funciona como correceptor de los TLR). Por tanto, la respuesta temprana a la estimulación con vitamina D suele ser proinflamatoria, mientras que en etapas posteriores resuelve la inflamación mediante la inducción de un cambio de macrófagos

M1 a M2. Esto es importante para la integridad del epitelio intestinal. Asimismo, en la mayoría de los escenarios, la vitamina D inhibe el sistema inmunológico adaptativo, reduciendo el recuento de células proinflamatorias TH1 y aumentando el número de células antiinflamatorias TH2 y Treg (T reguladoras) (Carlberg and Velleuer 2022). De forma más detallada, el 1,25-D inhibe la producción de interferón (IFN)- γ e IL-17 por las células T, induce la citocina antiinflamatoria IL-10 a partir de las células Treg y la citocina antimicrobiana IL-22 a partir de las células linfoides innatas tipo 3 (ILC3) (Rinninella et al. 2019).

La vitamina D afecta la diferenciación, el crecimiento y la apoptosis de monocitos, células dendríticas y diferentes tipos de células T mediante la regulación del mismo conjunto de genes y vías que impulsan el crecimiento de células cancerosas. Así, las células tumorales malignas están controladas directamente en su crecimiento a través de los mismos genes y vías que las células inmunes e indirectamente por células inmunes moduladas que forman parte del microambiente de apoyo tumoral (Carlberg and Velleuer 2022).

Existen otros mecanismos por los cuales la vitamina D favorece la homeostasis intestinal. Por ejemplo, ejerce un efecto sinérgico con el butirato, aumentando la expresión de proteínas de unión estrecha y la producción de mucina y péptidos antimicrobianos; así como aumentando la síntesis del péptido de defensa del huésped (HDP), un componente del sistema inmunológico innato con actividad antimicrobiana e inmunomoduladora (Murdaca et al. 2021). Zhang y col. identificaron que VDR aumenta la proteína de unión estrecha claudina-2 como un objetivo directo de su vía de señalización (Zhang et al. 2020). Curiosamente, las citocinas inflamatorias también podrían aumentar la expresión de claudina-2 y mejorar la permeabilidad intestinal. Por lo tanto, la falta de regulación del VDR epitelial intestinal en el intestino inflamado conduce a una hiperfunción de claudina-2 y exagera las respuestas inflamatorias en el intestino (Battistini et al. 2020).

Otro ejemplo sería la regulación de los niveles de ROS a través de sus efectos antiinflamatorios y la expresión mitocondrial de antioxidantes a través de vías de señalización celular (Murdaca et al. 2021). Por último, también contribuye a la homeostasis intestinal mediante la regulación de la microbiota intestinal, papel que se ve confirmado por la evidencia de que los hombres con niveles plasmáticos elevados de 1,25-D tienen mayor diversidad α (la diversidad de especies microbianas dentro de un individuo) y diversidad β (la diferencia en la composición microbiana entre dos muestras) así como más probabilidades de poseer bacterias productoras de butirato (Rinninella et al. 2019).

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

No hay consenso sobre el nivel circulante ideal de vitamina D. Según el Instituto de Medicina (IOM), se considera suficiente un nivel mínimo de 25(OH)D en suero de 20 ng/mL (50 nmol/L), en caso de una exposición mínima al sol. Mientras tanto, se considera un riesgo de deficiencia de vitamina D cuando el nivel de 25(OH)D en suero está por debajo de 12 ng/mL (30 nmol/L). Sin embargo, la Guía de Práctica Clínica de la

Sociedad de Endocrinología define la deficiencia de vitamina D como un nivel sérico de 25(OH)D por debajo de 20 ng/mL (50 nmol/L) y se consideran valores entre 21-29 ng/mL (525-725 nmol/L) como insuficiencia de vitamina D (Battistini et al. 2020).

La deficiencia de vitamina D está muy extendida en toda Europa y sus tasas de prevalencia cumplen los criterios de una pandemia. Por otro lado, se ha visto que la insuficiencia de vitamina D es muy prevalente entre los pacientes con CRC metastásico. Así, un estudio reciente con 1.733 pacientes con CRC mostró que el nivel medio de vitamina D sérica en el momento del diagnóstico de CRC era de 21,2 ng/ml (Peixoto et al. 2022). La microbiota está modulada por varios nutrientes como la vitamina D, y es a través del sistema inmunológico. La microbiota intestinal y el sistema inmunológico están estrechamente interconectados. La microbiota intestinal apoya el desarrollo y la respuesta del sistema inmunológico, el cual a su vez regula la eubiosis intestinal balanceando la tolerancia y la inmunidad en la microbiota intestinal. La vitamina D juega un papel fundamental en esta red compleja, ya que el VDR está expresado (y activado bajo estimulación) en varias líneas celulares del sistema inmunológico, incluyendo células T CD4 y CD8, células B, neutrófilos, macrófagos y células dendríticas.

En un estudio intervencionista en humanos, la suplementación con vitamina D (una dosis semanal de 980 UI/kg de peso corporal de vitamina D3 durante 8 semanas) cambió significativamente la composición de la microbiota intestinal, reduciendo patógenos oportunistas y aumentando la riqueza bacteriana. Específicamente, la clase de *Gammaproteobacteria* (incluyendo *Pseudomonas spp* y *Escherichia/Shigella spp*), disminuyó significativamente. Aparentemente, los efectos sobre las bacterias intestinales son mediados por las células T CD8+ de las mucosas. Estas células inmunológicas tienen una alta expresión de VDR: bajo la suplementación con vitamina D, ocurre un cambio de la forma naïve a la forma efectora; las células T efectoras CD8+ reducen el ambiente inflamatorio a través de la síntesis de calcitriol y permiten que las bacterias beneficiosas (como *Bacteroidetes*) superen a los patógenos oportunistas. Estas modulaciones microbianas intestinales podrían contrarrestar las disfunciones de la barrera intestinal y la disbiosis observadas durante el desarrollo y la progresión del CRC (Rinninella et al. 2019).

Por el contrario, la deficiencia de vitamina D exacerba las disfunciones de la microbiota intestinal desencadenadas por el CRC (Figura 12), como la disbiosis, la disminución de los productores bacterianos de butirato y el aumento de la inflamación crónica que conduce a la inmunosupresión. Un estudio reciente de casos y controles analizó la composición de la microbiota fecal de pacientes con CRC y sujetos de control, evaluando el papel del microbioma y la dieta (incluida la vitamina D) en la etiología del CRC y la regulación de los marcadores de inflamación. Los investigadores encontraron una asociación inversa entre el riesgo de CRC y el consumo elevado de pescado graso (rico en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y vitamina D). Por el contrario, una dieta pobre en pescado graso y rica en carbohidratos se asoció significativamente con el riesgo de CRC. Se encontró que el microbioma intestinal (relación de géneros *Bifidobacterium/Escherichia*) mediaba significativamente el efecto de la dieta en el riesgo de CRC. Además, el perfil microbiano intestinal de los pacientes con CRC estaba enriquecido en especies proinflamatorias como *Parvimonas micra*, *F. nucleatum* y especies de *B. fragilis*, mientras que las muestras de los sujetos de control estaban

asociadas con una mayor abundancia de especies de *Bacteroidetes* y *Bifidobacterium* (Rinninella et al. 2019). Otro estudio reciente con 80 mujeres sanas, pero deficientes en vitamina D, midió los niveles de 25-hidroxivitamina D en suero antes y después de la suplementación con vitamina D. La suplementación con vitamina D aumentó significativamente la diversidad microbiana intestinal. Específicamente, la proporción de *Bacteroidetes*/Firmicutes aumentó. A nivel de género, variaciones significativas en *Bacteroides* y *Prevotella*, junto con la abundancia de los taxones probióticos promotores de la salud *Akkermansia* y *Bifidobacterium*, indicaron una variación beneficiosa en los enterotipos después de la suplementación (Rinninella et al. 2019). Por último, un estudio en humanos correlacionó los cambios estacionales en los niveles circulantes de 25-hidroxivitamina D con la composición del microbioma intestinal en pacientes con EII, observando una reducción en la abundancia de géneros bacterianos típicos de la inflamación como *Eggerthella lenta*, *Fusobacterium spp*, *Bacteroides spp*, *Collinsella aerofaciens* y *Helicobacter spp* en el período de verano/otoño, cuando la exposición a la luz (y la síntesis de 1,25-D) es mayor (Rinninella et al. 2019).

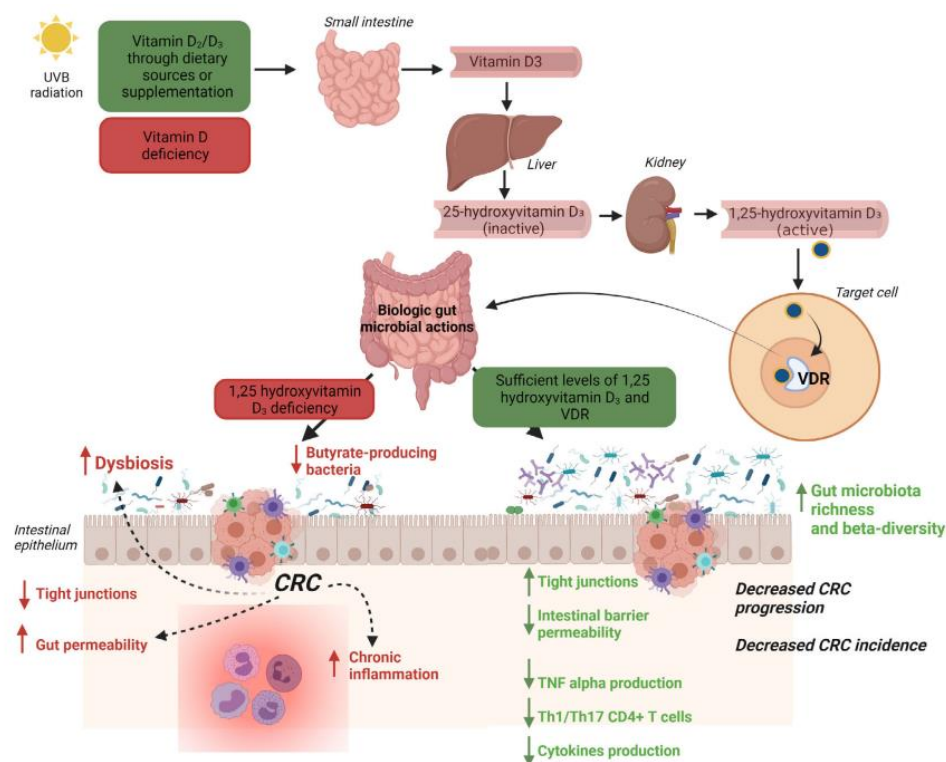


Figura 12. El impacto de la ingesta de vitamina D en el proceso del CRC a través de la modulación de la microbiota intestinal. Adaptado de (Rinninella et al. 2019).

16. ALTERACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR VDR EN EL CRC

La respuesta celular a la vitamina D está principalmente determinada por el nivel de VDR y la concentración de calcitriol dentro del núcleo, lo cual depende de la expresión y actividad de las enzimas CYP27B1 y CYP24A1. La primera hidroxila el calcidiol (25(OH)D)

para producir calcitriol y la segunda cataliza la oxidación adicional de calcitriol a compuestos menos activos. CYP27B1 se expresa altamente en pólipos hiperplásicos y en carcinomas moderadamente y bien diferenciados, pero disminuye en carcinomas poco diferenciados en etapas tardías y es apenas detectable en células de CRC que hacen metástasis a los ganglios linfáticos regionales en biopsias humanas (Ferrer-Mayorga et al. 2019, Peixoto et al. 2022).

Por el contrario, la expresión de CYP24A1 es baja en las células epiteliales del colon normal, pero se induce en adenomas colorrectales y tumores de CRC. Alrededor del 60% de los tumores de CRC presentan un número elevado de copias del gen CYP24A1 que se correlaciona directamente con la expresión de CYP24A1. Además, la expresión de CYP24A1 en células de CRC se induce mediante inhibidores de las DNA metiltransferasas a través de la alteración de la expresión de algunos reguladores que están antes del extremo 5' del promotor de CYP24A1, pero no mediante la desmetilación del gen en sí. En lesiones precancerosas y en etapas tempranas de CRC a partir de biopsias humanas, la expresión de VDR se incrementa, pero disminuye en etapas tumorales avanzadas siendo baja o perdida en las metástasis de los ganglios linfáticos de CRC. Ferrer-Mayorga et al. informaron que SNAIL1 y SNAIL2, dos factores de transcripción que inducen la transición epitelio-mesénquima (EMT), reprimen la expresión del gen VDR durante la progresión del CRC. Por lo tanto, la baja expresión de CYP27B1 y VDR y la alta expresión de CYP24A1 en las células de carcinoma de CRC pueden resultar en resistencia a los efectos del calcitriol. Sorprendentemente, se ha propuesto que un valor de calcidiol más alto se correlaciona con un menor riesgo de CRC independientemente del nivel de VDR, aunque los autores admiten la falta de un método estandarizado para evaluar VDR en tumores de CRC y un consenso para clasificarlos como altos o bajos expresores de VDR. En este contexto, datos recientes indican que los tumores de CRC que carecen de expresión de VDR en células de carcinoma podrían beneficiarse de la acción protectora de los agonistas de VDR sobre los fibroblastos estromales tumorales (Ferrer-Mayorga et al. 2019).

La variación del gen *vdr* humano da forma al microbioma intestinal y la eliminación del gen conduce a la disbiosis y tumorigénesis. Zhang et. al estudiaron el mecanismo mediante el cual el VDR intestinal protege contra la disbiosis y tumorigénesis a través de la vía Janus quinasa (JAK)/ STAT, mediante un modelo de cáncer inducido por azoximetano (AOM)/sulfato de dextrano sódico (DSS), utilizando ratones con eliminación intestinal de VDR (VDR^{ΔIEC}), colonoides y muestras humanas. Encontraron que los ratones VDR^{ΔIEC} presentaron un mayor número y tamaño de tumores, con su ubicación tumoral desplazada del colon distal al proximal, unido a un aumento significativo del marcador proliferativo antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA). Asimismo, se demostró mayor proporción de *B. fragilis*, *B. fibrisolvens* y *F. peptostreptococcus* en tejido tumoral de ratones VDR^{ΔIEC}. De forma consecuente, los metabolitos microbianos de los ratones VDR^{ΔIEC} mostraron un aumento en los ácidos biliares secundarios, lo cual es consistente con las observaciones en CRC humano. Además, las funciones epiteliales intestinales y microbianas alteradas conducen a una inflamación crónica, exacerbando así la progresión del cáncer de colon. Esto quedó demostrado por un aumento en varios marcadores linfocitarios (como CD68, CD3 y CD11b) en los tumores colónicos en ratones, especialmente en los VDR^{ΔIEC}; un aumento de lipopolisacárido y un aumento mayor de

la lipocalina-2 (Lcn-2), un marcador de inflamación intestinal, en el tejido tumoral de los ratones VDR^{ΔIEC} (Zhang et al. 2020).

De esta forma, Zhang et. al describen que el mecanismo de disfunción de VDR que conduce a la disbiosis y la tumorigénesis es mediado a través de la hiperfunción del gen *JAK2*. Se observó una reducción de VDR y aumento de la expresión de *JAK2* y *STAT3* en pacientes humanos con CRC y en el modelo de cáncer de colon inducido por AOM/DSS. Por tanto, se deduce que la vía *JAK/STAT3* juega un papel crítico en la homeostasis intestinal y microbiana. Así, un modelo funcional de VDR mantiene la homeostasis intestinal, protegiendo contra la disbiosis y la tumorigénesis a través de la vía *JAK/STAT* en el intestino. Sin embargo, la falta de VDR epitelial intestinal provoca disbiosis e hiperregulación de *JAK/STAT3*, lo que conduce a un estado inflamatorio que contribuye a la iniciación y progresión del cáncer de colon (Figura 13) (Zhang et al. 2020).

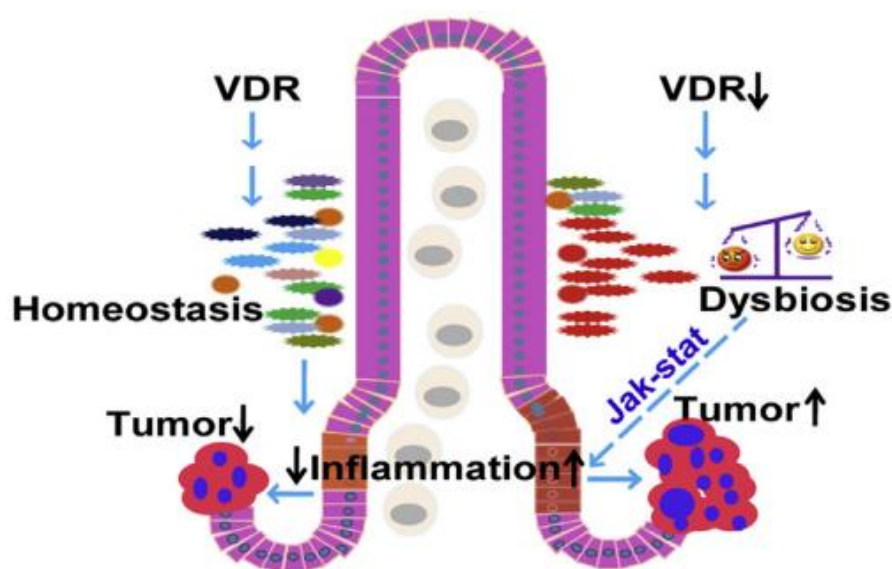


Figura 13. La disfunción de VDR que conduce a la disbiosis y la tumorigénesis es mediado a través de la hiperfunción de *JAK2*. VDR protege contra la disbiosis y la tumorigénesis a través de la vía *JAK/STAT* en el intestino. La falta de VDR epitelial intestinal causa disbiosis e hiperregulación de *JAK/STAT3*, lo que lleva a la sobreproducción de tumores en el colon. Adaptado de (Zhang et al. 2020).

17. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL CALCITRIOL EN EL CRC

La vitamina D desempeña un papel en la quimioprevención del CRC por sus efectos no solo sobre las células cancerígenas (Figura 14) sino también sobre el estroma tumoral.

17.1. Efectos sobre las células del CRC

17.1.1. Actividad antiproliferativa. El calcitriol inhibe la proliferación de células de carcinoma al inducir la detención del ciclo celular en la fase G1, mediante la regulación

positiva de los inhibidores del ciclo celular p21^{WAF1/CIP} y p27^{KIP}. Por otro lado, también induce la expresión del receptor 1 del factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β 1) para restaurar la sensibilidad al TGF- β , inhibidor de la proliferación epitelial que se ve alterado en el CRC (Na et al. 2022).

17.1.2. Actividad antimetastásica. Como ya se ha mencionado, la vía Wnt/ β -catenina se activa de manera aberrante en el CRC, y se implica en la expresión de varios genes que contribuyen al desarrollo y progresión de la carcinogénesis. La activación de Wnt/ β -catenina ocurre de forma temprana en el CRC por mutación de genes que codifican APC, CTNNB1/ β -catenina o AXIN, o por la desregulación del receptor Wnt. Como resultado, la β -catenina se acumula en el citoplasma y el núcleo. La β -catenina nuclear se une a los miembros de la familia de factores de células T (TCF) unidos al ADN y actúa como un coactivador transcripcional que desreprime una gran cantidad de genes cuya expresión está inhibida por TCF en ausencia de β -catenina. El calcitriol antagoniza la vía Wnt/ β -catenina actuando a varios niveles: 1) promueve la unión VDR/ β -catenina, reduciendo así la cantidad de β -catenina unida a TCF, 2) induce la expresión del gen CDH1 que codifica la E-cadherina, la cual secuestra β -catenina, disminuyendo así el contenido de β -catenina nuclear y 3) aumenta la expresión extracelular del inhibidor de Wnt DKK-1 (Na et al. 2022).

17.1.3. Efectos en la diferenciación. Ya hemos visto cómo muchos genes diana de β -catenina-TCF promueven la proliferación y migración celular. Sin embargo, existe una proporción minoritaria de genes diana que son inducidos solo por TCF, y que son reprimidos por β -catenina-TCF, que mantienen el fenotipo diferenciado de la célula epitelial intestinal. El calcitriol puede estimular un aumento de la activación de estos genes. El mecanismo que lo explica subyace en la inhibición de la vía de Wnt/ β -catenina en células de carcinoma de manera paracrina mediante la inhibición de la síntesis y secreción de IL-1 β por macrófagos vecinos que estabilizan β -catenina en células de carcinoma. Como resultado, el calcitriol promueve la diferenciación epitelial de las células de carcinoma de colon, previniendo así la EMT (Ferrer-Mayorga et al. 2019).

17.1.4. Actividad antiangiogénica. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es necesario para la formación de los nuevos vasos sanguíneos necesarios para el crecimiento y la diseminación de tumores sólidos. El calcitriol inhibe la transcripción y expresión del Factor-1 inducible por hipoxia (HIF-1) y disminuye la expresión de VEGF y de IL-8, un factor angiogénico importante. Asimismo, el calcitriol desencadena efectos antiangiogénicos a través de la señalización de NF- κ B, y las proteínas nucleares FOXM1 y DKK4 (Na et al. 2022).

17.1.5. Actividad proapoptótica. El calcitriol suprime la expresión de proteínas antiapoptóticas (BCL-2, BAG1 y BCL-XL), e induce la expresión de proteínas proapoptóticas (BAX, BAK y BAD). Además, facilita la liberación de citocromo c de las mitocondrias, lo que lleva a la activación de las caspasas 3 y 9. Por último, el VDR epitelial colónico inhibe la apoptosis de las células epiteliales al regular negativamente el modulador de la apoptosis regulado positivamente por p53 (PUMA), un regulador proapoptótico importante que protege la barrera mucosa y reduce la inflamación (Na et al. 2022).

17.1.6. Otros mecanismos quimiopreventivos. El calcitriol regula la expresión de varios microARNs (miRs) en células de CRC humano. Uno de ellos es el miR-22, que es inducido por el calcitriol de manera dependiente del tiempo, la dosis y el VDR, y media parcialmente los efectos antiproliferativos, antimigratorios, antiinvasivos y prodiferenciadores del calcitriol. Es por ello que la expresión de miR-22 es más baja en el tumor que en el tejido normal correspondiente en el 78% de los pacientes con CRC. Asimismo, la vitamina D ejerce un efecto antiinflamatorio al interferir con la síntesis de prostaglandinas, la señalización de quinasas activadas por estrés y la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6, IL-1 β e IL-8. Los efectos del calcitriol en estas y otras citocinas (IL-12, TGF- β) que están sobreexpresadas en pacientes con CRC son mediados en parte por la inhibición del factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B). Por último, actúa como un potente inhibidor de la angiogénesis inducida por células tumorales, inhibiendo la señalización de quinasas activadas por estrés e induciendo la quinasa activada por mitógenos, todos los cuales tienen efecto anticancerígeno. El gen *MEG3* suprime la glucólisis en CRC al promover la degradación de c-Myc (Na et al. 2022).

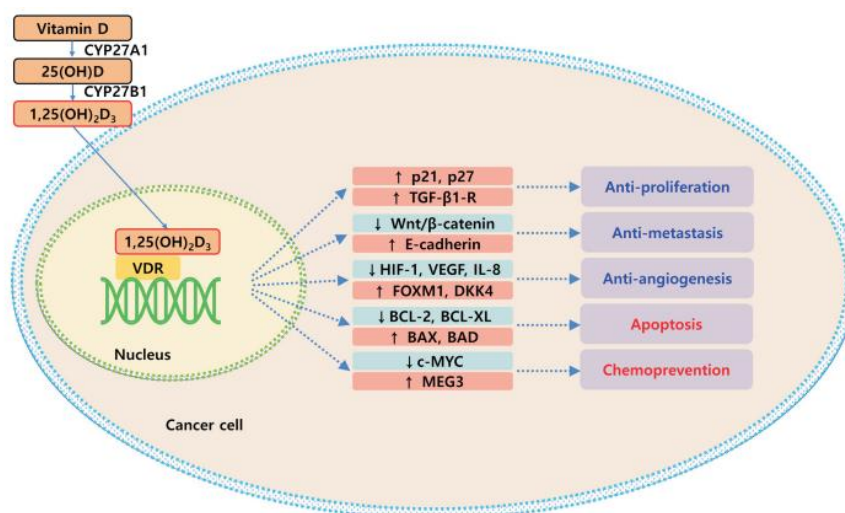


Figura 14. Efectos anticancerígenos mediados por las vías de señalización de la vitamina D. Adaptado de (Na et al. 2022).

17.2. Efectos sobre el estroma tumoral

El estroma o microambiente tumoral está compuesto por varios tipos celulares y la matriz extracelular y ejerce una influencia importante sobre el comportamiento del carcinoma. Los fibroblastos son el principal componente celular del estroma tumoral que, tras un cambio de fenotipo ("activación") desencadenado por señales recibidas de las células de carcinoma, promueven el proceso tumorigénico. Los fibroblastos remodelan la matriz extracelular y secretan factores que aumentan la malignidad y la resistencia a la quimioterapia de las células cancerosas, inducen el reclutamiento de

células de la médula ósea y alteran el comportamiento de las células inmunes (Ferrer-Mayorga et al. 2019).

Se ha visto que tanto los fibroblastos normales del colon humano como los fibroblastos asociados al cáncer expresan VDR y responden al calcitriol. Es importante destacar que el calcitriol cambia drásticamente el perfil de expresión génica de los dos tipos de fibroblastos regulando alrededor de mil genes con un 21% de superposición entre ambos tipos de fibroblastos. Curiosamente, la firma génica impuesta por el calcitriol en los fibroblastos asociados al cáncer se correlaciona con un resultado favorable para los pacientes con CRC. En consecuencia, el calcitriol inhibe dos propiedades protumorales de los fibroblastos activados: la capacidad de alterar la matriz extracelular y la capacidad de inducir la migración de las células de carcinoma de colon. Un estudio de Ferrer-Mayorga et al. ha demostrado que un alto nivel de VDR ya sea en las células de carcinoma, en los fibroblastos tumorales, y particularmente en ambos, se asocia con una supervivencia global más prolongada de los pacientes con CRC metastásico (Ferrer-Mayorga et al. 2019).

Los numerosos efectos antitumorales de la vitamina D sugieren que la suplementación sería eficaz para reducir la aparición, el tamaño o la recurrencia de los tumores. Hace ya 40 años, un informe epidemiológico fundamental indicó que la vitamina D podría tener un efecto protector contra el CRC, ya que residir en latitudes más bajas, así como una mayor exposición al sol (ambas conducen a una mayor producción endógena de vitamina D3) disminuyen el riesgo de CRC (Carlberg and Velleuer 2022). Los estudios epidemiológicos observacionales sugieren una asociación inversa entre los niveles séricos de vitamina D y la incidencia de CRC, donde la deficiencia de vitamina D aumenta la incidencia de CRC y tiene un impacto negativo en la supervivencia de los pacientes con CRC. Sin embargo, los ensayos clínicos aleatorizados no han demostrado el impacto de la suplementación con vitamina D en la incidencia, recurrencia, progresión o mortalidad del CRC. El ensayo clínico aleatorizado más grande hasta la fecha (VITAL) aleatorizó a 25.871 adultos estadounidenses para recibir 2.000 UI/día de vitamina D3 o placebo durante un periodo de 5,3 años. Este ensayo no encontró ningún efecto de la suplementación diaria con vitamina D sobre la incidencia de cáncer invasivo (HR 0,96, IC 95% 0,88-1,06). En el ensayo ViDA en adultos de Nueva Zelanda, donde 5.110 participantes recibieron suplementos mensuales de vitamina D3 en dosis altas (100.000 UI) durante 3,3 años, la suplementación mensual con vitamina D no modificó la incidencia de cáncer (Bouillon et al. 2022, Carlberg and Velleuer 2022).

En resumen, los estudios epidemiológicos observacionales monitorean que un nivel bajo de vitamina D es un factor de riesgo para diferentes tipos de cáncer. Sin embargo, los ensayos controlados aleatorios no han podido confirmar estos hallazgos para la población general, lo que sugiere una estratificación en subpoblaciones más receptivas.

18. MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON FINES TERAPÉUTICOS

Como ya se ha descrito anteriormente, la microbiota intestinal juega un papel importante en el CRC a través de varios mecanismos. Por lo tanto, la modulación de la

microbiota intestinal, que tiene como objetivo revertir la disbiosis microbiana establecida, es una estrategia novedosa para la prevención y el tratamiento del CRC. Se han empleado diferentes estrategias, como la intervención dietética, probióticos, prebióticos, postbióticos y el trasplante de microbiota fecal (TMF).

18.1. Intervención dietética

Ya hemos descrito cómo las poblaciones que consumen diferentes dietas tienen composiciones microbianas intestinales marcadamente diferentes. Como ya se ha mostrado, en lugar de dietas occidentales, adoptar un patrón dietético saludable (alto consumo de frutas y verduras, cereales integrales, pescado, carnes blancas y derivados de la soya) disminuye el riesgo de CRC. De manera consistente, en un estudio, se realizaron intercambios alimentarios de dos semanas entre africanos nativos con bajas tasas de CRC y afroamericanos con altas tasas de CRC. Los afroamericanos consumieron una dieta alta en fibra y baja en grasa, mientras que los africanos nativos consumieron una dieta occidental alta en grasa y baja en fibra. Los cambios dietéticos resultaron en cambios rápidos y recíprocos en las microbiotas intestinales. Es notable que, aunque la intervención dietética a corto plazo puede remodelar rápidamente el microbioma intestinal, no puede prevenir el CRC porque, una vez que se reanuda la dieta original a largo plazo, el microbioma intestinal vuelve a su composición anterior. Aunque las intervenciones dietéticas (como la ingesta alta en fibra) pueden potencialmente prevenir el CRC, se necesitan más estudios clínicos y nutricionales para establecer las condiciones más apropiadas tanto para la dosis como para la duración (Cheng et al. 2020).

18.2. Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped. Estos pueden funcionar en la prevención y el tratamiento del CRC al inactivar carcinógenos o mutágenos, modular la inmunidad del huésped, inhibir la proliferación celular y mejorar la función de la barrera intestinal. Varios estudios con modelos animales inducidos químicamente evidenciaron que la administración de probióticos ejercía efectos protectores significativos contra el CRC. Los dos probióticos clave son *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. La administración oral de *Bifidobacterium* puede influir en la respuesta inmunitaria contra el CRC, así como mejorar la eficacia quimioterapéutica al reducir la actividad glucuronidasa. Se observó que *B. breve* reduce el crecimiento tumoral en ratones portadores de carcinoma de colon MC38 y aumenta la eficacia de las terapias contra el cáncer. Asimismo, las cepas de *B. infantis* y *B. breve* interactúan con TLR y pueden activar células dendríticas intestinales, células T reguladoras Foxp3+ y células Tr1 productoras de IL-10 (Pandey et al. 2023). Por otro lado, *Lactobacillus* puede reducir la incidencia de CRC al inducir apoptosis, reduciendo la expresión de β -catenina y NF- κ B, y modulando a las células dendríticas productoras de citocinas. También regula la expresión de TLR y potencia la función de barrera epitelial intestinal. Existen múltiples

cepas de *Lactobacillus* que actúan a diferentes niveles. Por ejemplo, *L. mamnosus* GG y *L. acidophilus* inhiben STAT3 y señalización de NF-kB, regulando negativamente la expresión de células Th17. A su vez, *L. rhamnosus* GG disminuye la carga tumoral en un modelo de CRC en ratón al aumentar la respuesta de las células T CD8 colónicas (Pandey et al. 2023).

El tratamiento con una mezcla de probióticos (*L. plantarum*, *L. acidophilus* y *B. longum*) en pacientes con CRC aumentó la cantidad de proteínas de unión celular, mejorando así la integridad de la barrera mucosa intestinal. La ingesta oral de *L. casei* redujo la atipia de los tumores colorrectales en pacientes que habían sido sometidos a resección. Un estudio de intervención con probióticos reveló que los pacientes con CRC que recibieron *B. lactis* BI-04 y *L. acidophilus* NCFM tenían mayor abundancia de bacterias productoras de butirato, como *Faecalibacterium* y *Clostridiales spp.*, y menor abundancia de géneros asociados con el CRC, incluidos *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus* (Cheng et al. 2020).

No todos los probióticos son útiles o funcionan de la misma manera, y su beneficio depende de la cepa, la dosis, la duración de la intervención y el tiempo de tránsito intestinal. La seguridad de los probióticos también es controvertida, y algunos menos caracterizados pueden alterar la barrera intestinal. Por lo tanto, se necesitan más investigaciones para identificar probióticos seguros y efectivos para la terapia del CRC y estandarizar los marcos de aplicación y regulación (Cheng et al. 2020).

18.3. Prebióticos

Los prebióticos son componentes alimentarios utilizados selectivamente por los microorganismos del huésped para conferir un beneficio para la salud. Los ensayos clínicos han encontrado que la administración de prebióticos aumenta la abundancia de cepas probióticas, como *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Rosebura* y *Akkermansia*. Los oligosacáridos prebióticos pueden inhibir la colonización de patógenos al interactuar con los receptores bacterianos y evitar que los patógenos se adhieran a las células epiteliales (Figura 15). Un estudio sobre la povidexosa encontró sus efectos beneficiosos para mantener una microbiota intestinal saludable. Los fructanos y galactooligosacáridos aumentan la abundancia de bacterias beneficiosas, como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, y aumentan la concentración de butirato fecal. La inulina, un polisacárido que se encuentra en las alcachofas, los plátanos, los espárragos y el trigo, disminuye la formación de lesiones precancerosas al inhibir la actividad de la glucuronidasa y disminuir el pH y la concentración de indol, fenol y p-cresol en el colon. También se ha demostrado que la ingesta de inulina aumenta la abundancia de *Bifidobacterium*. Polisacáridos de *Lachnum sp.* alteran la microbiota intestinal y reducen la inflamación y la incidencia de tumores (Pandey et al. 2023).

Los simbióticos son la combinación de prebióticos y probióticos. Un simbiótico consistente en la inulina prebiótica y los probióticos *L. rhamnosus* GG y *B. lactis* Bb12 indujo cambios en la microbiota fecal (aumento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y disminución de *Clostridium perfringens*) con una reducción de la proliferación colorrectal

y función de la barrera epitelial mejorada en pacientes con antecedentes de pólipos colónicos (Cheng et al. 2020; Wong and Yu 2019).

18.4. Postbióticos

Los postbióticos (Figura 15) son productos solubles y metabolitos generados por la microbiota intestinal que ejercen efectos metabólicos y/o inmunomoduladores en el huésped. El ejemplo más conocido de postbiótico son los AGCC producidos por la fermentación de los probióticos. La utilización de postbióticos puede ser tan efectiva como la ingestión de microorganismos vivos y mucho más segura (Fong et al. 2020).

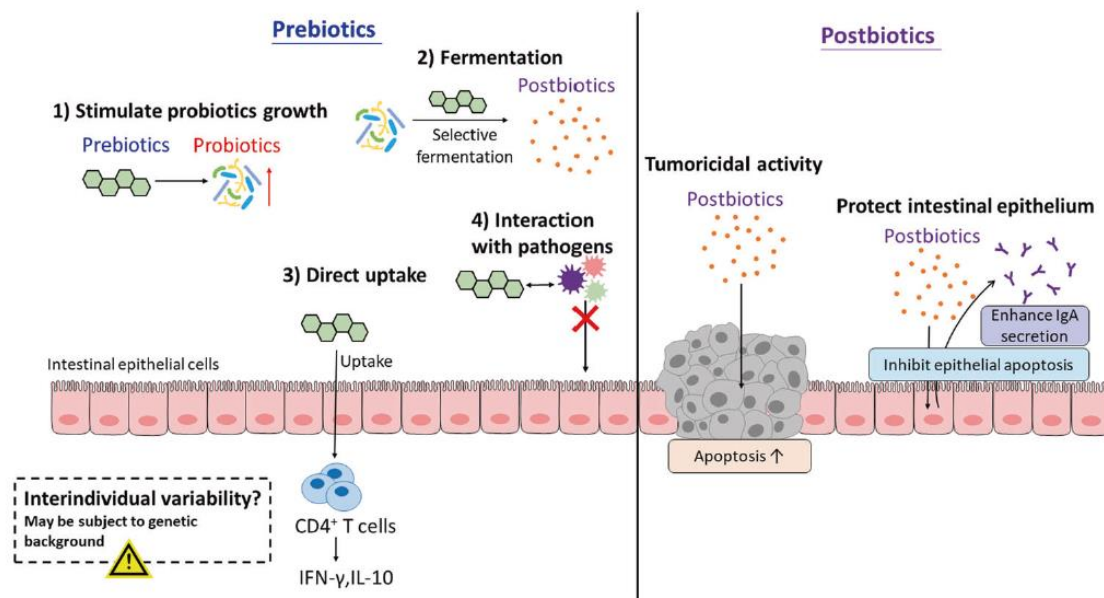


Figura 15. Mecanismos de acción de prebióticos y postbióticos. Los prebióticos (1) estimulan el crecimiento de los probióticos, (2) inducen la fermentación selectiva por los probióticos, (3) son absorbidos en el intestino y ejercer una acción antiinflamatoria, (4) interactúan con patógenos para prevenir la colonización. Los postbióticos pueden ejercer citotoxicidad selectiva a las células tumorales incrementando su apoptosis y protegiendo el epitelio intestinal por inhibición de la apoptosis de las células epiteliales normales y aumentando la secreción de IgA. Adaptado de (Fong et al. 2020)

18.5. Trasplante de microbiota fecal

El trasplante de microbiota fecal es un procedimiento bioterapéutico emergente que tiene como objetivo restaurar la ecología microbiana normal del intestino para mejorar diversos trastornos gastrointestinales, incluidas las EII. El TMF implica el trasplante de una población microbiana de un donante a un receptor. Aunque su aplicación en el tratamiento clínico del CRC no ha sido explorada, un estudio reciente en ratones mostró

que los trasplantes fecales de ratones salvajes a ratones de laboratorio mejoraron la resistencia contra la tumorigénesis colorrectal inducida por AOM y DSS.

La modulación del microbioma intestinal mediante TMF puede eliminar la colitis refractaria como efecto adverso de la inmunoterapia. Sin embargo, la logística, la seguridad y la eficacia potencialmente limitada del TMF han impedido su uso más amplio. Algunos pacientes que recibieron TMF desarrollaron efectos adversos, como diarrea, estreñimiento y distensión abdominal. Además, un posible riesgo con el TMF es la transmisión de bacterias multirresistentes, lo que podría llevar a infecciones potencialmente mortales, como bacteriemia por *Escherichia coli*. Otro riesgo asociado con el TMF es la transmisión de enfermedades crónicas asociadas al microbioma, tales como trastornos gastrointestinales, cardiometabólicos y autoinmunes (Pandey et al. 2023). A día de hoy, se necesita más investigación antes de que el TMF pueda administrarse como un tratamiento anticancerígeno en el CRC.

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

Comprender el panorama metagenómico del microbioma del CRC nos ayuda a seleccionar biomarcadores útiles. Una aplicación traslacional emergente del microbioma intestinal es su uso como biomarcador. Esto es importante dada la considerable evidencia de que el cribado de individuos con riesgo promedio puede reducir la incidencia y mortalidad del CRC, y más aún en etapas tempranas en las que todavía pueden tratarse con excelentes resultados clínicos (el CRC localizado tiene una supervivencia a 5 años del 90%, en comparación con el 14% en enfermedades metastásicas distantes) (Wong and Yu 2019).

Además de los enfoques endoscópicos invasivos clásicos, se han utilizado ampliamente varias herramientas de cribado temprano no invasivas para el CRC, como la prueba inmunoquímica fecal (FIT), debido a sus efectos en la reducción tanto de la incidencia como de la mortalidad del CRC. La FIT tiene una sensibilidad limitada al 79% para detectar CRC y del 25-27% para detectar adenomas colorrectales avanzados. Aunque la prueba multianálisis de ADN en heces (incluye mutaciones de *KRAS*, metilaciones aberrantes e inmunoensayo de hemoglobina) 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%). Por tanto, gracias al creciente número de conjuntos de datos metagenómicos en CRC, tenemos una rica fuente para desarrollar marcadores microbianos fecales para el diagnóstico de la enfermedad (Wong and Yu 2019).

Entre varios candidatos bacterianos, *F. nucleatum* ha surgido como un marcador clave, ya sea cuantificado solo o combinado con otras bacterias. Se ha demostrado que agregar la abundancia fecal de *F. nucleatum* a la prueba FIT proporciona una sensibilidad y especificidad superiores en la detección de CRC en comparación con el uso de FIT solo, incrementando el área bajo la curva de 0.86 a 0.95 (Wong and Yu 2019).

Por otro lado, es también necesario el desarrollo de nuevas técnicas para la detección de pólipos adenomatosos, especialmente neoplasias avanzadas, dado que las pruebas de cribado no invasivas actuales basadas en heces (FIT y prueba multidiaria de ADN en heces) tienen bajas sensibilidades para detectar adenomas colorrectales. En un estudio que utilizó un enfoque bayesiano para evaluar marcadores en un modelo, los marcadores microbianos fecales pudieron diferenciar a pacientes con adenomas colorrectales de controles sanos con un área bajo la curva de 0.90 después de combinar datos de abundancia de cinco especies bacterianas con parámetros clínicos, lo que se tradujo en un aumento de 4.5 veces en la probabilidad post-prueba de detectar un adenoma. Además, la cuantificación de *F. nucleatum* en muestras fecales ha demostrado diferenciar a pacientes con adenomas colorrectales de individuos sanos como controles, ya sea con otros marcadores microbianos o combinados con FIT, aunque las diferencias entre los casos de adenoma y los controles fueron menos distintivas (Wong and Yu 2019).

Varios estudios han reportado asociaciones entre el CRC y el microbioma oral, como *Streptococcus* y *Prevotella spp.*, y han planteado la posibilidad de perfilar las bacterias orales para predecir el CRC. Por otro lado, la detección de estas bacterias específicas o una respuesta inmune en la sangre también podría proporcionar una pista para la detección de neoplasias colorrectales. La asociación robusta del CRC con *Streptococcus gallolyticus* ha llevado al desarrollo de una prueba de serología múltiple, ya que una prueba positiva se asoció con el diagnóstico de CRC hasta 10 años después de la toma de sangre. Además, la evaluación de anticuerpos séricos contra *F. nucleatum* también podría ser un biomarcador potencial para detectar CRC. Varios estudios de epidemiología molecular han mostrado relaciones inversas entre las cantidades tumorales de *F. nucleatum* en el tejido, medidas por PCR cuantitativa, y la supervivencia en CRC. Este hallazgo destaca el potencial de cuantificar *F. nucleatum* en el tejido tumoral como un marcador pronóstico, cuya erradicación podría mejorar el pronóstico y la supervivencia de la enfermedad. Por último, el cribado del metaboloma fecal es otro procedimiento prometedor no invasivo para obtener una huella metabólica única para diagnosticar el CRC (Wong and Yu 2019).

20. CONCLUSIONES

La disbiosis se ha vinculado con un amplio espectro de enfermedades, incluyendo las EII, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas y varios tipos de cáncer, entre ellos el CRC. La carcinogénesis colorrectal es un proceso complejo influenciado por factores genéticos y ambientales. Los mecanismos clave incluyen la inflamación, la presencia de bacterias patógenas y sus factores de virulencia, genotoxinas, estrés oxidativo, metabolitos de la dieta y biofilms. Entre las principales bacterias involucradas en la progresión del CRC se encuentran *Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*, y *Bacteroides fragilis*.

El conocimiento metagenómico del microbioma en el CRC ha permitido su aplicación como biomarcador para mejorar la detección temprana y la prevención del CRC. Asimismo, se han desarrollado estrategias de modulación de la microbiota para la prevención y tratamiento del CRC. Sin embargo, se requiere más investigación para

validar la efectividad, seguridad y aplicabilidad clínica de estas estrategias en pacientes con CRC.

La vitamina D ejerce una actividad quimiopreventiva significativa en el CRC, modulando las células del sistema inmunológico innato y adaptativo a través de la regulación del mismo conjunto de genes y vías que impulsan el crecimiento de células cancerosas. El déficit de vitamina D exacerba las disfunciones de la microbiota intestinal, como la disbiosis y la inflamación crónica, facilitando la carcinogénesis. Además, la disfunción de su receptor (VDR) también conduce a la disbiosis y la tumorigénesis mediante la hiperregulación de la vía JAK/STAT3.

Aunque estudios epidemiológicos observacionales sugieren una asociación inversa entre los niveles séricos de vitamina D y la incidencia de CRC, los ensayos clínicos aleatorizados no han demostrado un impacto significativo de la suplementación con vitamina D en la incidencia, recurrencia, progresión o mortalidad del CRC. Esto subraya la necesidad de más estudios que incorporen una estratificación en subpoblaciones más receptivas.

En resumen, la microbiota intestinal y la vitamina D desempeñan roles cruciales en el desarrollo y la progresión del CRC. La investigación futura debe centrarse en validar y optimizar las intervenciones basadas en la modulación de la microbiota y la suplementación con vitamina D para mejorar los resultados clínicos en pacientes con CRC.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
(AGCC)	Ácidos grasos de cadena corta
(AOM)	Azoximetano
(BFT)	Toxina de <i>B. fragilis</i>
(CDT)	Toxina distendente citoletal
(CIMP)	Fenotipo metilador de islas CpG
(CIN)	Inestabilidad cromosómica
(CNF)	Factor necrotizante citotóxico
(COX)	Ciclooxigenasa
(CRC)	Cáncer colorrectal
(CYP)	Citocromo P
(DSS)	Sulfato de dextrano sódico
(EII)	Enfermedad inflamatoria intestinal
(EMT)	Transición epitelio-mesénquima
(ETBF)	<i>Bacteroides fragilis</i> enterotoxigénico
(FIT)	Prueba inmunoquímica fecal
(GPR)	Receptores acoplados a proteínas G
(HNPCC)	Cáncer colorrectal hereditario no polipósico
(ICI)	Inhibidor de puntos de control inmunitario
(IGF1)	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
(JAK2)	Janus quinasa 2
(MAMP)	Patrones moleculares asociados a microorganismos
(MSI)	Inestabilidad de microsatélites

(NF-κB)	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
(NGS)	Secuenciación de nueva generación
(NLR)	Receptores tipo NOD
(NOC)	Componentes derivados del óxido nitroso
(PAF)	Poliposis adenomatosa familiar
(pks)	Isla genómica de la poliquétido sintetasa
(PPAR-γ)	Receptores activados por proliferadores de peroxisomas
(RNS)	Especies reactivas de nitrógeno
(ROS)	Especies reactivas de oxígeno
(SMRT)	Secuenciación en tiempo real de una sola molécula
(STAT3)	Transductor de señal y activador de la transcripción-3
(TAV)	Tejido adiposo visceral
(TCF)	Factores de células T
(TGF-β)	Factor de crecimiento transformante-beta
(TLR)	Receptor tipo toll
(TMAO)	N-óxido de trimetilamina
(TMF)	Trasplante de microbiota fecal
(TNF)	Factor de necrosis tisular
(VDR)	Receptor de la vitamina D
(VDR^{ΔIEC})	Eliminación del VDR en el epitelio intestinal

(VEGF)	Factor de crecimiento endotelial vascular
(25(OH)D3)	25-hidroxivitamina D3 o calcidiol

BIBLIOGRAFÍA

- Battistini, Carolina, Rafael Ballan, Marcos Edgar Herkenhoff, Susana Marta Isay Saad, and Jun Sun. 2020. «Vitamin D Modulates Intestinal Microbiota in Inflammatory Bowel Diseases». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (1): 362. <https://doi.org/10.3390/ijms22010362>.
- Bouillon, Roger, Despoina Manousaki, Cliff Rosen, Katerina Trajanoska, Fernando Rivadeneira, and J. Brent Richards. 2022. «The Health Effects of Vitamin D Supplementation: Evidence from Human Studies». *Nature Reviews Endocrinology* 18 (2): 96-110. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00593-z>.
- Cani, Patrice D., and Benedicte F. Jordan. 2018. «Gut Microbiota-Mediated Inflammation in Obesity: A Link with Gastrointestinal Cancer». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 15 (11): 671-82. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0025-6>.
- Carlberg, Carsten, and Eunike Velleuer. 2022. «Vitamin D and the Risk for Cancer: A Molecular Analysis». *Biochemical Pharmacology* 196 (febrero):114735. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114735>.
- Cheng, Mingyue, and Kang Ning. 2019. «Stereotypes About Enterotype: The Old and New Ideas». *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 17 (1): 4-12. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.02.004>.
- Cheng, Yiwen, Zongxin Ling, and Lanjuan Li. 2020. «The Intestinal Microbiota and Colorectal Cancer». *Frontiers in Immunology* 11 (noviembre):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». *Journal of Clinical Investigation* 132 (4): e155101. <https://doi.org/10.1172/JCI155101>.
- 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 (enero):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>.
- Hou, Kaijian, Zhuo-Xun Wu, Xuan-Yu Chen, Jing-Quan Wang, Dongya Zhang, Chuanxing Xiao, Dan Zhu, et al. 2022. «Microbiota in Health and Diseases». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 7 (1): 135. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>.
- 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. 2022. «Potential Role of the Gut Microbiome In Colorectal Cancer Progression». *Frontiers in Immunology* 12 (enero):807648.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.807648>.
- Luo, Fang, Peipei Zhou, Xiong Ran, Ming Gu, and Shaoquan Zhou. 2023. «No Evident Causal Association between *Helicobacter Pylori* Infection and Colorectal Cancer: A Bidirectional Mendelian Randomization Study». *Scientific Reports* 13 (1): 18544. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45545-x>.
- 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 (enero):2868.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02868>.
- Murdaca, Giuseppe, Alessandra Gerosa, Francesca Paladin, Lorena Petrocchi, Sara Banchero, 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>.
- Pandey, Himani, Daryl W. T. Tang, Sunny H. Wong, and Devi Lal. 2023. «Gut Microbiota in Colorectal Cancer: Biological Role and Therapeutic Opportunities». *Cancers* 15 (3): 866. <https://doi.org/10.3390/cancers15030866>.
- 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>.
- Rinninella, Emanuele, Pauline Raoul, Marco Cintoni, Francesco Franceschi, Giacinto Miggiano, Antonio Gasbarrini, and Maria Mele. 2019. «What Is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases». *Microorganisms* 7 (1): 14.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>.
- Shabana, Saleem U Shahid, and Uzma Irfan. 2018. «The Gut Microbiota and Its Potential Role in Obesity». *Future Microbiology* 13 (5): 589-603.
<https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0179>.
- Thursby, Elizabeth, and Nathalie Juge. 2017. «Introduction to the Human Gut Microbiota». *Biochemical Journal* 474 (11): 1823-36.
<https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.
- Tjalsma, Harold, Annemarie Boleij, Julian R. Marchesi, and Bas E. Dutilh. 2012. «A Bacterial Driver-Passenger Model for Colorectal Cancer: Beyond the Usual Suspects». *Nature Reviews. Microbiology* 10 (8): 575-82.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2819>.
- 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>.

- Van Dijk, Erwin L., Yan Jaszczyszyn, Delphine Naquin, and Claude Thermes. 2018. «The Third Revolution in Sequencing Technology». *Trends in Genetics* 34 (9): 666-81. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.05.008>.
- 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, 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 me han acompañado y apoyado a lo largo de este proceso, sin vuestra ayuda no habría podido llegar hasta aquí.

En primer lugar, gracias a mi familia, en especial a mis padres, a mi hermana María y a mi hermano Javier, por enseñarme el valor del esfuerzo y la constancia. Gracias por haber creído siempre en mí y en que lo conseguiría, todo esto también es vuestro.

A mis amigos, gracias por estar siempre ahí, por entender mis ausencias y por los momentos de distracción que tanto necesitaba.

Por último, quiero expresar especial gratitud a mi tutora, Asunción, por su implicación y orientación para la elaboración de este trabajo; sin su ayuda este trabajo no habría sido posible.

A todos vosotros, gracias por creer en mí y por ayudarme a alcanzar esta meta. Este logro es tan mío como suyo.