



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
MICROBIOMA Y DESARROLLO
FARMACÉUTICO**

Autor: Iván Sanz García

Tutor: César Nombela Cano

Convocatoria: Junio 2019

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	- 3 -
2. INTRODUCCIÓN	- 3 -
2.1. Microbioma humano	- 3 -
2.2. Proyecto Microbioma Humano	- 5 -
2.3. Implicación del Microbioma en la enfermedad.....	- 5 -
3. OBJETIVOS.....	- 7 -
4. METODOLOGÍA	- 7 -
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 7 -
5.1. Microbioma como modulador en la inmunidad del cancer	- 7 -
5.2. El microbioma tumoral.....	- 8 -
5.3. Relación entre microbioma y la eficacia de la terapia oncológica	- 9 -
5.3.1. Agentes basados en Platino	- 9 -
5.3.2. Agentes alquilantes del ADN	- 10 -
5.3.3. Inhibidores de puntos de control inmunitario.....	- 12 -
5.4. Inmunomodulación de la respuesta innata frente al cáncer.....	- 13 -
5.5. Terapia celular adoptiva	- 14 -
5.6. Metabolismo de fármacos por el microbioma.....	- 16 -
5.7. Posibilidades de empleo de bacterias como parte del tratamiento antitumoral.....	- 16 -
6. CONCLUSIONES	- 17 -
7. BIBLIOGRAFÍA.....	- 17 -

1. RESUMEN

El microbioma humano hace referencia al conjunto de microorganismos con sus genes y metabolitos que habitan el cuerpo humano, los cuales poseen un comportamiento simbiótico y mutualista con las células humanas. Estas comunidades microbianas desarrollan funciones esenciales para la vida, algunas de las cuales son irrealizables por nuestro propio organismo de forma autónoma. Así, el microbioma ejerce gran influencia tanto en la salud como en la enfermedad del individuo, presentando una composición variable a lo largo de la vida. De los estudios realizados, se sugiere que la importancia del microbioma radica más en su funcionalidad que en la composición microbiana.

En este trabajo se analizan diferentes aspectos relativos al papel del microbioma como modulador de la respuesta del sistema inmunitario frente a procesos carcinogénicos; se exponen las funciones más relevantes que desempeña el microbioma asociado al tumor en la conformación del microambiente tumoral a nivel inmunitario, metabólico y farmacológico; y se profundiza en la relación entre el microbioma y la eficacia de distintas terapias oncológicas, algunas extensamente empleadas a lo largo de los últimos años y otras que poseen gran proyección de futuro, como es el caso de la terapia celular adoptiva. Asimismo, se evalúa la influencia del microbioma en aspectos farmacocinéticos como el metabolismo de fármacos y su potencial utilización como parte de tratamientos antitumorales de los que se emplean para estimular el sistema inmunitario del paciente, ya sea para contribuir a la producción de citocinas en el tejido tumoral o más bien actuando como vector para la liberación de sustancias tumorocidas.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Microbioma humano

El término microbioma humano hace referencia a la “población total de microorganismos con sus genes y metabolitos que colonizan el cuerpo humano, incluyendo el tracto gastrointestinal, el genitourinario, la cavidad oral, la nasofaringe, el tracto respiratorio y la piel”. Es, por tanto, un término amplio que, aunque se refiere literalmente a los genes microbianos presentes en el organismo, se utiliza para las poblaciones microbianas localizadas en el hábitat de todo el cuerpo humano.

Es importante diferenciar dicho concepto, el de microbioma, de la microbiota, que se refiere al “conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, virus, arqueas y parásitos) que residen en nuestro organismo”.

Estas comunidades tienen un comportamiento simbiótico y mutualista con las células humanas y son imprescindibles para el correcto funcionamiento de nuestro organismo, ya que aportan determinadas capacidades de las que carecemos intrínsecamente, pero que se han convertido en fundamentales para el desarrollo de nuestras propias funciones. Entre ellas están la transformación de componentes alimentarios no digeribles en metabolitos absorbibles, la aportación de ácidos grasos de cadena corta, la síntesis de diversos aminoácidos y vitaminas esenciales, la participación en procesos de detoxificación mediante la degradación de xenobióticos, el fortalecimiento de la barrera intestinal o la regulación del sistema inmunitario¹. Por estas razones, el microbioma se puede considerar como el último órgano del cuerpo humano desde el punto de vista fisiológico, siendo imprescindible para la vida y ejerciendo gran influencia en la salud y la enfermedad^{1,2}.

Se habla de una red microbiana porque “la acción transformadora y metabólica no suele depender de una sola especie, sino de varias en cooperación que pueden ser diferentes en distintos individuos”³.

Respecto a los factores que influyen en la composición del microbioma, debe destacarse que este evoluciona a lo largo de la vida del individuo, aunque “a pesar de las variaciones interpersonales y las fluctuaciones a lo largo de la vida por circunstancias intrínsecas o extrínsecas, se han detectado patrones similares de modificación del mismo”.

Los neonatos poseen una microbiota variable, inestable y poco diversa, que está influenciada por la microbiota intrauterina, siendo el tipo de nacimiento otro de los factores que modelan la microbiota del recién nacido. Esto es así porque durante el parto natural se transfiere microbiota vaginal y rectal de la madre al hijo, a diferencia del nacimiento mediante cesárea, en que la microbiota procede sobre todo de bacterias con origen dérmico y del entorno del quirófano. Posteriormente, la alimentación del lactante afecta de manera determinante al establecimiento de esta primera microbiota, puesto que con la lactancia materna se transmiten componentes que favorecen el desarrollo de una microbiota adecuada, así como factores de protección inmunitaria; la transferencia de microbiota materna al recién nacido se produce a través de una vía enteromamaria desde las mucosas de los enterocitos y la cavidad oral hasta las glándulas mamarias.

Así, todos estos factores van a ir modelando la composición cualitativa y cuantitativa de la microbiota temprana, de modo que ello influye considerablemente en la salud del individuo a posteriori. En torno a los 2-3 años tiene lugar una maduración de la microbiota intestinal que permanece estable en la edad adulta, siendo susceptible de modificación por factores endógenos (dotación genética) o exógenos como la localización geográfica, la dieta, la exposición a fármacos o la interacción con otros individuos y el entorno. A medida que se produce el envejecimiento, van aconteciendo cambios en la microbiota que promueven trastornos fisiológicos tales como un aumento del estado inflamatorio, los cuales pueden inducir alteraciones en la homeostasis contribuyendo a la aparición de distintas patologías. Estos cambios en la microbiota no sólo ocurren a consecuencia de la edad, sino de fenómenos concurrentes como estados de desnutrición, inflamación o la creciente necesidad de fármacos como antibióticos y antiinflamatorios que pueden influenciar la composición de la microbiota.

“Estudios recientes sugieren que la importancia del microbioma radica más en su funcionalidad que en la composición microbiana, dado que diferentes especies pueden ejecutar funciones metabólicas equivalentes y una misma especie, diferentes funciones”. Así, se relaciona al microbioma y su potencial metabólico con diversos estados patológicos, de manera que “se parte de la premisa de que una microbiota sana es necesaria para un estado saludable”. Actualmente, “se define como “microbioma sano” la complementariedad entre el metabolismo de cada sujeto y otras funciones metabólicas desempeñadas por el microbioma en una localización definida, pero que no se corresponde necesariamente con la presencia de los mismos microorganismos en diferentes personas”. Además, “este “microbioma sano” debe cumplir dos requisitos: la resistencia al estrés y perturbaciones, así como ser capaz de recuperar un estado óptimo de salud tras haber sufrido una alteración”.

Las interconexiones entre los diferentes microbiomas presentes en nuestro organismo es otro de los aspectos más importantes, ya que juegan un papel clave en el mantenimiento del equilibrio en todo el ecosistema microbiano. Conviene resaltar que estas relaciones pueden establecerse tanto en una localización concreta como en regiones anatómicas alejadas, lo cual es posible por la ausencia de barreras que impidan la migración de estos microorganismos de un lugar a otro, habiendo así mecanismos como la deglución, la respiración y cambios a nivel hormonal que fomentan estos fenómenos de translocación.

La mayoría de los estudios disponibles documentan las características del microbioma bacteriano (bacterioma), pero “existen estudios que evidencian las relaciones existentes entre éste y el microbioma vírico (viroma) por medio de profagos y bacteriófagos que modifican la funcionalidad bacteriana, así como el vínculo con el microbioma fúngico (micobioma o fungioma)”. El aspecto a tener en cuenta es que estas interconexiones pueden dar lugar a que “el desequilibrio sufrido en una región anatómica concreta pueda influir en todo el ecosistema microbiano”, con las repercusiones que esto acarrearía¹.

2.2. Proyecto Microbioma Humano

El Proyecto Microbioma Humano tiene sus inicios en 2008 bajo la organización del NIH (*National Institute of Health*, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos. Esta iniciativa asumió la misión de proporcionar fuentes de información, así como construir una infraestructura de investigación basada en la secuenciación de los genomas microbianos presentes en localizaciones específicas del cuerpo humano a fin de identificar y caracterizar las comunidades microbianas y establecer así correlaciones entre los cambios en el microbioma y el estado de salud del individuo^{1,4}.

Es precisamente la metagenómica, que surge de los avances en las tecnologías de secuenciación del ADN, la que permite avanzar en la investigación de los genomas derivados de comunidades microbianas extraídas de ambientes naturales sin necesidad de cultivo, lo que complementa la información obtenida a partir de estudios anteriores centrados en el estudio de especies individuales como unidades aisladas⁵.

Los datos referentes a este consorcio global han ido analizándose por el Centro de Coordinación y Análisis de Datos (DACC) y demuestran que determinadas comunidades microbianas están asociadas con estados patológicos o bien son indicativos de buen estado fisiológico. Todo ello sugiere que la caracterización detallada obtenida a través de los meta-análisis realizados propicia la información acerca de las interacciones entre las diferentes especies microbianas y entre el hospedador y los microbios, lo cual tiene implicaciones a nivel diagnóstico, terapéutico y preventivo⁶.

2.3. Implicación del Microbioma en la enfermedad

La coexistencia de las comunidades microbianas presentes en el cuerpo humano con las propias células de éste tiene cabida gracias al establecimiento de relaciones de carácter simbiótico y mutualista que permiten el mantenimiento del equilibrio del medio interno. Así, estas conexiones bidireccionales entre el hospedador y la microbiota dependen de la capacidad de las células del primero para mantener unos niveles apropiados de tolerancia inmunológica frente a la microbiota, lo cual supone un gran desafío dada la carga microbiana que se aloja en nuestro interior, aproximadamente de 10^{12} células/mL⁷.

De esta manera, la desregulación entre el microbioma y el sistema inmunitario puede desencadenar un proceso patológico, si bien los datos del Proyecto Microbioma Humano concluyen que estas enfermedades están más asociadas a pérdidas o ganancias de funciones del microbioma que a la relación con una comunidad microbiana característica.

“La relación del microbioma intestinal con el desarrollo de diferentes patologías ha sido la más investigada hasta la fecha, detectándose evidencias de su implicación en enfermedades tanto a nivel local (enfermedad inflamatoria intestinal, diarrea por *Clostridium difficile* o el cáncer colorrectal) como sistémico (enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 o la obesidad, alergias, asma e incluso patologías del sistema nervioso central). La producción de metabolitos tóxicos por parte de la microbiota, la respuesta inmunitaria exacerbada ante estímulos microbianos o los procesos inflamatorios mantenidos en el tiempo serían algunos

de los elementos clave en la aparición y desarrollo de estas enfermedades”¹. En concordancia con ello, es imperativo recalcar la existencia de factores de riesgo para estas enfermedades, bien por predisposición genética o bien de tipo exógeno como el tipo de alimentación o la exposición a antibióticos, que parecen tener implicación con los cambios sufridos por la microbiota.

La interconexión entre la microbiota intestinal y el sistema nervioso central tiene lugar mediante el denominado eje intestino-cerebro, “comunicación que se produce principalmente por medio del nervio vago y que está regulada por muchos intermediarios como el sistema inmunitario, la señalización hormonal intestinal, el metabolismo de aminoácidos y los propios metabolitos del microbioma. A través de la regulación de este eje, el microbioma parece jugar un papel trascendental en procesos como el desarrollo neuronal o patologías neurodegenerativas, de modo que las alteraciones del microbioma como consecuencia de circunstancias ambientales, infecciones, estrés o exposición a antibióticos podrían implicar trastornos neurodegenerativos como el Parkinson, el Alzheimer o la Esclerosis Múltiple, así como relacionados con el comportamiento del individuo, tales como la depresión, la esquizofrenia o el autismo”.

Adicionalmente, el microbioma parece estar implicado en patologías respiratorias como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística o la fibrosis pulmonar idiopática; dicha implicación se relaciona con una “pérdida de diversidad en la composición de la microbiota respiratoria”. Dado el impacto local y sistémico de los diferentes microbiomas por la producción y liberación de metabolitos, endotoxinas o mediadores inflamatorios, es posible que se produzcan efectos a distancia, siendo ejemplos de ello enfermedades de la cavidad oral como gingivitis y periodontitis, así como un incremento de riesgo cardiovascular y de partos prematuros.

“Las alteraciones del microbioma relacionadas con el envejecimiento parecen ser un factor importante en la aparición de patologías relacionadas con la edad, mientras que el mantenimiento de su funcionalidad es uno de los procesos determinantes en el aumento de la longevidad”¹.

Diversos estudios sostienen que “la microbiota puede contribuir al riesgo de procesos carcinogénicos, así como a las respuestas a los diferentes tratamientos oncológicos” a lo largo de la enfermedad, si bien es cierto que muchos aspectos sobre la relación entre el microbioma y el cáncer aún se desconocen y necesitan ser investigados. “Cuando en la microbiota comensal o beneficiosa se producen cambios cuantitativos o cualitativos que resultan perjudiciales para el estado de salud del individuo, bien por factores endógenos o bien exógenos, se llega a un estado denominado de disbiosis, potenciándose el estado inflamatorio y aumentando consecuentemente el desarrollo de enfermedades como el cáncer”.

Algunos de los “factores exógenos que contribuyen a este estado de disbiosis son la obesidad, el tabaco o el estrés”; asimismo, las dietas pobres en fibra y ricas en carnes se relacionan con una microbiota intestinal que carece de bacterias metabolizadoras de ácidos grasos de cadena corta, metabolitos procedentes de la fermentación de la fibra por parte de las bacterias y que son beneficiosos para la salud y en la prevención del cáncer. Entre las evidencias de la contribución de la microbiota en el desarrollo de cáncer pueden destacarse como ejemplos la de la bacteria *Helicobacter pylori*, que incrementa el riesgo de cáncer de estómago; otros ejemplos son el virus del papiloma humano en relación al cáncer de cérvix y el virus de la hepatitis C en el cáncer de hígado.

Por otro lado, “por medio de la secuenciación de ADN ribosomal en muestras de heces de pacientes diagnosticados de cáncer de colon y de personas sanas se ha demostrado una mayor presencia *Fusobacterium nucleatum* en los tejidos de cáncer colorrectal frente a tejidos

sanos, pudiéndose así utilizar como biomarcador de esta patología”; estas bacterias generan una disbiosis intestinal que trae como consecuencia inflamación y proliferación de células cancerosas. Sin embargo, “también existen bacterias que parecen tener capacidad para reducir el crecimiento tumoral, como es el caso del género *Bifidobacterium*, las cuales protegen del desarrollo de cáncer mediante la estimulación de la actividad inmunitaria de células T y macrófagos”. De esta manera, “el mecanismo más aceptado para describir la relación entre el microbioma y el cáncer es la inflamación como respuesta inmunitaria ante la presencia de bacterias que promueven el proceso carcinogénico”⁸.

3. OBJETIVOS

- Proporcionar una visión holística del concepto de microbioma, describiendo para ello las funciones que desempeña en el organismo, los factores que influyen en su composición, la evolución a lo largo de la vida del individuo y su papel en la salud y en la enfermedad.
- Analizar la actividad moduladora del microbioma en la inmunidad del cáncer, tanto en el microambiente tumoral como en el sistema inmunitario del paciente en las distintas fases del proceso carcinogénico.
- Describir la influencia del microbioma en la eficacia de distintos tratamientos oncológicos, discutiendo los mecanismos implicados en esta actividad.

Palabras clave: *microbiome, immunosurveillance, immunoediting, cancer, anti-cancer treatment, microbiome modulation.*

4. METODOLOGÍA

Este trabajo se ha elaborado llevando a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos procedentes de diversas fuentes y bases de datos, como son PubMed (NCBI), SciELO, MedlinePlus (NIH) y publicaciones literarias de gran impacto. Los criterios de inclusión de dichas referencias han sido el año de publicación y el contenido de los mismos, así como el idioma (inglés y castellano). La búsqueda se ha realizado mediante las palabras clave anteriormente mencionadas.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Microbioma como modulador en la inmunidad del cancer

Los avances en la investigación sobre la relación entre el sistema inmunitario y el microbioma de un individuo muestran que este último posee una capacidad moduladora del primero y, por tanto, tiene una estrecha vinculación con el papel que el sistema inmunitario desarrolla en todas las fases del proceso carcinogénico, así como en la eficacia de sus tratamientos⁹.

“La respuesta inmunitaria tiene la capacidad de destruir específicamente células tumorales sin dañar el tejido sano del organismo, así como de crear una memoria de la inmunidad a largo plazo capaz de prevenir recurrencias”¹⁰. Aunque el sistema inmunitario puede detectar y eliminar células tumorales, también puede promover un microambiente favorable para el desarrollo tumoral basado en unas condiciones de inflamación crónica que, ligadas a la capacidad del tumor para evadir la respuesta inmunitaria, constituyen factores condicionantes para la oncogénesis¹¹.

Para describir la capacidad del sistema inmunitario de controlar la inmunogenicidad de tumores se acuñó el concepto de inmunoedición, que hace referencia a un proceso dinámico constituido por tres fases: eliminación, equilibrio y escape. En primer lugar, “en la fase de

eliminación el sistema inmunitario innato y adaptativo trabajan en conjunto para erradicar el crecimiento de tumores de forma exitosa”¹². En dicha fase, diferentes epítomos expresados por las células tumorales son reconocidos por el sistema de inmunidad y van a inducir una respuesta por la que dichas células tumorales sean eliminadas por acción de las células T^{13,14}. El microbioma podría modificar esta actividad tumoricida realizada por las células T, como sugiere el que con la administración de antibióticos se redujo la eficacia de la terapia de transferencia adoptiva de linfocitos T en varios modelos de cáncer desarrollados en ratones^{15,16}. En esta fase de eliminación temprana de tumores se ejecutan distintos mecanismos activados por señales de peligro liberadas por las células transformadas o tumorales, que pueden alertar y activar el sistema inmunitario; sin embargo, ante la ausencia de estas señales de peligro, las células transformadas pueden pasar desapercibidas para el sistema inmunitario, sobreviviendo así a esta primera fase de eliminación y entrar en la segunda fase, denominada de equilibrio.

A medida que los tumores crecen, implementan mecanismos angiogénicos a la vez que crean un microambiente de inflamación en la localización del tumor, caracterizado por la acumulación de células supresoras de origen mieloide¹⁷⁻¹⁹. Se ha propuesto que la potencia tumoricida de estas células supresoras de origen mieloide puede depender de señales que proceden del microbioma²⁰. “La etapa de equilibrio depende únicamente del sistema inmunitario adaptativo, a diferencia de las fases de eliminación y escape, en las cuales intervienen tanto el sistema innato como el adaptativo. Por medio de la presión de selección inmunitaria, durante la fase de equilibrio ocurre la eliminación continua de células tumorales acompañada de una persistente emergencia de variantes celulares resistentes”¹². “Las células tumorales entran en la fase de escape tras haber fallado la mayoría de los mecanismos de supresión tumoral intrínsecos y extrínsecos”, siendo así irreconocibles para la vigilancia ejercida por el sistema inmunitario por medio de la acumulación de modificaciones epigenéticas o procesos mutagénicos de las células tumorales¹³. El escape de las células tumorales puede producirse a nivel de una sola célula y/o a nivel del microambiente tumoral. “La reducción de la inmunogenicidad de estas células, que puede ser causada por la pérdida de la proteína de clase I del complejo principal de histocompatibilidad, dificulta su reconocimiento por el sistema inmunitario”^{12,21}.

Además, “las células tumorales pueden adquirir una resistencia frente a las funciones citotóxicas de las células de defensa inmunitaria mediante la expresión de moléculas antiapoptóticas”^{12,22}. El escape de las células tumorales también puede producirse como resultado de una compleja red de inmunosupresión en el microambiente tumoral que tiene lugar por la producción de diversos factores por parte de las células tumorales y las células de inmunidad; entre estos componentes se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento transformante (TGF), IL-10, PGE2, fosfatidilserinas solubles, Fas soluble o indoleamina 2,3-dioxigenasa^{12,23,24}. Adicionalmente, las células tumorales pueden inducir el reclutamiento de células inmunitarias capaces de inhibir la respuesta antitumoral como las células T reguladoras o las células supresoras de origen mieloide; en esta fase, el microbioma podría modular la inducción de las células T reguladoras²⁵ y la actividad de las células supresoras de origen mieloide²⁰.

5.2. El microbioma tumoral

La presencia de microorganismos en tejidos tumorales puede estar directamente relacionada con procesos tumorigénicos, tal y como se ha descrito para *Helicobacter pylori* en cáncer de estómago²⁶, aunque puede tratarse de una infección concomitante a dicha patología. El desarrollo del tumor cursa con el proceso conocido como angiogénesis, mediante el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a expensas de un lecho vascular

preexistente, a fin de aportar sangre a la masa tumoral. Esta red de vasos se caracteriza por tener una organización irregular, siendo permeables y porosos. Ello permite a las bacterias entrar a formar parte del microambiente tumoral. A consecuencia de la organización irregular de los vasos sanguíneos formados, no se produce un suministro adecuado de sangre al tejido canceroso²⁷, lo que va a afectar al tratamiento quimioterápico antioncológico, influenciando la farmacocinética del mismo, con reducción de la respuesta a la terapia²⁸. La situación de hipoxia en la zona tumoral, que se da en paralelo a una alta demanda de oxígeno por parte de las células tumorales en proliferación, da lugar a procesos necróticos en la localización del tumor²⁹. Estas condiciones, junto con la situación de inmunosupresión del microambiente tumoral, pueden favorecer la multiplicación bacteriana en este nicho tumoral³⁰.

Debe considerarse que la colonización del tumor por microorganismos puede tener su etiología en un proceso infeccioso coincidente o bien producirse como resultado de una translocación de bacterias entéricas viables desde la luz intestinal a través de la barrera mucosa intestinal, lo que tiene como origen el fallo de dicha barrera epitelial ante el curso de diversos procesos patológicos³¹.

Las interacciones entre el microbioma del tumor y la inmunidad local frente al mismo pueden ejemplificarse en *Fusobacterium nucleatum*, especie bacteriana que es comensal de la microbiota oral y que está vinculada a patologías como el adenocarcinoma de colon, constituyendo un biomarcador de la enfermedad¹. Dicha bacteria inhibe la actividad citotóxica de las células NK y la actividad de los linfocitos T, y por tanto su capacidad para matar a las células tumorales³².

5.3. Relación entre microbioma y la eficacia de la terapia oncológica

5.3.1. Agentes basados en Platino

La actividad de estos compuestos antitumorales se basa en la inhibición de la síntesis de ADN produciendo enlaces cruzados dentro y entre las cadenas de este, por lo que se comporta como un agente alquilante; la síntesis de ARN y proteínas se inhibe en menor grado. Con ello, tiene lugar el efecto citotóxico que da como resultado la entrada en apoptosis de las células tumorales. Uno de estos agentes, el Oxaliplatino, puede causar la muerte de células tumorales en cáncer de colon y tras la exposición a este compuesto las células expresan señales inmunogénicas en su superficie antes de entrar en apoptosis; dichas señales desencadenan la producción de interferón γ por las células T e interaccionan con el receptor TLR4 (*Toll-Like Receptor 4*, por sus siglas en inglés) de las células dendríticas, lo que da como resultado cierta inmunogenicidad frente al tumor³³.

Iida N et al ²⁰ investigaron la posibilidad de que el microbioma comensal del organismo pudiera modular los efectos de los compuestos antineoplásicos basados en Platino, observando que un primer grupo de ratones portadores de tumores en tratamiento con Oxaliplatino experimentaban una regresión del tumor y se incrementaba la tasa de supervivencia; por otro lado, otro grupo de ratones a los que se les había administrado antibióticos o que estaban libres de microorganismos mostraron una peor supervivencia y la regresión tumoral era inferior a la esperada. Los efectos del Oxaliplatino en la progresión tumoral fueron provocados por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) a cargo de las células supresoras de origen mieloide presentes en el tumor, dañando así el ADN de dichas células tumorales y, por tanto, produciendo la regresión tumoral mencionada. La generación de las especies reactivas de oxígeno por las células supresoras de origen mieloide presentes en el tumor es dependiente de la expresión del gen *Cybb*, que codifica para una de las cadenas proteicas que forman el heterodímero que

constituye la enzima NADPH oxidasa 2 (NOX2), responsable de la generación de las especies reactivas de oxígeno.

En consecuencia, la producción de ROS no tuvo lugar en aquellos ratones que no expresaban el mencionado gen. Curiosamente, la producción de ROS también resultó disminuida o ausente en aquellos ratones a los que se les había administrado antibióticos, aunque la producción de ROS podía restaurarse si se administraba lipopolisacárido bacteriano (LPS, por sus siglas en inglés). La ausencia de los componentes de la vía del TLR (Tlr4^{-/-} y Myd88^{-/-}) en ratones daba lugar a una falta de respuesta al tratamiento con Oxaliplatino, indicando así que compuestos agonistas del receptor TLR presentes en el microbioma comensal del organismo podrían fomentar la generación de ROS por las células inmunitarias del microambiente tumoral, conduciendo a la muerte de las células tumorales.

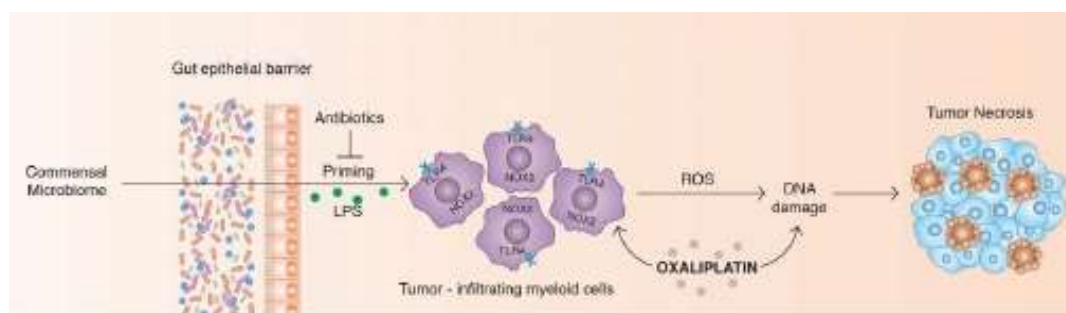


Figura 1. El microbioma intestinal potencia la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) por las células supresoras de origen mieloide presentes en el tumor vía TLR4 en el tratamiento con Oxaliplatino, conduciendo a la regresión tumoral. El tratamiento con antibióticos de amplio espectro disminuye la respuesta a la inmunoterapia^{9, 20}.

Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

5.3.2. Agentes alquilantes del ADN

Uno de los compuestos quimioterápicos más usados en el tratamiento de linfomas y tumores sólidos es la Ciclofosfamida (CTX), un agente alquilante que también induce efectos inmunomoduladores y causa la muerte de las células tumorales por acción inmunogénica³⁴. Este antineoplásico actúa en el microambiente de inmunosupresión que se produce en la localización tumoral induciendo a dosis bajas una reducción en el número de las células T reguladoras³⁵, responsables de una mayor tolerancia tumoral; por otra parte, también incrementa el número de linfocitos Th1 y Th17, lo que favorece la regresión tumoral³⁶.

Viaud et al³⁷ investigaron la actuación potencial del microbioma comensal como partícipe en la respuesta inmunitaria provocada por la Ciclofosfamida. Un grupo de ratones a los que se les administró Ciclofosfamida adquirieron un daño en el epitelio intestinal, similar a la mucositis desarrollada en pacientes tratados con este compuesto u otros agentes alquilantes. La situación de disbiosis generada por la ruptura del equilibrio en el ecosistema microbiano del intestino delgado en los siete días siguientes a la administración de la Ciclofosfamida va ligada a la translocación de bacterias comensales Gram positivas como *Lactobacillus johnsonii* y *Enterococcus hirae* al bazo y nódulos linfoides mesentéricos. En el bazo, la Ciclofosfamida induce la transformación de células T CD4+ en células Th17, lo que favorece la regresión tumoral.

Por otro lado, otro grupo de ratones portadores de tumores a los que se les había administrado antibióticos o que estaban libres de microorganismos, en el tratamiento con Ciclofosfamida experimentaron una reducción en la conversión de células T CD4+ en células Th17 previamente mencionada, que es inducida por la Ciclofosfamida; simultáneamente, se produjo un empeoramiento en la regresión tumoral. La suplementación oral con *Lactobacillus johnsonii* y *Enterococcus hirae* en estos ratones potenció la conversión celular que se ha descrito y, curiosamente, la transferencia adoptiva de células Th17 a este segundo grupo de ratones restableció la eficacia antitumoral de la Ciclofosfamida.

En otra investigación desarrollada por Daillère et al³⁸ se mostró que ratones con sarcoma a los que se les administraban antibióticos de amplio espectro de forma paralela a la terapia antineoplásica con Ciclofosfamida, la eficacia del tratamiento de esta última se veía mermada por la disbiosis intestinal causada por los antibióticos. Sin embargo, con la administración oral de *Enterococcus hirae* se conseguía recuperar la eficacia del tratamiento con Ciclofosfamida al inducir la diferenciación de las células Th17, así como la actividad de las células Th1 y de los linfocitos CD8+ citotóxicos (CTL, del inglés *Cytolytic T Lymphocyte*). La implicación potencial en las vías de señalización de las proteínas Nod1 y Nod2, que son receptores de reconocimiento de patrones (PRRs, por sus siglas en inglés) citoplásmicos, fue propuesta en relación a que la ausencia de los mismos en ratones mostraban un aumento en el fenómeno de translocación bacteriana hacia órganos linfoides secundarios, incrementando con ello la eficacia del tratamiento con Ciclofosfamida³⁸.

El análisis del microbioma de la mucosa del intestino delgado y de las heces mostró que los ratones que carecían de las vías de señalización Nod1 y Nod2 al no expresar estos receptores y que habían sido tratados con Ciclofosfamida, experimentaban una disbiosis caracterizada por una superpoblación de especies de la familia *Porphyromonadaceae*, concretamente de especies del género *Barnesiella* (*B. intestinihominis*) en el intestino grueso, a la vez que también estaban aumentadas las poblaciones de *Enterococcus hirae* en el intestino delgado, revelando la capacidad inmunomoduladora al aumentar la eficacia del tratamiento con Ciclofosfamida. Cuando este antitumoral se administraba a ratones que no habían recibido tratamiento antibiótico se apreciaba un incremento en la eficacia de la Ciclofosfamida y en la inmunomodulación tanto a nivel sistémico como tumoral, incluso en la inducción de células T CD8+ en el microambiente tumoral. Curiosamente, en la localización del tumor la especie *Enterococcus hirae* disminuía la relación células T reguladoras / linfocitos CD8+ citotóxicos (CTL), lo que favorece la regresión tumoral; asimismo, la especie *Barnesiella intestinihominis* motivaba un incremento en la producción de interferón γ por las células T $\gamma\delta$ infiltradas en el tumor.

La ablación de las células del epitelio intestinal que expresaban Nod2 se asoció con un aumento en la translocación de *Enterococcus hirae* a órganos linfoides secundarios. Los ratones con tumores que expresaban Nod1 pero no presentaban Nod2 mostraron un incremento en la eficacia del tratamiento con Ciclofosfamida traducido en una reducción en el crecimiento tumoral, correlacionado con una disminución en la cantidad de células T reguladoras infiltradas en el tumor a la vez que aumentaba el número de células T $\gamma\delta$ productoras de interferón γ . De igual manera, aquellos ratones del tipo silvestre con tumores a los que se les administró *Enterococcus hirae* y *Barnesiella intestinihominis* experimentaron una reducción en la relación células T reguladoras / linfocitos CD8+ citotóxicos (CTL) en el microambiente tumoral, lo que favorece la regresión tumoral, acompañada de un aumento del número de células T $\gamma\delta$ productoras de interferón γ .

Por tanto, de este estudio se extrae la conclusión de que es altamente probable que en el contexto del tratamiento antineoplásico con Ciclofosfamida la expresión de Nod2 limite la translocación de bacterias comensales con capacidad inmunomoduladora que, por un lado, protegen de la muerte de las células del epitelio intestinal inducidas por microbios y, por otro, limitan la eficacia de las respuestas al tratamiento con Ciclofosfamida³⁸.

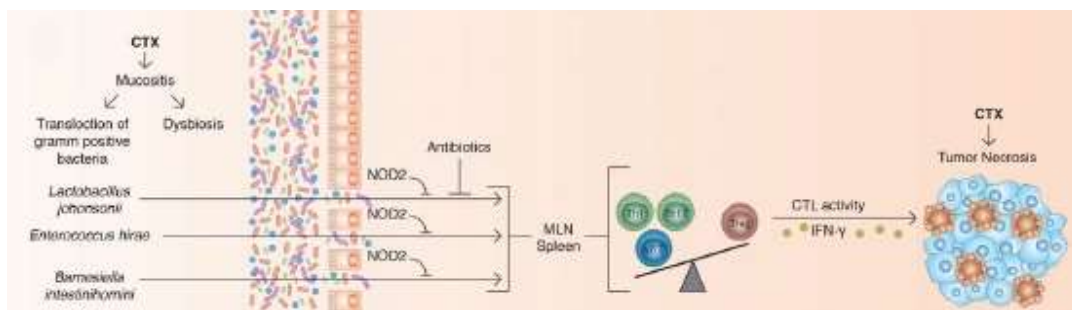


Figura 2. La Ciclofosfamida daña el epitelio intestinal, afectando a su función de barrera, permitiendo la translocación bacteriana al torrente sanguíneo. La translocación de ciertas bacterias Gram positivas al bazo y nódulos linfoides mesentéricos incrementa la relación células Th1 y Th17 / células T reguladoras, lo que favorece la regresión tumoral^{9, 37, 38}.

Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

5.3.3. Inhibidores de puntos de control inmunitario

La terapia a la que nos referimos en este apartado se basa en el empleo de anticuerpos que bloquean receptores que están implicados en vías de señalización inhibitorias del sistema inmunitario, actuando como reguladores negativos de la activación de las células T³⁹. De esta manera, la aplicación de estos compuestos da lugar a la activación específica de células T que actuarán para hacer frente al tumor, previo reconocimiento de las células tumorales. Diferentes trabajos^{40,41} ilustran la implicación potencial del microbioma intestinal en la eficacia de estos tratamientos contra los receptores CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*, por sus siglas en inglés) y PD-1 (*Programmed cell Death protein 1*, por sus siglas en inglés).

Sivan et al⁴¹ desarrollaron una investigación en la que inyectaron células de melanoma en ratones genéticamente idénticos procedentes de dos instalaciones diferentes que portaban configuraciones distintas del microbioma intestinal, demostrándose que la tasa de crecimiento tumoral y la infiltración de células T CD8+ en el tumor están influenciadas por el microbioma intestinal. Del mismo modo, la eficacia del tratamiento con anticuerpos anti PD-1 en los ratones portadores de tumores de ambas instalaciones se manifestó con una reducción del tumor y un aumento de las células T CD8+ en el mismo. Además, diferentes especies del género *Bifidobacterium* se asociaron con mejores respuestas al tratamiento oncológico. El trasplante de microbioma fecal de los ratones de la primera instalación que estaban mostrando mejores resultados a la terapia anti PD-1 a otros ratones con resultados menos favorables señaló que el número de especies del género *Bifidobacterium* aumentó hasta 400 veces su cantidad, mientras que el trasplante de una mezcla de especies de *Bifidobacterium* al grupo de ratones con una peor respuesta al tratamiento dio lugar a una reducción del crecimiento del tumor simultáneo al aumento en la abundancia de células T CD8+. El mecanismo planteado consiste en que las señales derivadas por las bacterias del género

Bifidobacterium podrían mejorar la activación de las células dendríticas, contribuyendo así a una mejor respuesta por parte de las células T CD8⁺ que actúan contra las células tumorales.

Vetizou et al ⁴⁰ compararon la eficacia del tratamiento con anticuerpos anti CTLA-4 en tres grupos de ratones que han desarrollado sarcoma: el primer grupo no albergaba ningún microorganismo en su composición, el segundo albergaba la microbiota propia de la especie pero habiendo sido tratado con antibióticos y el tercer grupo de ratones estaba libre de determinadas especies de patógenos que les afectan. Así, mientras que el tratamiento con anticuerpos anti CTLA-4 en los ratones libres de patógenos mostró una reducción tumoral, no lo hizo así con el grupo de ratones sometidos a tratamiento antibiótico, dejando ver la influencia del microbioma en la modulación de la eficacia del tratamiento. La administración de anticuerpos anti CTLA-4 provocó una desregulación en la estructura del microbioma intestinal, dando lugar a una disminución de la cantidad de bacterias de los órdenes *Bacteroidales* y *Burkholderiales* y a un aumento en el número de bacterias del orden *Clostridiales* en el intestino grueso, en paralelo a una expansión de las bacterias del género *Bacteroides* en el intestino delgado. Cuando tanto a los ratones que habían sido tratados con antibióticos como aquellos libres de microorganismos se les administraron por vía oral bacterias de las especies *Bacteroides fragilis* y *Burkholderia cepacia* antes del tratamiento con anticuerpos, experimentaron una inducción de la respuesta de las células Th1 en los nódulos linfoides que drenan el tumor y una maduración de las células dendríticas en el microambiente tumoral, lo que se tradujo en una regresión tumoral. Se caracterizó el microbioma intestinal de pacientes con melanoma metastásico que estaban recibiendo tratamiento con anticuerpos anti CTLA-4 y se identificó una gran proporción de bacterias del género *Bacteroides* en su composición, lo que se seguía produciendo a medida que el tratamiento continuaba; el trasplante de microbioma fecal de estos pacientes a ratones libres de microorganismos portadores del tumor y que estaban bajo tratamiento con anticuerpos anti CTLA-4 produjo una regresión significativa del tumor.

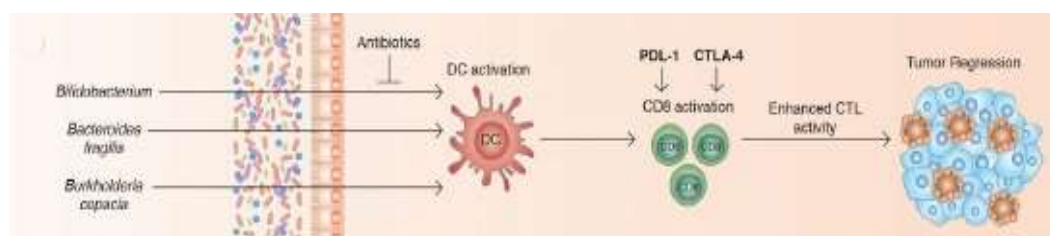


Figura 3. La eficacia del tratamiento oncológico con anticuerpos anti PD-1 y anti CTLA-4 es modulada por determinadas especies del microbioma comensal del organismo, influyendo en la maduración de las células dendríticas y potenciando así la actividad del sistema inmunitario frente al tumor ^{9, 40, 41}.

Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

5.4. Inmunomodulación de la respuesta innata frente al cáncer

Las islas CpG, que son regiones del ADN en que existe una gran concentración de pares de citosina y guanina enlazados por grupos fosfato, presentes en el ADN bacteriano son reconocidas por los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), lo que provoca una estimulación del sistema inmunitario⁴². Oligodeoxinucleótidos sintéticos que poseen dinucleótidos citosina-guanina desmetilados (CpG ODNs, por sus siglas en inglés) ejercen una estimulación de la respuesta innata del sistema inmunitario⁴³.

Iida et al ²⁰ investigaron los factores que afectan a la eficacia del tratamiento con estos compuestos (CpG ODNs) en ratones que padecían tres líneas tumorales. Aquellos ratones tratados con antibióticos o libres de gérmenes experimentaron una pobre respuesta a la inmunoterapia, lo que se debió a una baja producción de interferón γ y por parte de las células NK y de las células T, así como una disminución en la síntesis de IL-12 y TNF- α por las células mieloides del microambiente tumoral. Curiosamente, la correlación entre la composición del microbioma intestinal y la producción de TNF mostró que determinadas especies bacterianas, como *Alistipes shahii*, son influyentes en la maduración de las células mieloides para que contribuyan a una mejora en la eficacia de la inmunoterapia. Al contrario, se vio que diferentes especies del género *Lactobacillus* (p. ej. *L. fermentum*) empobrecían la respuesta a la inmunoterapia. Además, la administración por sonda de lipopolisacárido bacteriano restableció los niveles de TNF- α y la necrosis del tumor en el grupo de ratones que habían sido tratados con antibióticos²⁰.

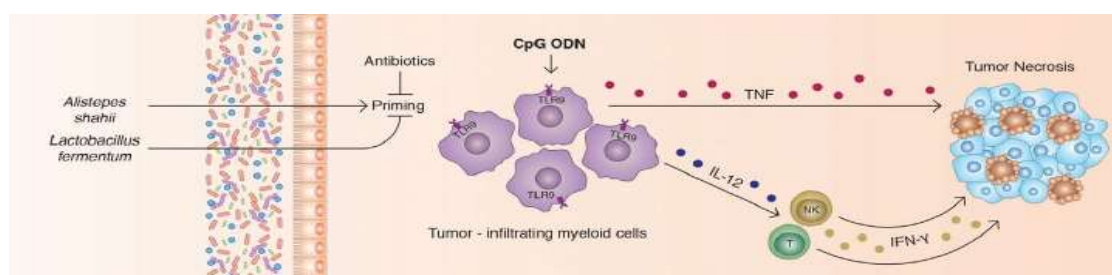


Figura 4. *Alistipes shahii* favorece el proceso de cebado de las células mieloides presentes en el tumor, potenciando la producción de IL-12 y TNF en el tratamiento con CpG ODNs y, por ende, la regresión tumoral. Inversamente, *Lactobacillus fermentum* empeora la respuesta a la inmunoterapia ^{9, 20}.

Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

5.5. Terapia celular adoptiva

Las células tumorales expresan antígenos proteicos que despiertan una respuesta por parte del sistema inmunitario. Estas moléculas pueden clasificarse en dos grupos atendiendo al tipo de células en que aparecen: por un lado, se denominan antígenos asociados a tumores (TAAs, del inglés *Tumor-Associated Antigens*) a aquellos que, pese a que pueden encontrarse en tejidos sanos, suelen aparecer de forma predominante en las células tumorales; por otro lado, se denominan antígenos tumorales específicos (TSAs, del inglés *Tumor-Specific Antigens*) a aquellos que se expresan exclusivamente en células tumorales, por lo que tienen valor diagnóstico en algunos tipos de cáncer⁴⁴.

El hallazgo de estos antígenos ha motivado el desarrollo de la terapia celular adoptiva, en la cual se plantean diferentes estrategias. Una de ellas consiste en la extracción de linfocitos infiltrantes tumorales (TILs, del inglés *Tumor-Infiltrating Lymphocytes*) que han pasado de la sangre al tumor para atacar el cáncer, en el laboratorio se cultivan en grandes cantidades y se activan por tratamiento con citocinas para ayudarlos a destruir mejor las células cancerosas y finalmente se reinfunden en el paciente una gran cantidad de estos linfocitos activados. Otra terapia biológica para el tratamiento del cáncer reside en la utilización de las células CAR-T, que implica la extracción de los linfocitos del paciente para ser modificados genéticamente en el laboratorio con el fin de que expresen una proteína denominada CAR (*Chimeric Antigen Receptor*, por sus siglas en inglés), receptor que permite a las células T adherirse a los

antígenos específicos presentes en la superficie de las células tumorales y atacarlas de manera más eficaz; posteriormente, estas células se cultivan y se infunden en el paciente. Antes de recibir la terapia con células CAR-T, los pacientes son sometidos a un procedimiento linfodepletivo denominado agotamiento linfático en que reciben quimioterapia e irradiación corporal total (TBI, del inglés *Total Body Irradiation*) a fin de eliminar otras células del sistema inmunitario susceptibles de disminuir la eficacia de las células CAR-T que se perfunden a posteriori⁴⁵.

Algunas de las respuestas positivas que se consiguen en el contexto del tratamiento del cáncer con la terapia celular adoptiva pueden estar mediadas por la translocación de microbioma intestinal a consecuencia del daño ocasionado en el epitelio intestinal por la quimio y radioterapia que se administran como terapia coadyuvante y, por tanto, afectan negativamente a la función barrera de dicho tejido. En efecto, la administración de antibióticos de amplio espectro disminuye los niveles plasmáticos de lipopolisacárido bacteriano, así como los beneficios de la linfodepleción previa a la perfusión intravenosa de las células CAR-T en varios modelos de cáncer estudiados en ratones^{15,16}. De forma inversa, la administración de lipopolisacárido bacteriano a ratones que habían sido sometidos a radioterapia potenció el efecto ejercido por las células CAR-T administradas, contribuyendo así a la curación a largo plazo de la patología¹⁵. La translocación microbiana aumenta la actividad antitumoral de las células T transfundidas a ratones que previamente habían sido sometidos a radioterapia, estando implicada en ello la vía de señalización del TLR4¹⁶. Asimismo, la translocación bacteriana promueve la maduración de células dendríticas a causa de un incremento en la expresión de proteínas coestimuladoras que son necesarias para la activación y supervivencia de las células T como CD80, CD86, CD70 y moléculas de clase II⁴⁶⁻⁴⁹ del complejo principal de histocompatibilidad, lo que aumenta la funcionalidad de las células T transfundidas. Además, la translocación bacteriana activa la respuesta innata del sistema inmunitario e incrementa los niveles de citocinas proinflamatorias en ratones sometidos a radioterapia^{16, 46, 50, 51}.

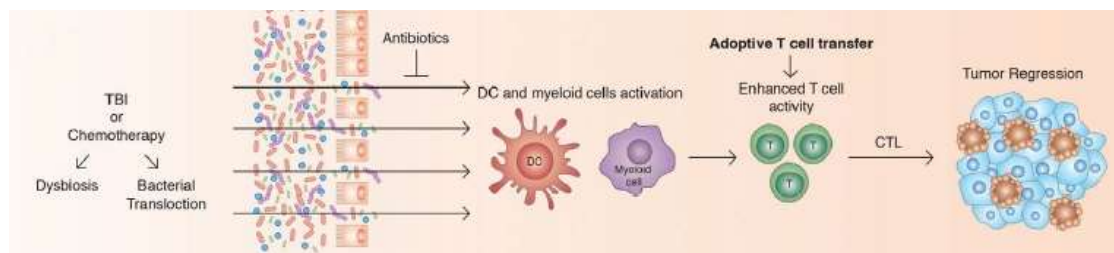


Figura 5. El tratamiento con radio y quimioterapia linfodepletivas previo a la administración de las células T daña el epitelio intestinal, favoreciendo la translocación bacteriana al torrente sanguíneo. Ello contribuye a la activación de las células dendríticas y otras células mieloides, dando lugar a una potenciación de la actividad de las células T infundidas^{9, 15, 16}.

Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

5.6. Metabolismo de fármacos por el microbioma

La estabilidad y farmacocinética de algunos principios activos puede verse comprometida a causa del metabolismo ejercido por el microbioma⁵². Un ejemplo de ello acontece en pacientes oncológicos que reciben simultáneamente el agente quimioterápico 5-fluorouracilo (5-FU) y el antiviral sorivudina; una vez administrado, este último es metabolizado por el microbioma, transformándose en la molécula (E)-5-(2-bromovinil) uracilo, la cual inhibe la metabolización endógena del 5-FU, ocasionando un aumento de sus niveles plasmáticos y, por tanto, episodios de toxicidad⁵³.

5.7. Posibilidades de empleo de bacterias como parte del tratamiento antitumoral

La participación de bacterias en la respuesta antitumoral implica el desarrollo de un conjunto de acciones en la localización del tumor. Entre ellas se encuentran su actuación como vectores para la liberación de sustancias tumorocidas, contribuir a la producción de citocinas en el tejido tumoral y estimular el sistema inmunitario del individuo (Fig. 6). Dicha estimulación es mediada por patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como el lipopolisacárido, la flagelina o el peptidoglicano presentes en las bacterias, que son reconocidos por sus receptores específicos (PRRs)^{9,54}. Una de las causas que justifican la falta de eficacia de las terapias convencionales contra el cáncer, especialmente en tumores sólidos, es la situación de hipoxia existente en el microambiente tumoral, la cual dificulta las intervenciones por quimioterapia. No obstante, esta limitación puede ser aprovechada mediante el empleo de bacterias anaerobias obligadas o facultativas que puedan colonizar dichas regiones tumorales; entre ellas, se han planteado distintas especies de los géneros *Clostridium*, *Salmonella*, *Bifidobacterium* y *Escherichia*.

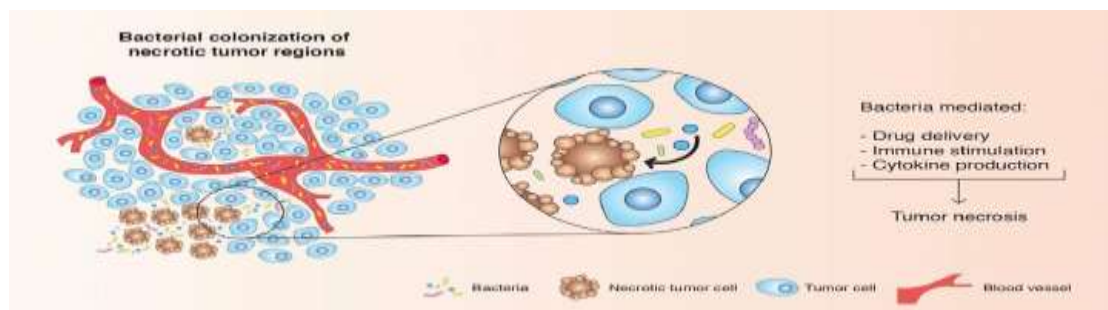


Figura 6. Acciones mediadas por bacterias en su uso para la terapia oncológica^{9, 56-58}. Adaptado de: Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.

El género *Salmonella* es uno de los más estudiados en relación a esta aplicación terapéutica de las bacterias, el cual tiene capacidad para crecer en condiciones tanto aerobias como anaerobias. Una cepa derivada de *S. typhimurium* (*S. typhimurium* A1-R) que presenta la supresión de dos de sus genes (*msbB* y *purl*) a fin de obtener una total atenuación para impedir un shock tóxico, dependiente de fuentes externas de purina y otras mutaciones auxotróficas para leucina y arginina que impiden a la bacteria sobrevivir en tejidos normales, ha demostrado ser capaz de inhibir la metástasis de melanoma, dando lugar a una disminución significativa del número y tamaño de micrometástasis.

Dicha cepa fue administrada en ensayos murinos de forma intravenosa e intratumoral, siendo capaz de invadir y replicarse en el tejido tumoral, ocasionando la erradicación

completa del tumor veinte días después de la inoculación. Asimismo, en otros estudios dicha cepa mostró capacidad para erradicar otras metástasis inducidas en ratones en líneas de cáncer pancreático humano, fibrosarcoma humano y cáncer de próstata humano sin necesidad de complementar la terapia con otros agentes citotóxicos, además de no presentarse efectos adversos⁵⁵.

6. CONCLUSIONES

- Multitud de evidencias científicas muestran que las funciones desarrolladas por el microbioma en el organismo tienen un profundo impacto en nuestro estado de salud y en la respuesta que el sistema inmunitario puede ofrecer tanto a nivel local como sistémico a distintas situaciones patológicas, así como en el aumento o disminución de la eficacia de fármacos administrados para el tratamiento de la enfermedad.
- Las alteraciones del microbioma debidas a factores ambientales, exposición a antibióticos, procesos infecciosos o estrés, entre otros, pueden inducir efectos a corto, medio y largo plazo en la fisiología del individuo, lo que puede contribuir al desarrollo de gran variedad de trastornos.
- Las diferencias en la composición del microbioma de la población podrán ser empleadas en la implementación de estrategias de estratificación, investigación de biomarcadores de riesgo, diagnóstico y pronóstico de diversas patologías, así como en el diseño de programas terapéuticos personalizados que tengan como base la modulación del microbioma.
- El conocimiento de las funciones que desempeña el microbioma tumoral en la conformación del microambiente del tumor a nivel inmunitario, metabólico y farmacológico podrá aprovecharse para lograr una mejor respuesta a diferentes tratamientos oncológicos existentes y venideros, lo que representa un notable desafío.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Cantón R, Del Campo R, Mira A, Monsó E. Informe Anticipando Microbioma. Fundación Instituto Roche. 2018. Disponible en www.institutoroche.es
2. Baquero F, Nombela C. The microbiome as a human organ. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012; 18 (4): 2-4.
3. Nombela C. Microbiota y microbioma: ¿El último órgano del cuerpo humano?. *Revista profesional de formación continuada Aula de la Farmacia*. Abril de 2018; 14 (125): 20-25.
4. Blum HE. The human microbiome. *Advances in Medical Sciences*. 2017; 62 (2): 414-420.
5. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*. Jun 14, 2012; 486 (7402): 215-221.
6. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. Jun 14, 2012; 486 (7402): 207-214.
7. D’Hennezel E, Abubucker S, Murphy LO, Cullen TW. Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll-Like Receptor Signaling. *mSystems* [Internet]. Nov 2017; 2 (6): 1-12.

8. Molina E. Microbioma, microbiota y cáncer. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular Divulgación. Febrero de 2018.
9. Bashiardes S, Tuganbaev T, Federici S, Elinav E. The microbiome in anti-cancer therapy. *Seminars in Immunology*. 2017; 32 (8): 74-81.
10. Finn OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Annals of Oncology*. 2012; 23 (8): 6-9.
11. Berraondo P, Minute L, Ajona D, Corrales L, Melero I, Pio R. Innate immune mediators in cancer: between defense and resistance. *Immunological Reviews*. 2016; 274 (1): 290-306.
12. Chow MT, Möller A, Smyth MJ. Inflammation and immune surveillance in cancer. *Seminars in Cancer Biology*. 2012; 22 (1): 23-32.
13. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*. 2002; 3 (11): 991-998.
14. Vigneron N, Stroobant V, Van den Eynde BJ, Van der Bruggen P. Database of T cell-defined human tumor antigens: the 2013 update. *Cancer Immunology*. 2013; 13 (15).
15. Paulos CM, Kaiser A, Wrzesinski C et al. Toll-like receptors in tumor immunotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13 (18): 5280-5289.
16. Paulos CM, Wrzesinski C, Kaiser A et al. Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8+ T cells via TLR4 signaling. *Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117 (8): 2197-2204.
17. Girardi M, Oppenheim DE, Steele CR et al. Regulation of cutaneous malignancy by gammadelta T cells. *Science*. 2001; 294 (5542): 605-609.
18. Smyth MJ, Godfrey DI, Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy, *Nature Immunology*. 2001; 2 (4): 293-299.
19. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annual Review of Immunology*. 1994; 12: 991-1045.
20. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science*. 2013; 342 (6161): 967-970.
21. Browning MJ, Bodmer WF. MCH antigens and cancer: implications for T-cell surveillance. *Current Opinion in Immunology*. 1992; 4 (5): 613-618.
22. Reed JC. Mechanisms of apoptosis avoidance in cancer. *Current Opinion in Immunology*. 1999; 11: 68-75.
23. Hwang J et al. Las respuestas inmunológicas al cáncer. In: Méndez LJ, Tsokos GC, Escobar-Gutiérrez A, editors. *Inmunología IV: aplicaciones clínicas en salud y enfermedad*. Care Press. 2016. p. 861-891.
24. Ben-Baruch A. Inflammation-associated immune suppression in cancer: the roles played by cytokines, chemokines and additional mediators. *Seminars in Cancer Biology*. 2006; 16 (1): 38-52.
25. Park J, Kim M, Kang SG et al. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal Immunology - Nature*. 2015; 8 (1): 80-93.
26. Wroblewski LE, Peek RM, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010; 23 (4): 713-739.

27. Vaupel P, Mayer A, Höckel M. Tumor hypoxia and malignant progression. *Methods in Enzymology*. 2004; 381: 335–354.
28. Dang LH, Bettegowda C, Huso DL, Kinzler KW, Vogelstein B. Combination bacteriolytic therapy for the treatment of experimental tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98 (26): 15155–15160.
29. Wouters BG, Koritzinsky M, Chiu RK, Theys J, Buijsen J, Lambin P. Modulation of cell death in the tumor microenvironment. *Seminars in Radiation Oncology*. 2003; 13 (1): 31–41.
30. Baban CK, Cronin M, O’Hanlon D, O’Sullivan GC, Tangney M. Bacteria as vectors for gene therapy of cancer. *Bioengineered Bugs*. 2016; 1 (6): 385–394.
31. Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleve R, Zilberstein B, Ceconello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2007; 22 (4): 464–471.
32. Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B et al. Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity*. 2015; 42 (2): 344–355.
33. Alcindor T, Beauger N. Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. *Current Oncology*. 2011; 18 (1): 18–25.
34. Bracci L, Moschella F, Sestili P et al. Cyclophosphamide enhances the antitumor efficacy of adoptively transferred immune cells through the induction of cytokine expression, B-cell and T-cell homeostatic proliferation, and specific tumor infiltration. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13 (2 Pt 1): 644–653.
35. Ghiringhelli F, Larmonier N, Schmitt E et al. CD4+ CD25+ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *European Journal of Immunology*. 2004; 34 (2): 336–344.
36. Schiavoni G, Sistigu A, Valentini M et al. Cyclophosphamide synergizes with type I interferons through systemic dendritic cell reactivation and induction of immunogenic tumor apoptosis. *Cancer Research*. 2011; 71 (3): 768–778.
37. Viaud S, Saccheri F, Mignot G et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science*. 2013; 342 (6161): 971–976.
38. Daillère R, Vétizou M, Waldschmitt N et al. *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity*. 2016; 45 (4): 931–943.
39. Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ, Allison JP. Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Current Opinion in Immunology*. 2006; 18 (2): 206–213.
40. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*. 2015; 350 (6264): 1079–1084.
41. Sivan A, Corrales L, Hubert N et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 2015; 350 (6264): 1084–1089.
42. Krieg AM, Yi AK, Matson S et al. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature*. 1995; 374 (6522): 546–549.

43. Jahrsdörfer B, Weiner GJ. Immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotides and antibody therapy of cancer. *Seminars in Oncology*. 2003; 30 (4): 476–482.
44. Rosenberg SA. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. *Nature*. 2001; 411 (6835): 380–384.
45. Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EE.UU. Terapias biológicas para el cáncer. [Internet]. [Revisado el 26 de abril de 2018; Consultado el 01 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/>
46. Bowers JS, Nelson MH, Kundimi S et al. Dendritic cells in irradiated mice trigger the functional plasticity and antitumor activity of adoptively transferred Tc17 Cells via IL12 signaling. *Clinical Cancer Research*. 2015; 21 (11): 2546–2557.
47. Huang J, Wang QJ, Yang S et al. Irradiation enhances human T-cell function by upregulating CD70 expression on antigen-presenting cells in vitro. *Journal of Immunotherapy*. 2011; 34 (4): 327–335.
48. Torihata H, Ishikawa F, Okada Y et al. Irradiation up-regulates CD80 expression through two different mechanisms in spleen B cells B lymphoma cells, and dendritic cells. *Immunology*. 2004; 112 (2): 219–227.
49. Liu SZ, Jin SZ, Liu XD, Sun YM. Role of CD28/B7 costimulation and IL-12/IL-10 interaction in the radiation-induced immune changes. *BMC Immunology*. 2001; 2 (1): 1–8.
50. Shigematsu A, Adachi Y, Koike-Kiryama N et al. Effects of low-dose irradiation on enhancement of immunity by dendritic cells. *Journal of Radiation Research*. 2007; 48 (1): 51–55.
51. Awedan AA. High intensity regimens with autologous hematopoietic stem cell transplantation as treatment of multiple myeloma. *Annals of Transplantation*. 2002; 7 (2): 38–43.
52. Westman EL, Canova MJ, Radhi IJ et al. Bacterial inactivation of the anticancer drug doxorubicin. *Chemistry & Biology*. 2012; 19 (10): 1255–1264.
53. Okuda H, Ogura K, Kato A, Takubo H, Watabe T. A possible mechanism of eighteen patient deaths caused by interactions of sorivudine, a new antiviral drug, with oral 5-fluorouracil prodrugs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998; 287 (2): 791–799.
54. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009; 22 (2): 240–273.
55. Pineda-Castellanos ML, Núñez-Valdez ME. Use of bacteria and their products in cancer therapy. *GAMO*. 2011; 10 (6): 366-372.
56. Ryan RM, Green J, Williams PJ et al. Bacterial delivery of a novel cytolysin to hypoxic areas of solid tumors. *Gene Therapy*. 2009; 16 (3): 329–339.
57. Chen R, Braun GB, Luo X, Sugahara KN, Teesalu T, Ruoslahti E. Application of a proapoptotic peptide to intratumorally spreading cancer therapy. *Cancer Research*. 2013; 73 (4): 1352–1361.
58. Loeffler M, Le'Negrate G, Krajewska M, Reed JC. Salmonella typhimurium engineered to produce CCL21 inhibit tumor growth. *Cancer Immunology*. 2009; 58 (5): 769–775.