

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
FACULTAD DE MEDICINA
TRABAJO FIN DE GRADO EN MEDICINA



Inmunoterapia en el tratamiento del cáncer de colon.

AUTOR: Riquelme Salas, Juan Martín

TUTOR: Esther Caparrós Cayuela

Departamento y Área: Medicina Clínica, Inmunología

Curso académico 2024-2025

Convocatoria de Mayo

ÍNDICE

1. Resumen y Abstract.....	3
2. Introducción	5
3. Hipótesis	8
4. Objetivos.....	8
5. Material y métodos.....	9
6. Resultados y discusión	
6.1 Mecanismo de las células neoplásicas para alterar el sistema inmunitario.....	10
6.2 Cambios metabólicos producidos por la microbiota intestinal en la generación de CCR	12
6.3 Microorganismos de la microbiota intestinal relacionados con la aparición de CCR.....	13
6.4 Uso de PD-1 para el tratamiento del CCR.....	15
6.5 <i>Lactobacillus reuteri</i> como mediador de la inflamación.....	16
6.6 La inhibición de la enzima LDH puede aportar beneficios en el tratamiento del CCR.....	18
7. Conclusión	19
8. Bibliografía	20

1. RESUMEN

El cáncer de colon es una de las patologías que mayor mortalidad y morbilidad ocasiona a nivel mundial. El tratamiento ha ido mejorando y ofreciendo mayores resultados a medida que ha ido aumentando la investigación al respecto. Sin embargo, dado que sigue teniendo una alta prevalencia, es necesario buscar alternativas a la convencional cirugía junto con la quimioterapia.

La inmunoterapia por su parte es una alternativa de tratamiento que ya es muy utilizada en el área de la oncología, sobre todo en las neoplasias hematológicas. Dados los buenos resultados que ofrece, se establece la posibilidad de que también pueda ser útil en el tratamiento del cáncer colorrectal.

Por ello, en esta revisión bibliográfica se pretende reevaluar los principales mecanismos de escape tumoral por los que las células neoplásicas modifican el sistema inmunitario del huésped para poder sobrevivir, así como los principales avances en la inmunoterapia frente al cáncer colorrectal.

El colon alberga diferentes géneros de microorganismos con funciones simbiotes específicas. Estos microorganismos ayudan a mantener la homeostasis del tejido, alterándose su función en situaciones neoplásicas. Su papel en este sistema hace que sean dianas susceptibles de tratamiento antitumoral.

En cuanto al uso de la inmunoterapia, se establecen principalmente cuatro estrategias como son: el uso de los PD-1 y ligandos, la terapia CAR-T, el empleo de *Lactobacillus reuteri* como medio de transporte de moléculas de ARNm que puedan llegar a alterar el estado inmunosupresor propio de las neoplasias, o la inhibición de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH).

Estos métodos ofrecen resultados esperanzadores sobre el pronóstico de los pacientes con CCR, pero es necesario continuar con la investigación en este abordaje terapéutico.

1. ABSTRACT

Colon cancer is one of the diseases with the highest morbidity and mortality rates worldwide. Treatment has gradually improved and yielded better outcomes as research in this field has advanced. However, given its continued high prevalence, it is necessary to explore alternatives to conventional surgery combined with chemotherapy.

Immunotherapy, on the other hand, has emerged as a widely used treatment option in the field of oncology, particularly in hematological malignancies. Due to its promising results, it is now being considered as a potentially effective therapy for colorectal cancer as well.

This literature review aims to reassess the main tumor escape mechanisms by which neoplastic cells alter the host's immune system in order to survive, along with recent advances in immunotherapy for colorectal cancer.

The colon harbors various genera of microorganisms with specific symbiotic functions. These microorganisms help maintain tissue homeostasis, and their function is disrupted in neoplastic conditions. Their involvement in this system makes them potential targets for antitumor therapies.

Regarding immunotherapy, four main strategies are outlined: the use of PD-1 and its ligands, CAR-T cell therapy, *Lactobacillus reuteri* as a delivery vector for mRNA molecules capable of altering the immunosuppressive state characteristic of neoplasms, and the inhibition of the enzyme lactate dehydrogenase (LDH).

These approaches have shown encouraging results regarding the prognosis of CRC patients, but further research is necessary to continue advancing this therapeutic approach.

2. INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon se encuentra en los primeros puestos en cuanto a prevalencia entre la población (1). Además es uno de los que mayor mortalidad y morbilidad causa a nivel mundial. Es por ello que se hace imprescindible abordar nuevas estrategias de tratamiento que intenten aportar mejores resultados que las terapias disponibles hasta el momento.

El sistema inmunitario es el encargado, en condiciones normales, de reconocer cualquier célula anormal y eliminarla, evitando de esta manera su progresión y posterior división. Además nos protege de la infección por patógenos que potencialmente puedan causar diferentes enfermedades.

Se puede dividir en dos tipos, en función de la especificidad de su actividad (2):

- Sistema inmune innato: está compuesto por barreras físico/químicas, además de otros componentes celulares (como pueden ser PMN, macrófagos o linfocitos NK). También encontramos moléculas que median la inflamación como citoquinas o reactantes de fase aguda. Su función es el reconocimiento rápido del patógeno para poder iniciar una cascada inflamatoria que controle la infección. No confiere inmunidad a largo plazo.
- Sistema inmune adaptativo: compuesto principalmente por linfocitos B y T, los cuales presentan mayor especificidad en el reconocimiento de antígenos a través de diferentes receptores. Su función es controlar la infección o eliminar cualquier célula anormal pero de una manera mucho más específica. Aporta inmunidad a largo plazo.

Las células tumorales son células que han sufrido una serie de mutaciones que la han llevado a perder su función y a replicarse en sobremanera. Presentan diferentes mecanismos a través de los cuales pueden escapar de la regulación del sistema inmune, que junto a una posible deficiencia de este, hacen que la progresión de las células neoplásicas sea cada vez mayor y con mayor agresividad.

Uno de los mecanismos por los que las células tumorales pueden escapar de la regulación es la generación de un microambiente inmunosupresor, que impide al sistema inmune realizar su función, inhibiendo sobre todo los linfocitos T citotóxicos (CD8) y las células Natural Killer (NK). (3)

Por otra parte, la microbiota intestinal la forman miles de millones de microorganismos que de manera fisiológica habitan en nuestro organismo realizando diferentes funciones. De ellas dependen los procesos de digestión y absorción de nutrientes, homeostasis intestinal y regulación del sistema inmunológico. Puede haber situaciones que provoquen una alteración en esta microbiota, lo que se conoce como disbiosis, lo que pueden conducir a un estado promotor de diversas enfermedades. Entre ellas destacan el cáncer de colon como una de las que mayor repercusión puede llegar a tener en el individuo que se desarrolle.

Uno de los mecanismos por los que una alteración de la microbiota puede llegar a generar un cáncer de colon es a través de genotoxinas (4), las cuales son sintetizadas por las propias bacterias e

inducen un daño en el material genético de las células epiteliales colónicas. Las especies que principalmente se han relacionado con este mecanismo son *Escherichia coli* (mediante la colibactina, una genotoxina que debilita los enlaces en la doble cadena de ADN y genera enlaces cruzados entre ellas) o *Morganella morganii* (a través de la producción de indolaminas).

Otro de los mecanismos por los que la microbiota intestinal podría favorecer la transformación de las células colónicas en neoplásicas sería la alteración de la vía de señalización Wnt/ β catenina (relacionada con la diferenciación de las células colónicas), junto con la activación de NF κ B (vía proinflamatoria). Algunas de las bacterias que se han asociado con esta alteración son *Clostridium difficile* (por la generación de toxinas TcdA y TcdB, las cuales inducen la vía Wnt/ β catenina, de forma que la diferenciación celular queda alterada y fuera de control), *Fusobacterium nucleatum* (a través de diferentes moléculas de adhesión como podría ser FadA) o *Bacterioides fragilis* (a través de la producción de toxina de *Bacterioides fragilis* (también llamada BFT). Tiene la capacidad de inducir a Wnt/ β catenina y NF κ B, lo que acaba provocando un ambiente proinflamatorio en el epitelio de las células colónicas).

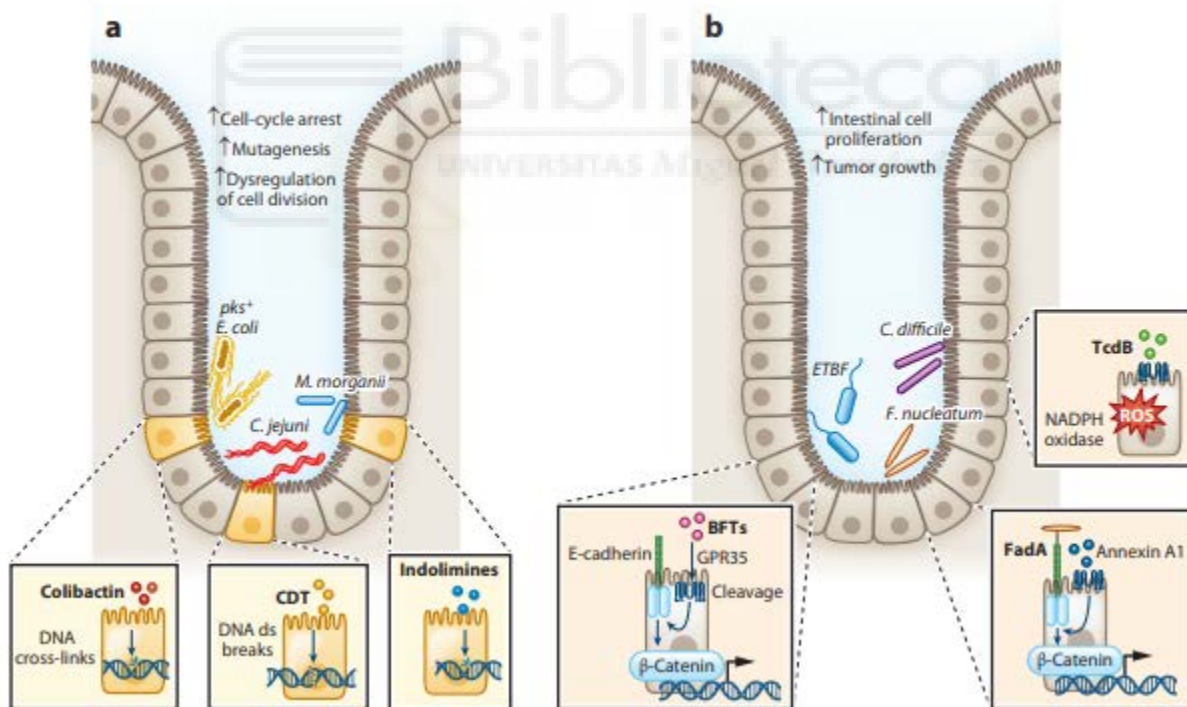


Figura 1. Mecanismo protumorigénico de las diferentes especies de microorganismos (4)

Por último la microbiota intestinal interactúa con el sistema inmunitario, de forma que se producen modificaciones en la acción del mismo. Estos cambios modifican el estado inflamatorio propio

del ambiente tumoral. Los linfocitos T CD8 son las células con actividad citotóxica más importante relacionadas con el control de la progresión de células tumorales en el CCR. La acción de las mismas es controlada por diferentes sustancias como la IL-8, la cual favorece a formación de IFN- γ y demás moléculas proinflamatorias.

Por su parte los linfocitos T CD4 presentan diferentes funciones dependiendo de subtipo del que hablemos. Los Th1 actúan de una manera similar a los T CD8, promoviendo el ambiente inflamatorio. En cambio los linfocitos T reguladores, gracias a la producción de sustancias como IL-10 o TGF- β , tienen un efecto inmunomodulador. Al contrario de lo que pasaba con los linfocitos T citotóxicos, la infiltración de estos en la masa tumoral es escasa. Los linfocitos Th17 presentan una doble acción en pacientes con CCR, ya que si bien es cierto que se relacionan con la inflamación y acciones protectoras, su acúmulo se relaciona con un peor pronóstico en estos pacientes. La microbiota intestinal es capaz de interactuar con estas células, modificando su función.

Bacterioides fragilis interviene tanto en la diferenciación de los linfocitos Th17 como en la de los T reguladores (5). Esta acción la lleva a cabo gracias al polisacárido A, producido por este mismo microorganismo. En cuanto a los linfocitos T reguladores, el polisacárido A permite que los linfocitos T CD4 sean transformados en estos. En el microambiente tumoral podrían tanto reducir el reconocimiento de las células neoplásicas por parte del sistema inmune (lo que favorecería su progresión), como inhibir el ambiente inflamatorio crónico necesario para el desarrollo tumoral.

La inmunoterapia se ha convertido en una estrategia de tratamiento emergente en los últimos años y que está abriendo líneas de investigación novedosas. Con respecto al tratamiento del cáncer, es cierto que todavía se sigue apostando por tratamientos convencionales en primera línea, como puede ser la cirugía o estrategias de quimio o radioterapia. Sin embargo, ante la imposibilidad de usar estas o ante fracaso de las mismas se está comenzando a promover esta inmunoterapia como una estrategia de control y reducción de la enfermedad. El cáncer de colon es buena muestra de ello a través de diferentes estrategia que se detallarán a continuación.

3. HIPÓTESIS

La inmunoterapia, a través de estrategias como el bloqueo de PD-1/PD-L1, la terapia CAR-T, o la modulación de la microbiota, representa una alternativa terapéutica prometedora para el tratamiento del cáncer colorrectal al modificar el microambiente tumoral y promover que se eviten mecanismos de escape inmunitario de las células neoplásicas, lo que podría traducirse en una mejora del pronóstico de los pacientes tras su utilización como tratamiento.

4. OBJETIVOS

- Analizar el papel del sistema inmunitario en el desarrollo del cáncer de colon.
- Evaluar qué papel juega la microbiota intestinal en el desarrollo del cáncer de colon.
- Revisar las evidencias actuales sobre dianas terapéuticas basadas en el sistema inmunitario en el tratamiento del cáncer de colon.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración de este Trabajo de Fin de Grado y con el objetivo de desarrollar los objetivos anteriormente expuestos, he realizado una búsqueda bibliográfica en la base de datos *Pubmed*. Para ello he establecido 3 grupos de búsqueda en función del objetivo que se tratara en ese momento. Se definen 3 bloques de búsqueda, utilizando uno para cada objetivo del trabajo. He utilizado filtros comunes para los 2 primeros objetivos como son “artículos publicados en los últimos 4 años”, “estudios en humanos” y “estudios en personas mayores de 65 años”. Para el tercer objetivo he eliminado el filtro “estudios en humanos” para poder considerar artículos de experimentación animal.

Las palabras clave utilizadas para cada objetivo son:

- Para el primer objetivo “*immune system*” y “*colonic neoplasms*”.
- Para el segundo objetivo “*gastrointestinal microbiome*” y “*colonic neoplasms*”.
- Para el tercer objetivo “*colonic neoplasms*” e “*immunotherapy*”.

De forma global, sumando los resultados de los 3 bloques, obtengo 163 artículos. Una vez revisados selecciono 22, por ser los que más se adecúan a la metodología y los objetivos del trabajo.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Mecanismos de las células neoplásicas para alterar el sistema inmunitario

Para la generación de una neoplasia en el colon es fundamental la inflamación crónica que puede provocar diferentes patologías. Es decir, situaciones que promuevan un estado inflamatorio del colon de manera persistente, como puede ser la colitis ulcerosa o el propio envejecimiento, promueven la secreción de citoquinas proinflamatorias y favorecen un microambiente de inmunosupresión. Además este estado es angiogénico, por lo que se crean mayor número de vasos sanguíneos. Esto será fundamental para la posible diseminación del tumor y generación de metástasis a distancia. (6)

Son muchas las maneras en las que las células neoplásicas pueden escapar del control por parte del Sistema Inmunitario, pero sobre todo destaca la creación de un microambiente inmunosupresor. Este se genera a través de la inhibición de los puntos de control presentes en los linfocitos T CD8. Estos presentan en su superficie el receptor PD-1 (*Programme Death-1*), cuya función es regular la apoptosis celular. Las células tumorales en cáncer colorrectal (CCR) muestran un ligando del receptor PD-1 (PD-L1) para poder inhibir la apoptosis y reducir la capacidad del linfocito T de mantenerse activas frente a otras células que reconozca como tumorales. También se ve afectada la secreción de citoquinas proinflamatorias. Estudios recientes muestran que la expresión de PD-L1 en células presentadoras de antígenos (CPA) también influye en esta inmunosupresión. Lo cierto es que la mayor expresión de este ligando se asocia a peor pronóstico y mayor capacidad para metastatizar a otros tejidos del tumor. (3)

Otra de las características presentes en algunos tipos de CCR es la inestabilidad de microsatélites (MSI). Estos microsatélites son secuencias cortas de bases nitrogenadas dentro del ADN que pueden verse afectadas por diversas mutaciones. Si estas escapan a los sistemas de reparación de errores dentro del ADN se pueden producir secuencias sucesivas de errores que provoquen una carga mutacional considerablemente más elevada que si no se produjera. Lo cierto es que no es lo más común, puesto que solo alrededor del 15% de los CCR cursan con esta inestabilidad de microsatélites.

La infiltración de los macrófagos constituye otra vía para escapar del control. Se generan trampas extracelulares de macrófagos (MET), asociadas a peor pronóstico en CCR, debido a su función en la progresión neoplásica. Ensayos recientes muestran que estas MET favorecen la infiltración de tejidos en CCR, mientras que al mismo tiempo, esta infiltración de tejidos favorece la formación de nuevas MET. Así se genera un sistema de retroalimentación. La base de la generación de MET serían IL-8 y TNF- α .

Peptidilarginina deaminasa es la enzima que está relacionada con esta generación de MET (destaca el papel del PAD2). (7)

Puede darse una sobreexpresión por parte de linfocitos T reguladores del marcador de superficie CD39, lo cual está relacionado con un peor pronóstico y un mayor número de recidivas. CD39 es una enzima llamada ectonucleótido trifosfato difosfohidrolasa-1, cuya función consiste en transformar las moléculas de ATP en adenosina con función inmunosupresora. Esta puede estimular la actividad oncogénica por parte de las células tumorales en CCR, pero a su vez crear un estado de inmunosupresión inhibiendo la acción de los linfocitos T viables. En concreto se ha comprobado que el marcador CD39 inhibe de forma selectiva los linfocitos Th17. Esto abre una alternativa de tratamiento para los pacientes con CCR que no responden a la inmunoterapia de bloqueo de PD-L1, ya que nos encontramos ante otro tipo de mecanismo susceptible de tratamiento. (8)

El papel de las células dendríticas (CDp) sobre las interleucinas también se postula como uno de los mecanismos patogénicos. Se ha demostrado que estas interleucinas están en diferente concentración dependiendo del tejido en que nos encontremos. Concretamente en el CCR los niveles de IL-3 se encuentran disminuidos, teniendo una relación inversamente proporcional con respecto a su malignidad. De este modo, a menor concentración de IL-3 habrá una mayor malignidad por parte del cáncer. Las CDp están relacionadas con el ambiente de inmunosupresión propio de los tumores, dada su posibilidad de sintetizar IFN-I. Se ha demostrado que su concentración está aumentada en los tejidos con cáncer de colon, al contrario que sucedía con la IL-3. Además presenta una relación directamente proporcional con respecto a la malignidad del mismo, de modo que a mayor concentración de CDp, peor será el pronóstico del CCR. Se produce una interacción entre ambos elementos, ya que CDp promueven la aparición de genes que favorecen la apoptosis en IL-3. De este modo se promueve la progresión del tumor a través de la eliminación de uno de los agentes reguladores de este.

Por último, otro aspecto a tener en cuenta es el índice de enfermedad residual o enfermedad residual mínima (ERM). En 2021 se realizó un ensayo clínico donde se pretendía analizar el grado de inmunosupresión de los pacientes que habían sido intervenidos de un CCR (resección del tumor). Para ello se agruparon los pacientes en 3 grupos donde el I no tenía ERM, el II presentaba micrometástasis y por último el III presentaba células tumorales circulantes. Se comprobó que en el grupo donde no había ERM el estado de disfunción inmunitaria desapareció, presentando mejor pronóstico futuro y un menor número de recurrencia de la enfermedad.

Por otra parte, cuanto mayor era el grado de ERM, mayor era el estado de inmunosupresión, lo que se asocia a un peor pronóstico con mayores y peores recidivas. Con este estudio se pudo comprobar que el microambiente de inmunosupresión anteriormente mencionado no solo está influenciado por el tumor primario, sino que una vez intervenido este, puede verse modificado por el grado de diseminación que haya presentado. Una pequeña cantidad de células circulantes pueden provocar grandes cambios

en el sistema inmune de los pacientes, condicionando en gran medida el pronóstico final de estos pacientes. (9)

6.2 Cambios metabólicos producidos por la microbiota intestinal en la generación de CCR

En un estudio reciente (10) se analizaron los metatranscriptomas de 10 pacientes con CCR y 10 pacientes sin CCR a través de muestras fecales. Mediante este estudio determinaron que la microbiota fecal sufre cambios metabólicos para adaptarse al microambiente tumoral.

Una de las funciones de la microbiota intestinal es la regulación y neutralización de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de las especies reactivas del nitrógeno (RNS). Estas son productos del metabolismo celular y su acumulación puede provocar daños en el ADN de las células intestinales, pudiendo llegar a causar mutaciones que originen el cáncer colorrectal. En este estudio se descubrió que varios reductores de estos ROS estaban alterados en pacientes con CCR. En especial se ven afectadas dos enzimas encargadas de reducir H_2O_2 (el agente oxidante que mayor estrés oxidativo causa), como son la alquil-hiperóxido reductasa y la enzima tiol oxidorreductasa. También a nivel no enzimático se vieron alteraciones en estos pacientes, a través de la oxidación de agentes antioxidantes, como pueden ser ectoína o L-ascorbato.

Sin embargo, paradójicamente aumentó la tasa de metabolismo de una especie reactiva del nitrógeno como puede ser el NO, a través de una regulación positiva de la glutatión peroxidasa. Los cambios en el potencial de degradación de estas sustancias tóxicas a través de determinados mecanismos de la microbiota intestinal pueden causar efectos deletéreos en la salud del paciente y acabar provocando daños en el ADN y conduciendo al desarrollo de CCR.

De igual forma, es conocido que el pH intestinal está descendido en pacientes con CCR, pudiendo llegar a valores inferiores a 3. En este estudio se observó que la microbiota intestinal desarrolla mecanismos de adaptación que les permitan reproducirse y mantener su función en este medio tan ácido. Estos mecanismos son tales como la adición de más ácidos grasos de ciclopropano a su membrana o sobreexpresando metiltransferasa dependiente de S-adenosil-L-metionina.

En el estudio se concluyó que la microbiota intestinal es capaz de adaptarse a los cambios metabólicos que ocurren en el CCR, por lo que abre posibles líneas nuevas de tratamiento a través de la manipulación de estas bacterias.

6.3 Microorganismos de la microbiota intestinal relacionados con la aparición de CCR

Con respecto a la alteración de microbiota intestinal en CCR, se ha realizado un estudio por parte de Liang y colaboradores (11) que buscaba establecer las diferencias entre el cáncer de colon izquierdo (entendido desde la válvula ileo-cecal hasta el ángulo esplénico, pasando por ciego, colon ascendente y colon transversal) y colon derecho (desde el ángulo esplénico, pasando por colon descendente, sigmoide y recto). Para ello se compararon muestras fecales y de los tumores (obtenidos durante la cirugía) con grupo control.

Se determinó que las bacterias predominantes en pacientes con carcinoma colorrectal derecho eran diferentes a las que predominaban en el carcinoma colorrectal izquierdo. Estas además se diferenciaban de las que predominaban en el grupo control.

Por su parte en el derecho había mayor abundancia de *Bacterioides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* o *Veillonella parvula*, mientras que en el izquierdo por su parte predominaban *Bacterioides thetaiotaomicron*, *Bacterioides ovatus* o *Porphyromonas asaccharolytica*. Estas diferencias bacteriológicas podrían tener repercusiones en el origen etiopatogénico así como en posibles dianas terapéuticas. Sin embargo, las predominancias en ambos tipos de CCR fueron también diferentes a la microbiota predominante en el grupo control, donde abundaron *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale* o *Mesaplasma tabanidae*.

Centrándose en los metabolitos, se determinaron diferencias con respecto a la localización del CCR (12). En pacientes con CCR derecho había predominancia de L-fenilalanina, mientras que en el CCR izquierdo predominaba L-citrulina y D-ornitina. Esto muestra que los procesos metabólicos que realizan las diferentes poblaciones microbianas son únicos para cada especie.

También se encontraron diferencias en el genoma de los colonocitos mutados, dependiendo de la localización del CCR. En CCR izquierdo se encontraron varias mutaciones, entre las que destaca TCF25. Esta actúa inhibiendo la transcripción de un factor de control de muerte celular. Además, un aumento de la expresión de TCF25 empeora las úlceras producidas en el epitelio intestinal, debido a la inhibición de los mecanismos de reparación de la musculatura lisa de la submucosa intestinal. Por su parte en el CCR derecho se ha localizado la mutación WBP1, gen con función antitumoral.

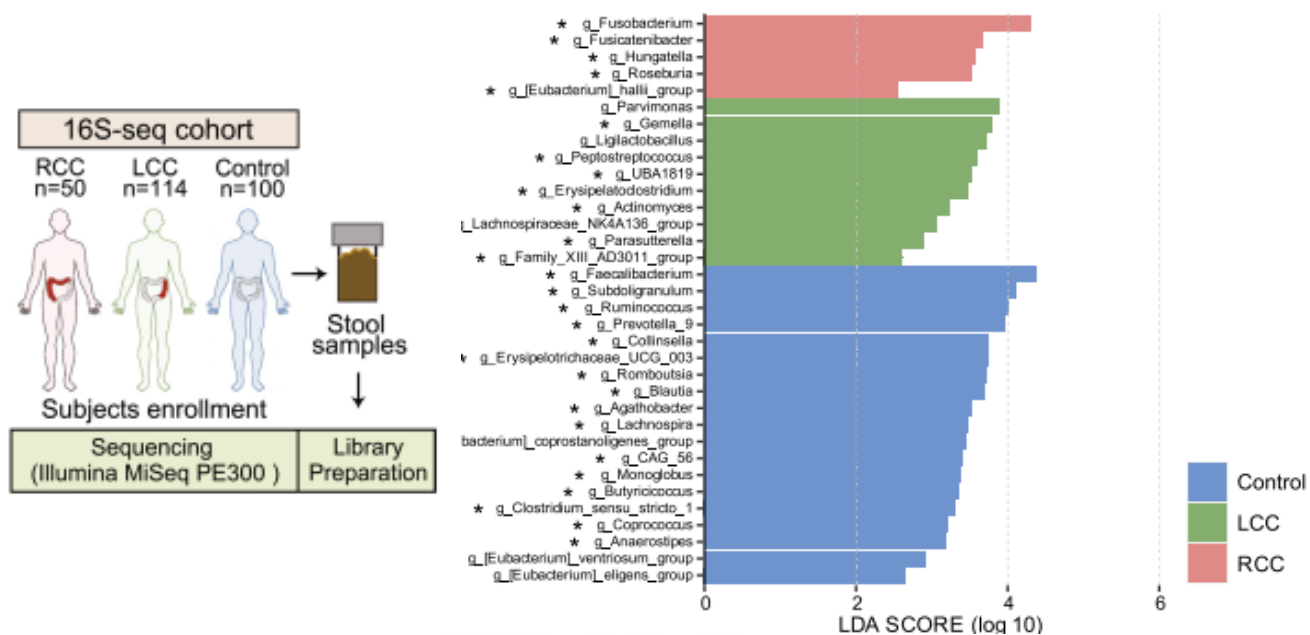


Figura 2. Poblaciones microbianas predominantes dependiendo de la porción del colon donde se localice tumor, comparado con el grupo control. (11)

El estudio de Li Y, Li Q., et al, 2024 (13) buscaba investigar sobre el papel de un colonizador habitual del colon (*Bifidobacterium breve* lw01) sobre el ambiente inflamatorio que predispone al desarrollo de CCR. En anteriores investigaciones se descubrió que esta cepa regula el ambiente inmunitario a través de la activación de linfocitos T que inhiben el crecimiento tumoral y del reclutamiento de células dendríticas (CD11b y CD103). Este efecto es gracias al ácido indol-3-láctico, producto del metabolismo del L-triptófano producido por *Bifidobacterium breve* lw01.

Lo que se consigue es reducir el estado inflamatorio (colitis) que favorece a la generación de neoplasias. Para la generación de neoplasias asociadas a la colitis es fundamental que haya infiltración de células de estirpe mieloide. Lo que se descubrió era que *Bifidobacterium breve* lw01 reduce esta infiltración, por lo que reduce el ambiente inflamatorio secundario.

Zepeda-Rivera y colaboradores analizaron el tejido neoplásico de una paciente con cáncer colorrectal estadio III, obtenido durante la cirugía, aislando una nueva especie de bacteria anaerobia (14). Esta pertenece al género *Fusobacterium* pero no alcanzaba un umbral de similitud superior al 98,5% con ninguna de las bacterias conocidas. Es por ello que se realiza un análisis genómico y se determina que se trata de una nueva especie, conocida como *Fusobacterium sphaericum*.

Ya se ha demostrado que el tratamiento antibiótico, dirigido contra *Fusobacterium* consigue modificar la microbiota intestinal y reducir la reproducción de las células tumorales. Se buscó ver si *Fusobacterium sphaericum* tiene el mismo perfil de sensibilidad antibiótica que el resto de especies de su familia. In

vitro se observó que presenta sensibilidad a metronidazol y penicilina, al igual que otras especies de *Fusobacterium*. Además el panel de resistencias, a eritromicina y vancomicina principalmente, también es similar. Se determinó que *Fusobacterium sphaericum* se adhiere a las células del epitelio colónico, induciendo la liberación de IL-8. Esta se trata de una quimiocina que aparece sobreexpresada en pacientes con CCR y que tiene un papel proinflamatorio. A través de potenciar el microambiente tumoral tiene la capacidad de mejorar el crecimiento de las células tumorales, así como facilitar su migración a otros tejidos del organismo, como podrían ser los pulmones o el hígado.

6.4 Uso de PD-1 para el tratamiento del CCR

Peng Y. y colaboradores evalúan la terapia CAR-T (receptor del antígeno quimérico de células T) cuando añadimos las proteínas PD1-TLR (15). Esta terapia CAR-T consiste principalmente en, a través de linfocitos T del paciente, modificarlos añadiendo anticuerpos que reconozcan antígenos expresados en las células tumorales (16). En este estudio, lo que se pretende es evaluar la respuesta antitumoral que se consigue cuando se añade la molécula PD1-TLR10 a los linfocitos T. Se busca acción anti-CEA (marcador de superficie de las células tumorales del colon).

Se inyectaron células CAR-T marcadas con PD1-TLR10, a un grupo de ratones a los que previamente se les había inducido cáncer de colon a través de concentrados celulares obtenidos de humanos. La eficacia de este tratamiento se comparó con otro grupo de ratones a los que se les trataba con células T simuladas.

Se demostró que estas nuevas células CAR-T a las que se les había añadido PD1-TLR10 presentaron gran citotoxicidad y aumento de producción de citoquinas, así como un mayor efecto antitumoral en comparación con el resto de terapias CAR-T utilizadas hasta el momento. Se demostró también que TLR10 permite una mayor supervivencia y expresión de las células CAR-T, debido a la señalización activadora de vías como JNK.

Con este estudio se abren nuevas líneas de investigación sobre el uso de este tipo de terapias en tumores sólidos, ya que hasta el momento solo se había comprobado su eficacia en neoplasias hematológicas.

Por otra parte, en un estudio realizado en abril de 2024 (17) se busca evaluar la eficacia del bloqueo del ligando de PD-1 como tratamiento inmunoterápico para el cáncer.

Mediante la primera parte del estudio *in vitro* se determinó que el péptido PPL-C es el que con mayor afinidad se une a PD-L1 (además de tener un efecto bloqueante sobre su unión con PD-1), de modo que es con el que se realiza el estudio. Este análisis de afinidad se realizó mediante la técnica ELISA. Se comprobó un aumento de la síntesis y liberación de IFN- γ , así como un aumento en la proliferación celular por parte de los linfocitos T CD4+ en presencia de PPL-C cuando estos linfocitos se estimulaban

con anti-CD3 y anti-CD28.

A continuación se quiere comprobar si en modelos *in vivo*, la presencia de PPL-C tiene los mismos efectos en la regulación inmunitaria. Para ello se usaron 60 ratones a los que se les indujo cáncer colorrectal a través de la inyección de células CT26 (un cáncer colorrectal murino derivado de ratones que comparte características con el CCR humano) (18). Se compara el efecto de la inyección subcutánea del preparado con PPL-C sobre la masa tumoral, con un grupo al que se le administran anticuerpos antiPD-L1 (nivolumab) y un grupo control al que se le administra una solución salina normal.

Los resultados que obtuvieron es que tanto el grupo de ratones tratados con PPL-C como los tratados con anti PD-L1 experimentaron una reducción estadísticamente significativa del tamaño tumoral, además de un aumento de la supervivencia del alrededor del 50%. Además a través de citometría de flujo se observó que se redujo la cantidad de linfocitos T reguladores (los cuales en condiciones normales inhiben las respuestas inmunitarias excesivas contra el tumor), de modo que se redujo la tolerancia inmunológica hacia las células tumorales. Además en el grupo tratado con PPL-C se vio un aumento de los linfocitos T citotóxicos, así como de las quimiocinas GZMA e IFN- γ en el tumor. Estas sustancias indican que se está produciendo la destrucción de las células neoplásicas, ya que ambas son activadores del linfocito T. También se apreció un incremento de CD8+ en el bazo de los ratones de este grupo, lo que indica una mayor producción de estos linfocitos T citotóxicos.

Los principales problemas que derivan de esta terapia son la vida media corta y la degradación acelerada del complejo, por lo que esta vía de tratamiento (que ha demostrado ser efectiva) está sujeta a nuevas investigaciones para poder prolongar su acción. Esta podría alcanzarse a través de la utilización de nanocomplejos o de péptidos multifuncionales.

6.5 *Lactobacillus reuteri* como mediador de la inflamación

En el estudio de Chen X., et al, 2024 (19) se buscaba identificar si se puede utilizar la microbiota intestinal con función inmunomoduladora para el tratamiento del cáncer de colon. Se sabe que *Lactobacillus reuteri* puede mediar y reducir la inflamación intestinal por medio de interacciones con el sistema inmune (20). Lo que se hizo en este estudio fue administrar ARNm de IL-23A junto con un lisado de *L. reuteri* para ver sus efectos sobre el crecimiento y la maduración tumoral. Estos dos componentes se introdujeron en un portador catiónico multifuncional (DMP), que hizo de transportador para el complejo Lac-IL-23A. Se forma de esta manera un nanosistema catiónico de DMP que contiene el lisado de *L. reuteri* junto con el ARNm para IL23A.

Se inyectó por vía intramuscular a un grupo de ratones a los que se les había inducido un cáncer de colon para ver los efectos terapéuticos. A los 12 días de la inyección del complejo se sacrificó a los ratones, para poder analizar los infiltrados inmunes en la masa tumoral, así como en otros tejidos donde se haya podido producir una diseminación a distancia. Se apreció una reducción de los niveles de E-

cadherina, así como un incremento de IL-12, IL-10 e IL-1b. Estos mediadores inflamatorios tienen la capacidad de modular la respuesta del sistema inmunitario, reduciendo así la inflamación y las posibles metástasis a distancia. Además se observó el aumento de expresión de diferentes quimiocinas como PF4, las cuales son capaces de favorecer la acción de las células inmunitarias. Derivados del TNF- α (FasL o CD27) también se vieron aumentados. Estos últimos regulan la capacidad apoptótica de las células tumorales, a través de la señalización de una vía específica como es la PI3K-AKT.

A través de este estudio se demuestra que la inyección del complejo DMP/Lac/IL-23A es capaz de reducir la proliferación tumoral y la capacidad de metástasis a distancia, lo cual abre futuras líneas de investigación para seguir profundizando en la utilidad de los nanosistemas en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

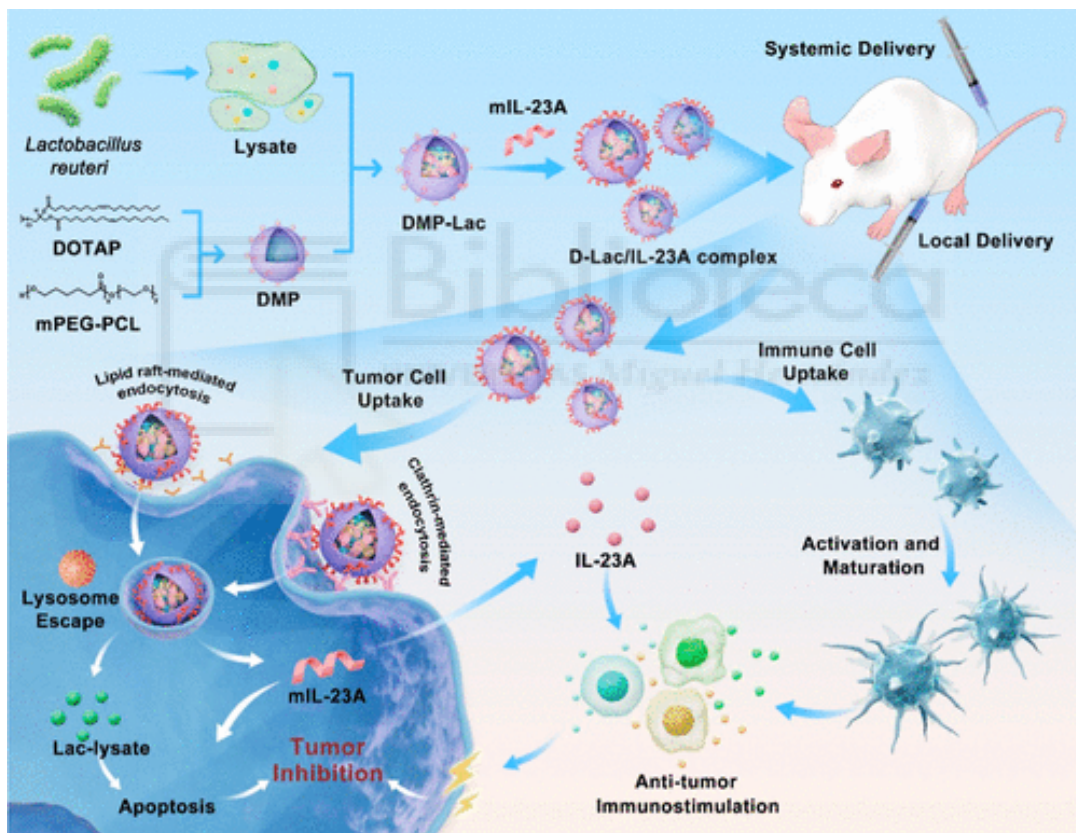


Figura 3. Esquema de tratamiento con el complejo DMP/Lac/IL-23 (19)

6.6 La inhibición de la enzima LDH puede aportar beneficios en el tratamiento del CCR

En este estudio de septiembre de 2024 (21) se establece la posibilidad de actuar sobre la LDH para el tratamiento de determinados tumores, entre los que se encuentra el cáncer colorrectal. Es ampliamente conocido que para la progresión de las células tumorales, estas necesitan un consumo elevado de glucosa. Para poder realizar la glucólisis, es necesaria esta enzima (LDH), cuya función final es la transformación de piruvato en lactato en el metabolismo anaerobio. Además de permitir el crecimiento tumoral a través del consumo de glucosa, la acidificación del microambiente tumoral (por la liberación de lactato) crea unas condiciones adversas para las células del sistema inmunitario (22), las cuales no pueden desempeñar su función y se perpetúa todavía más el crecimiento descontrolado de las células cancerosas.

Analizando tejidos tumorales disponibles en diferentes bases de datos se determina que en estos la concentración de LDH está aumentada con respecto a la presencia de esta enzima en los linfocitos T activados en estas situaciones.

Para confirmar si se cumple esta regla, se induce en ratones un melanoma a través de líneas celulares marcadas con la proteína fluorescente YFP. A través de citometría de flujo se comprueba que estas células tumorales presentan una expresión mucho mayor de LDH y de consumo de glucosa en comparación con los linfocitos T CD8+ de estos ratones.

A través de un inhibidor de la enzima LDH (GNE-140) se demostró que este reducía significativamente el consumo de glucosa por parte de las células tumorales, así como una reducción de la cantidad de lactato liberada al medio. Con la disminución del consumo de glucosa, disminuye también la expresión de GLUT1 por parte de estas células tumorales. Paradójicamente, la respuesta a iLDH no fue tan acusada en los linfocitos T activados, los cuales pudieron mantener su función inmunitaria. Además, al aumentar la glucosa disponible en el medio se incrementó la expresión de transportadores GLUT1, lo que aún permitió una mayor captación de glucosa por parte de estas células defensivas.

Se demuestra que la inhibición farmacológica de LDH tiene un efecto mayor sobre la captación de glucosa y el crecimiento de las células tumorales que sobre las células propias defensivas, que preservar su función. Esto abre nuevas líneas de investigación sobre la posibilidad de usar esta terapia como inhibición del metabolismo neoplásico y potenciación del sistema inmune.

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones de mi Trabajo Fin de Grado son las siguientes:

- La inhibición de los PD-1 es uno de los principales mecanismos de escape inmunitario por parte de las células neoplásicas y potencia el estado inmunosupresor que se genera alrededor de estas células mutadas. Todo esto es agravado por estados inflamatorios crónicos que generan diferentes patologías.
- La microbiota intestinal es fundamental en la homeostasis del colon. En situaciones neoplásicas se produce un desequilibrio en las poblaciones de esta, alterando además su función.
- Existen diferencias en las poblaciones microbianas dependiendo de la localización de la neoplasia. Si el tumor se encuentra en el colon derecho predominan *Bacterioides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* o *Veillonella párvula*, mientras que si se encuentra en el colon izquierdo hay mayor abundancia de *Bacterioides thetaiotaomicron*, *Bacterioides ovatus* o *Porphyromonas asaccharolytica*. Hay también cambios en el metabolismo, predominando en el lado derecho L-fenilalanina y en el izquierdo L-citrulina y D-ornitina.
- En situaciones de CCR hay mayor producción de ROS, con capacidad de generar daños en las cadenas de ADN de los colonocitos y generar nuevas mutaciones.
- *Bifidobacterium breve* lw01 reduce el estado inflamatorio propio del microambiente tumoral, lo que puede llegar a tener repercusiones anticancerígenas. Esta función se debe a la activación de linfocitos T y el reclutamiento de células dendríticas.
- El uso de CAR-T añadiendo PD1-TLR permite una mayor citotoxicidad, junto a un incremento de la liberación de citoquinas. La inhibición de PD-L1 por parte de PPL-C también ha demostrado reducir el tamaño tumoral junto con un aumento de la supervivencia de los pacientes.
- *Lactobacillus reuteri* consigue reducir el crecimiento tumoral gracias a la liberación de mediadores antiinflamatorios, los cuales favorecen la disminución del estado de inflamación crónica que ocurren en el CCR.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Chuang, J. P., Chen, Y. C., & Wang, J. Y. (2025). Narrative review of neoadjuvant therapy in patients with locally advanced colon cancer. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 41.
2. Wang, R., Lan, C., Benlagha, K., Camara, N. O. S., Miller, H., Kubo, M., Heegaard, S., Lee, P., Yang, L., Forsman, H., Li, X., Zhai, Z., & Liu, C. (2024). The interaction of innate immune and adaptive immune system. *MedComm*, 5.
3. Griffith, B. D., Lazarus, J., McGue, J., Krishnan, S., D'Angelica, M. I., Shia, J., Dobrosotskaya, I., Shi, J., Edwards, J., Rao, A., & Frankel, T. L. (2023). Unique characteristics of the tumor immune microenvironment in young patients with metastatic colorectal cancer. *Frontiers in immunology*, 14.
4. El Tekle, G., Andreeva, N., & Garrett, W. S. (2024). The Role of the Microbiome in the Etiopathogenesis of Colon Cancer. *Annual review of physiology*, 86.
5. Xing, C., Du, Y., Duan, T., Nim, K., Chu, J., Wang, H. Y., & Wang, R. F. (2022). Interaction between microbiota and immunity and its implication in colorectal cancer. *Frontiers in immunology*, 13.
6. Poghosyan S, Frenkel N, van den Bent L, Raats D, Spaapen T, Laoukili J, Borel Rinkes I, Kranenburg O, Hagendoorn J. VEGF-C propagates 'onward' colorectal cancer metastasis from liver to lung. *Br J Cancer*. 2025 Jan;132.
7. Chen, T., Wang, Y., Nan, Z., Wu, J., Li, A., Zhang, T., Qu, X., & Li, C. (2021). Interaction Between Macrophage Extracellular Traps and Colon Cancer Cells Promotes Colon Cancer Invasion and Correlates With Unfavorable Prognosis. *Frontiers in immunology*, 12.
8. Szeponik, L., Ahlmanner, F., Sundström, P., Rodin, W., Gustavsson, B., Bexe Lindskog, E., Wettergren, Y., & Quiding-Järbrink, M. (2021). Intratumoral regulatory T cells from colon cancer patients comprise several activated effector populations. *BMC immunology*, 58.
9. Murray, N. P., Villalon, R., Orrego, S., & Guzman, E. (2021). Immune Dysfunction as Measured by the Systemic Immune-Inflammation Index is Associated with the Sub-Type of Minimal Residual Disease and Outcome in Stage II Colon Cancer Treated with Surgery alone. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 22.
10. Lamaudière, M. T. F., Arasaradnam, R., Weedall, G. D., & Morozov, I. Y. (2023). The Colorectal Cancer Microbiota Alter Their Transcriptome To Adapt to the Acidity, Reactive Oxygen Species, and Metabolite Availability of Gut Microenvironments. *mSphere*, 8.
11. Liang, L., Kong, C., Li, J., Liu, G., Wei, J., Wang, G., Wang, Q., Yang, Y., Shi, D., Li, X., & Ma, Y. (2024). Distinct microbes, metabolites, and the host genome define the multi-omics profiles in right-sided and left-sided colon cancer. *Microbiome*, 12.
12. Jain, A., Morris, M.T., Berardi, D. *et al.* Charting the metabolic biogeography of the colorectum in cancer: challenging the right sided versus left sided classification. *Mol Cancer* 23, 211 (2024)

13. Li, Y., Li, Q., Yuan, R., Wang, Y., Guo, C., & Wang, L. (2024). *Bifidobacterium breve*-derived indole-3-lactic acid ameliorates colitis-associated tumorigenesis by directing the differentiation of immature colonic macrophages. *Theranostics*, 14.
14. Zepeda-Rivera, M. A., Eisele, Y., Baryames, A., Wu, H., Mengoni, C., Piccinno, G., McMahon, E. F., LaCourse, K. D., Jones, D. S., Hauner, H., Minot, S. S., Segata, N., Dewhirst, F. E., Johnston, C. D., & Bullman, S. (2025). *Fusobacterium sphaericum* sp. nov., isolated from a human colon tumor adheres to colonic epithelial cells and induces IL-8 secretion. *Gut microbes*, 17.
15. Peng, Y., Huang, Z., Wu, Y., Wu, T., Lu, J., Zhang, J., & Liu, X. (2025). PD1-TLR10 fusion protein enhances the antitumor efficacy of CAR-T cells in colon cancer. *International immunopharmacology*, 148.
16. Ghazi B, El Ghanmi A, Kandoussi S, Ghouzlani A, Badou A. CAR T-cells for colorectal cancer immunotherapy: Ready to go? *Front Immunol*. 2022 Nov 15.
17. Liang, Y., Luo, H., Li, X., Liu, S., Habib, A., Liu, B., Huang, J., Wang, J., Yi, H., Hu, B., Zheng, L., Xie, J., & Zhu, N. (2024). PD-L1 targeted peptide demonstrates potent antitumor and immunomodulatory activity in cancer immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 15.
18. Sato, Y., Fu, Y., Liu, H., Lee, M. Y., & Shaw, M. H. (2021). Tumor-immune profiling of CT-26 and Colon 26 syngeneic mouse models reveals mechanism of anti-PD-1 response. *BMC cancer*, 21.
19. Chen, X., Wu, J., Zhou, B., Zhu, M., Zhang, J., Zhou, N., Zhu, Y. Z., Zhang, X., Duan, X., & Men, K. (2024). Bacterial Lysate-Based Bifunctional mRNA Nanoformulation for Efficient Colon Cancer Immunogene Therapy. *ACS applied materials & interfaces*, 16.
20. Bell HN, Rebernick RJ, Goyert J, Singhal R, Kuljanin M, Kerk SA, Huang W, Das NK, Andren A, Solanki S, Miller SL, Todd PK, Fearon ER, Lyssiotis CA, Gygi SP, Mancias JD, Shah YM. Reuterin in the healthy gut microbiome suppresses colorectal cancer growth through altering redox balance. *Cancer Cell*. 2022 Feb 14;40.
21. Verma, S., Budhu, S., Serganova, I., Dong, L., Mangarin, L. M., Khan, J. F., Bah, M. A., Assouvie, A., Marouf, Y., Schulze, I., Zappasodi, R., Wolchok, J. D., & Merghoub, T. (2024). Pharmacologic LDH inhibition redirects intratumoral glucose uptake and improves antitumor immunity in solid tumor models. *The Journal of clinical investigation*, 134.
22. Sharma, D., Singh, M., & Rani, R. (2022). Role of LDH in tumor glycolysis: Regulation of LDHA by small molecules for cancer therapeutics. *Seminars in Cancer Biology*, 87.