

Cánceres más frecuentes parcialmente atribuibles a microorganismos

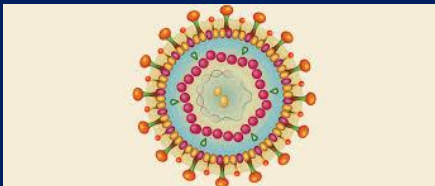
- *Helicobacter pylori* CA gástrico - Linfoma MALT



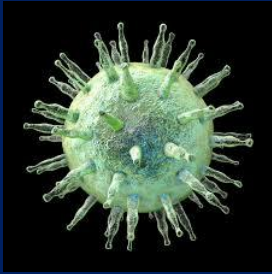
- Virus del papiloma humano CA cérvix
CA orofaríngeo....



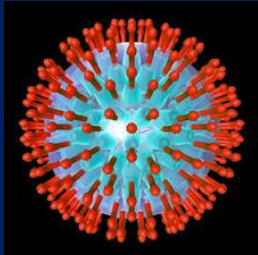
- Virus de la hepatitis B y C Hepatocarcinoma



- Virus de Epstein-Barr Linfoma /CA orofaríngeo



- Virus herpes humano 8 Sarcoma de Kaposi



- Fusobacterium nucleatum CA colorectal



Helicobacter pylori

Marshall & Warren



Nobel Prize in Medicine 2005





DISBIOSIS

CANCER



DISBIOSIS



NO PROTECTORAS

- *Enterococcus faecalis*
- *Shigella*
- *Escherichia coli*
- *Streptococcus bovis*
- ***FUSOBACTERIUM NUCLEATUM***
- *Bacteroides fragilis*



PROTECTORAS

- *Bifidobacterias*
- *Lactobacillus*
- *Fecalobacteria prausnitzzi*

Tumor-associated dysbiosis

Fecal dysbiosis

- Proteobacteria
- ↘ *Shigella* spp.
 - ↘ *Serratia* spp.
 - ↘ *Salmonella* spp.
 - ↗ *Colibactin⁺-Escherichia coli*

- Bacteroidetes
- ↗ *BFT-producing-B. fragilis*
 - ↗ *Prevotella* spp.

- Fusobacteria
- ↗ *Fusobacterium nucleatum*

- Firmicutes
- ↗ *Streptococcus bovis*
 - ↗ *Faecalibacterium* spp.
 - ↗ *Streptococcus* spp.
 - ↘ *Lactobacillus* spp.
 - ↘ *Roseburia* spp.
 - ↘ *Pseudobutyrvibrio*

- Actinobacteria
- ↗ *Coriobacteriaceae*

- Proteobacteria
- ↗ *Shigella* spp.
 - ↘ *Salmonella* spp.
 - ↗ *Colibactin⁺-Escherichia coli*

- Bacteroidetes
- ↗ *BFT-producing-B. fragilis*
 - ↗ *Alistipes* spp.
 - ↗ *Porphyromonadaceae*
 - ↗ *Prevotella* spp.

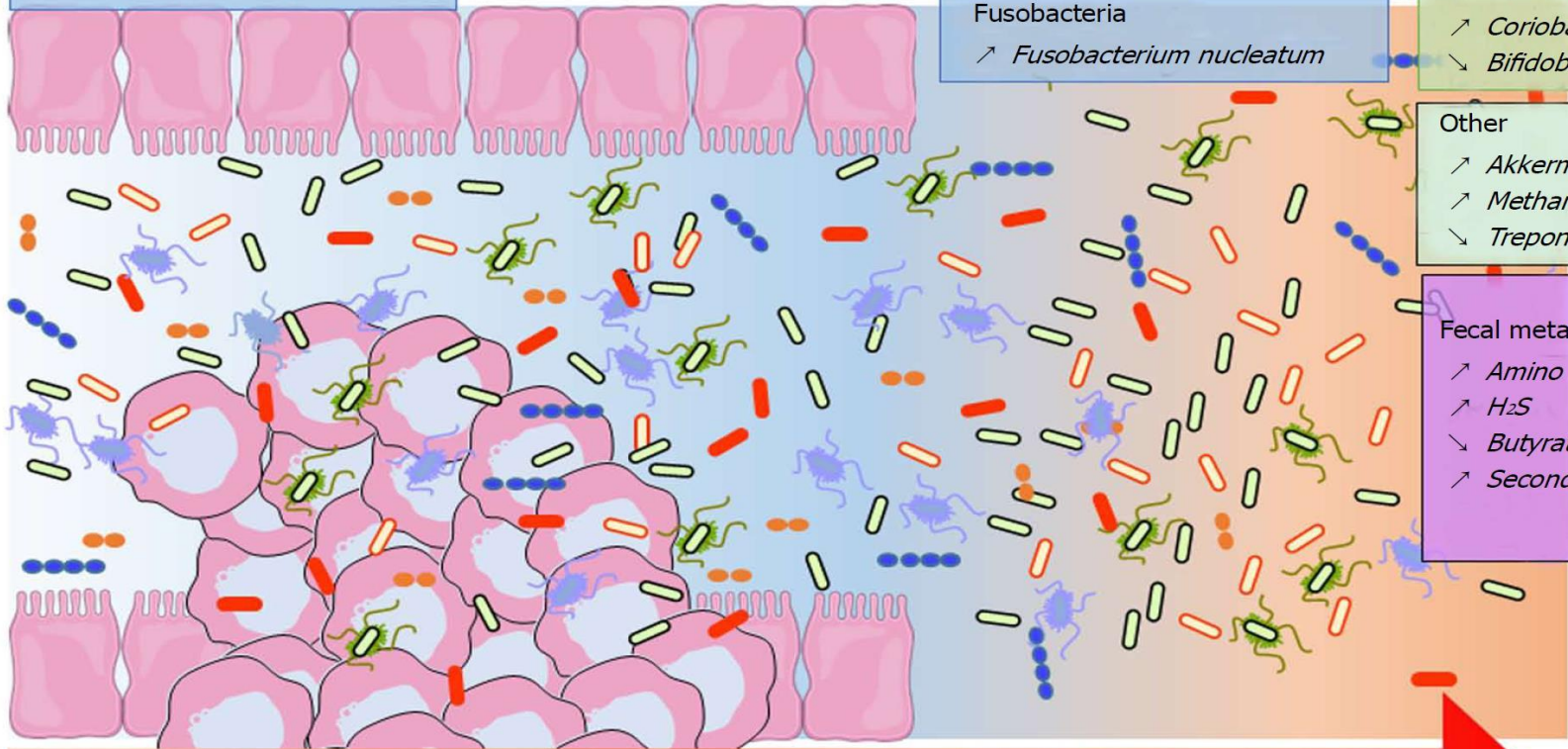
- Fusobacteria
- ↗ *Fusobacterium nucleatum*

- Firmicutes
- ↗ *Staphylococcaceae*
 - ↗ *Enterococcus faecalis*
 - ↗ *Parvimonas micra*
 - ↗ *Solobacterium moorei*
 - ↗ *Peptostreptococcus stomatis*
 - ↘ *Lactobacillus* spp.
 - ↘ *Ruminococcus* spp.
 - ↘ *Faecalibacterium* spp.
 - ↘ *Roseburia* spp.

- Actinobacteria
- ↗ *Coriobacteriaceae*
 - ↘ *Bifidobacterium* spp.

- Other
- ↗ *Akkermansia* spp.
 - ↗ *Methanobacteriales*
 - ↘ *Treponema* spp.

- Fecal metabolome changing
- ↗ *Amino acids*
 - ↗ *H₂S*
 - ↘ *Butyrate*
 - ↗ *Secondary bile acids*



Bacterial/metabolic composition shift during carcinogenesis



UNIVERSIDAD DE MURCIA

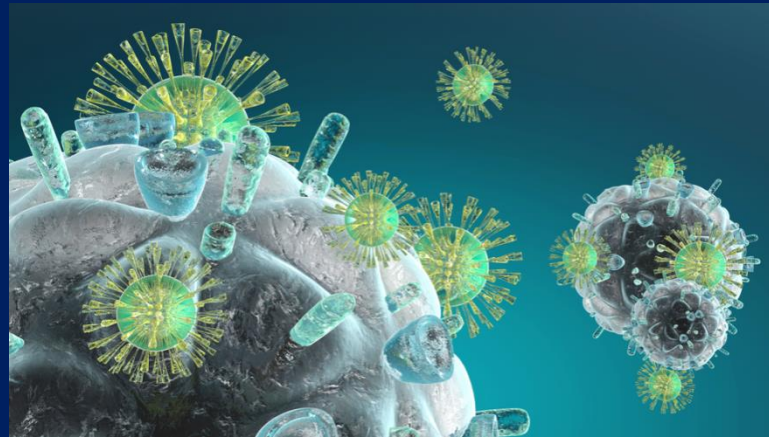
ESCUELA INTERNACIONAL DE
DOCTORADO

Caracterización de la Microbiota Intestinal mediante
"NGS" en Patología Neoplásica de Colon.

Jorge Galán Ros

2015

LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA CARCINOGENÉNESIS COLORECTAL ¿Aliada o enemiga?



Joaquin Sola Pérez / J.Ruíz Maciá

Antonio Moreno Docón *

Laboratorio de Patología Romea

Hospital Clínico Virgen de la Arrixaca *

MICROBIOTA (hasta 2014 flora intestinal)

Conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos) que habitan en un nicho ecológico específico, boca, tracto digestivo, respiratorio, vagina, piel y urológico, que a su vez pueden diferenciarse en: comensales, mutualistas y patógenos.

Un 25% de los tumores están relacionados con la microbiota



EL NICHOS MAS COMPLEJO Y NUMEROSO ES EL COLON

- Hay 3 trillones de microorganismos (99% bacterias)
- Representan un peso de 2kg
- Suponen el 50% del peso de las heces

La microbiota en la historia

- **Hipócrates:** “todas las enfermedades comienzan en el tracto digestivo”
- **A. Van Leeuwenhek** (microscopio, 1683)
“estamos llenos de animáculos”
- **Ily Metchnikok (Nobel 1908)**
“evitar la autointoxicación intestinal”
- **J. Lederberg (Nobel 1958)**
“acuña el término de microbiota”

Prensa escrita

- “Estamos ante una nueva constelación”
- “Somos lo que comemos”
- “Dime lo que comes y te diré que bacterias tienes”
- “Yo soy yo y mi microbiota”
- “Un universo en nuestro interior”

MICROBIOMA

Comprende todo el hábitat, incluyendo microorganismos, sus genes, las condiciones ambientales y metabolitos.

El genoma de la microbiota que codifica 100 veces más genes que el genoma humano.

El colón contiene aproximadamente el 70% del microbioma humano (Sekirov 2010)

FUNCIONES DE MICROBIOTA

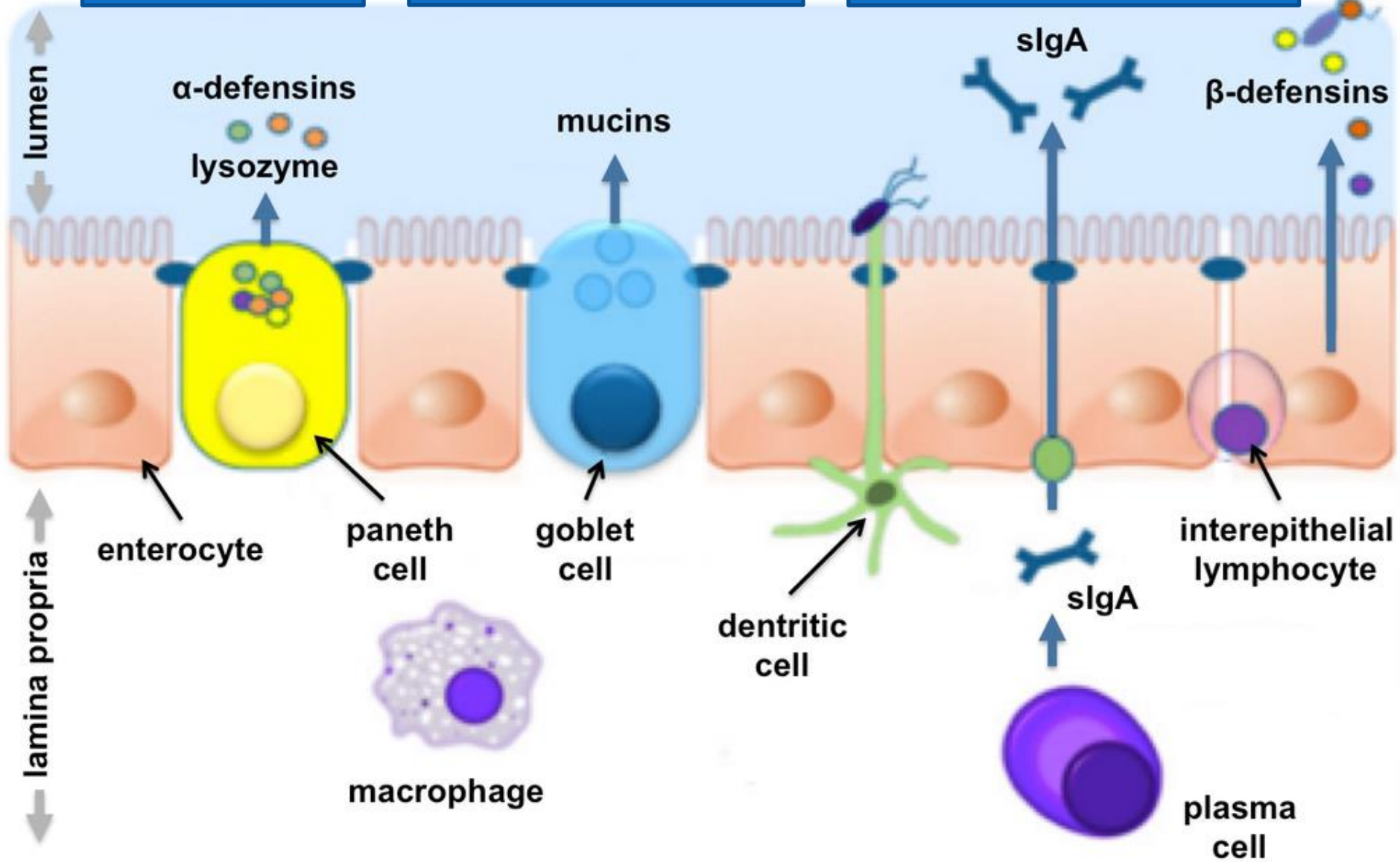
- Digestión de carbohidratos complejos para obtención de energía a través de AGCC
- Modulación del sistema inmune
- Síntesis de vitaminas (vit K y B12)
- Control de los niveles de glucosa en sangre
- Mediación del eje intestino-cerebro

La barrera intestinal

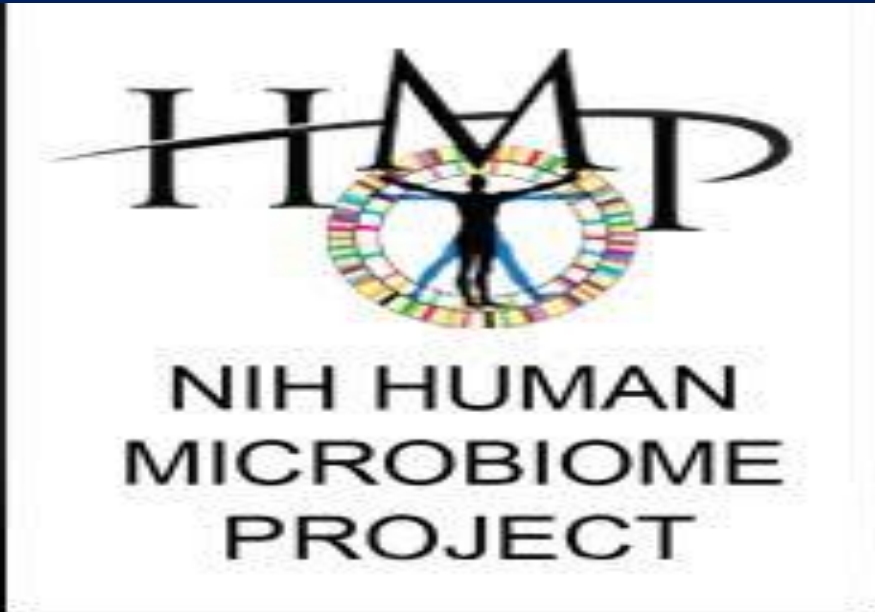
PROTECTORA

MUCOPROTECTORA

INMUNOMODULADORA



USA



Fecha inicio: 2008 Final: 2013

EUROPEO



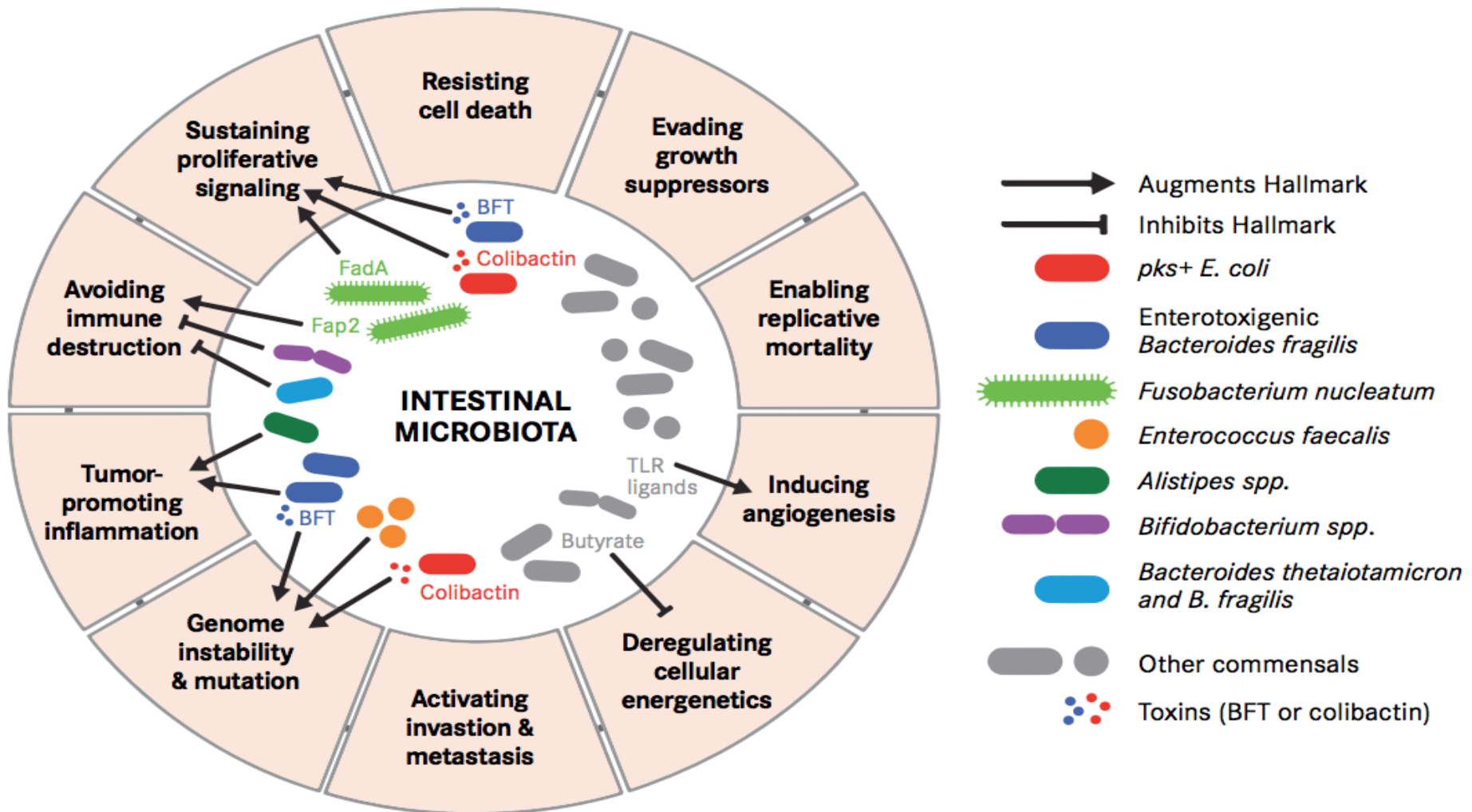
Fecha inicio: 2008 Final: 2012

The partners

- Thirteen European, one Chinese Institutions
- Eight countries, two continents
- Nine public and four private Institutions



Señales derivadas de la microbiota que modulan numerosos rasgos del cáncer por mecanismos diversos



BFT indicates *Bacteroides fragilis* toxin; *pks+*, colibactin-producing; TLR, toll-like receptor.

A growing body of clinical evidence has uncovered links between the microbiota and the Hallmarks of Cancer. These include butyrate, a short-chain fatty acid; colibactin, a genotoxin; and FadA and Fap2, bacterial mechanisms of *Fusobacterium nucleatum*.

Fulbright LE, Ellermann M, Arthur JC. The microbiome and the hallmarks of cancer. *PLoS Pathog.* 2017;13(9):e1006480. doi :10.1371/journal.ppat.1006480.

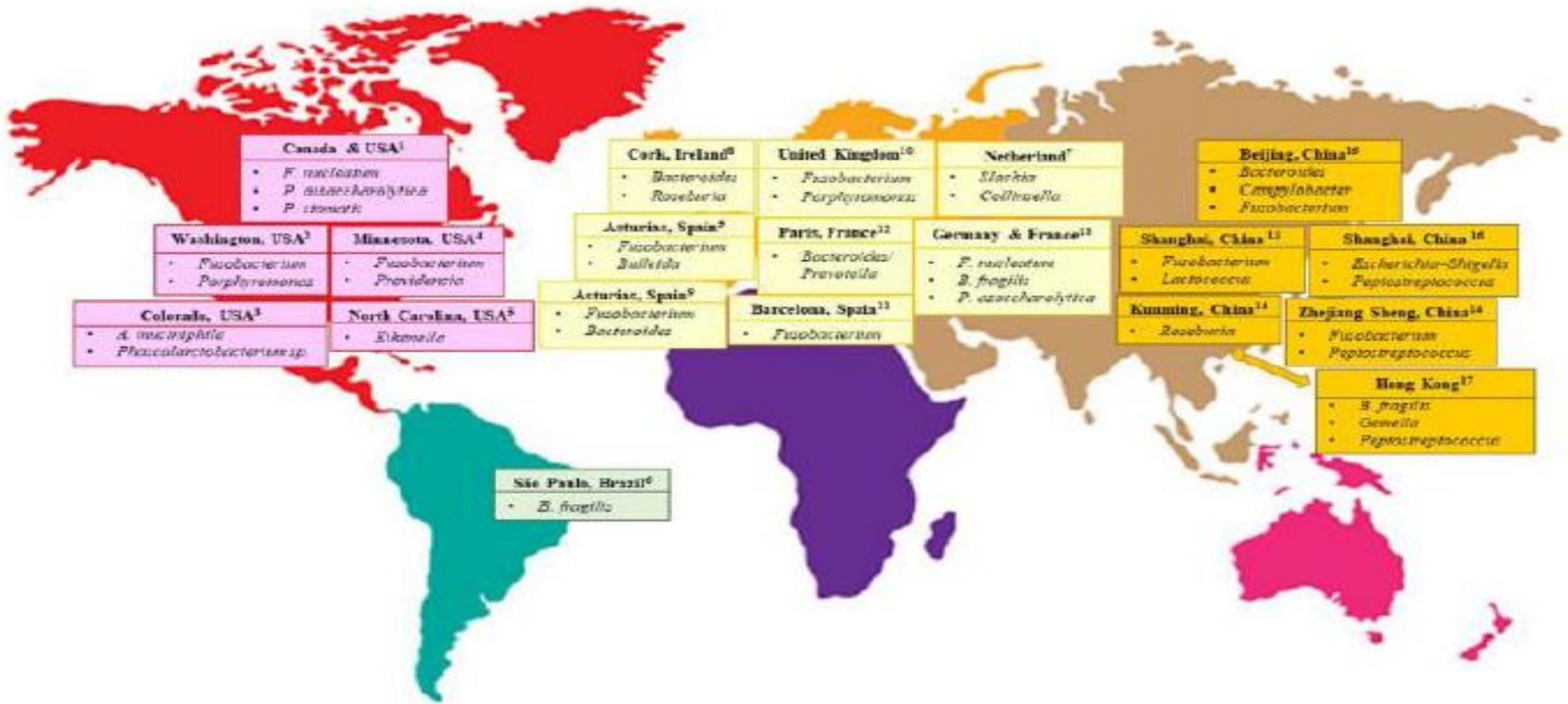
16S rRNA Gene Sequencing for Deciphering the Colorectal Cancer Gut Microbiome: Current Protocols and Workflows

Muhammad-Afiq Osman, Hui-min Neoh*, Nurul-Syakima Ab Mutalib, Siok-Fong Chin and Rahman Jamal

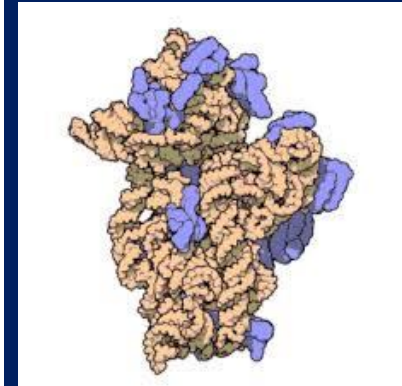
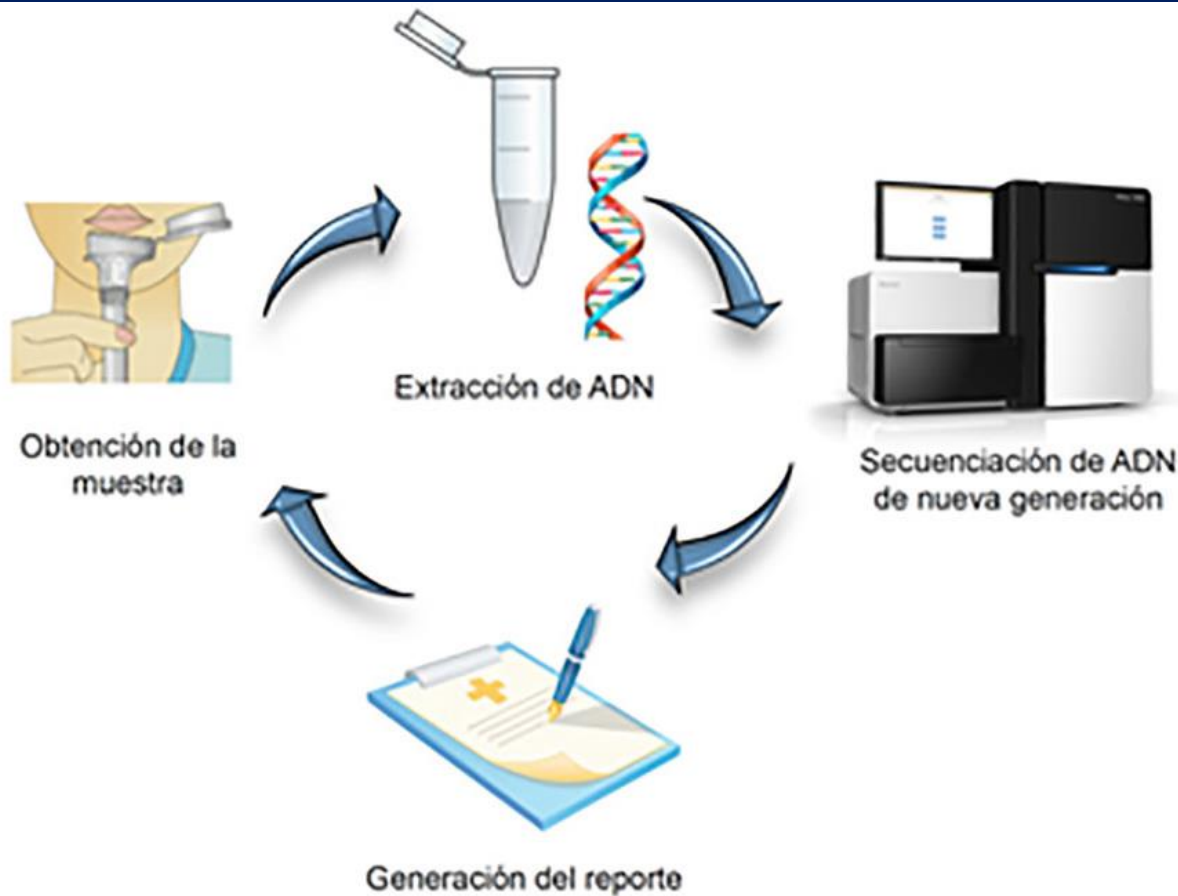
UKM Medical Molecular Biology Institute, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia



Murcia, Spain 2015 (Galan J)
Fusobacterium nucleatum



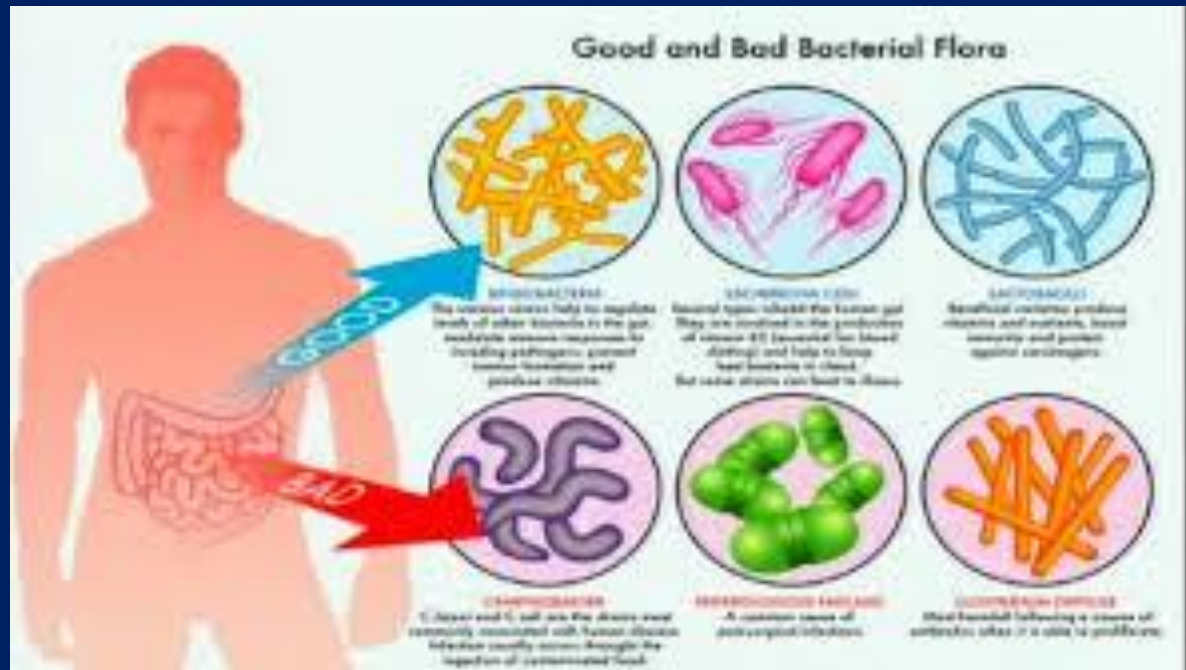
Técnicas de secuenciación masiva de alta resolución (NGS)



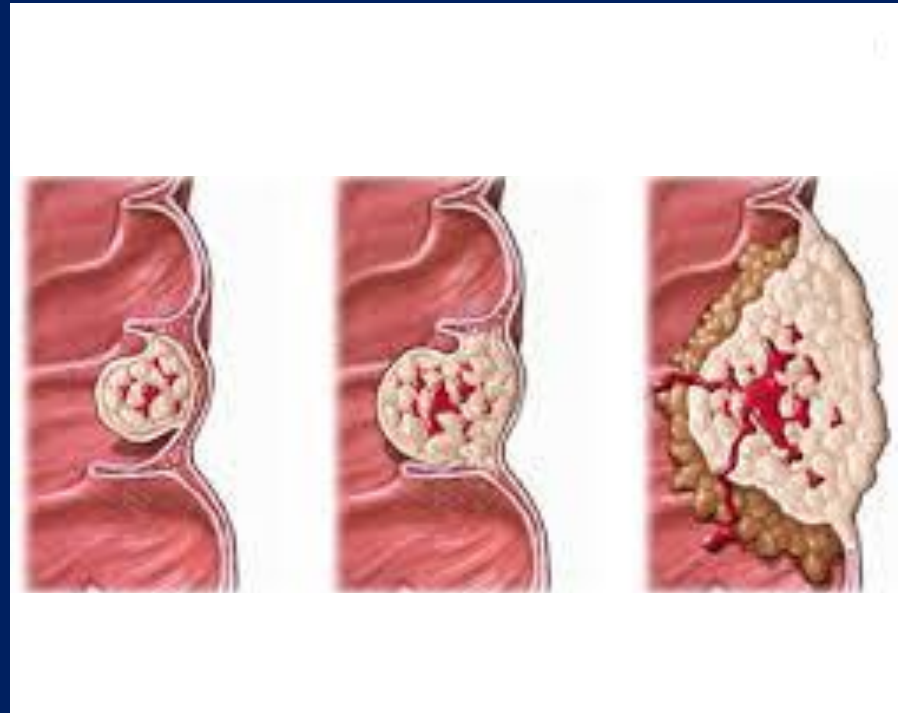
Gen que codifica la subunidad 16S rRNA

BACTERIAS (Filum)

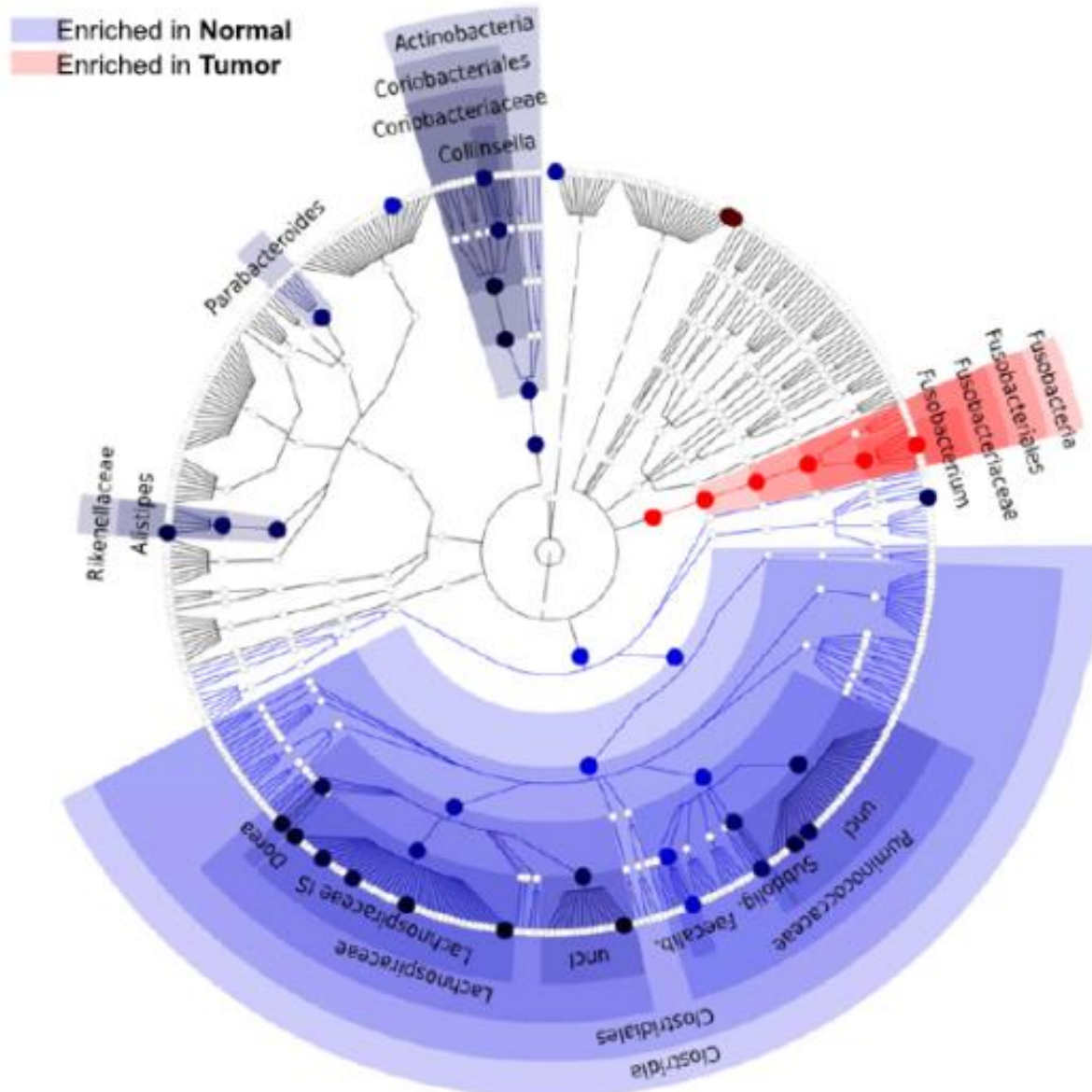
- Bacteroidetes (25%)
- Firmicutes (60%)
- Proteobacterias y otros (15%)



Fusobacterium nucleatum y su relación con el carcinoma colorectal



Cladograma



El CCR es un proceso tumoral complejo y multifactorial. Hay cada vez más estudios que apoyan la hipótesis de cómo la “MICROBIOTA INTESTINAL Y SUS METABOLITOS”, están implicados en el inicio, desarrollo, pronóstico y tratamiento de esta patología.

- **Esporádico** (69%)
- **Familiar** (26%)
 - ✓ No hereditario (20%)
 - ✓ Hereditario (6%)

Candela M. 2011
Plottel CS 2012
Zhu Q 2013

Varios microorganismos se han descrito como relacionados con CCR, siendo la especie (filum) más frecuente el “**FUSOBACTERIUM NUCLEATUM**”

Castellarín 2012

Kostic 2013

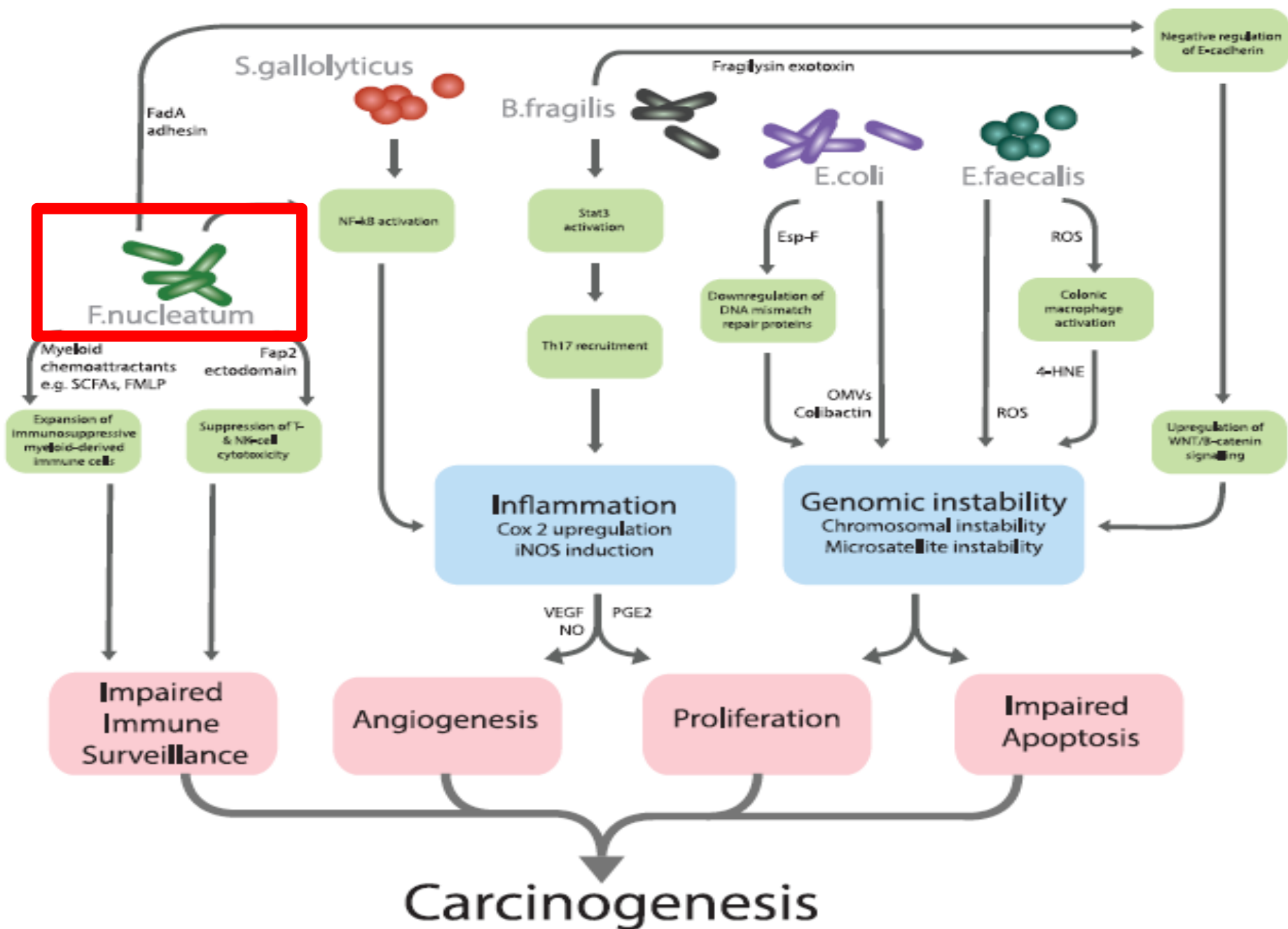
Galán 2015

Kelly 2018

Flemer 2018

Lee 2018

Garrett 2019



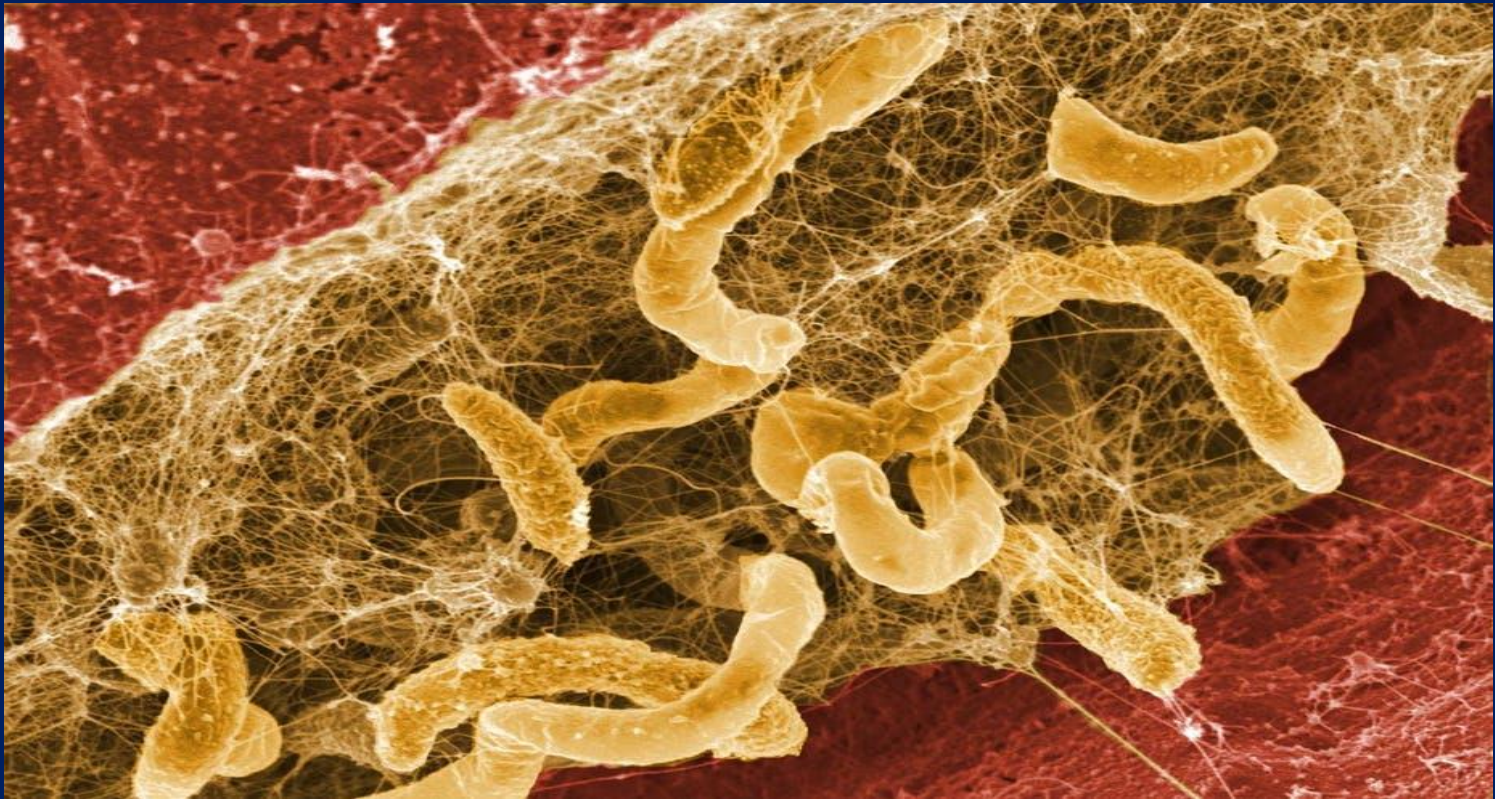


FUSOBACTERIUM NUCLEATUM (Fn)

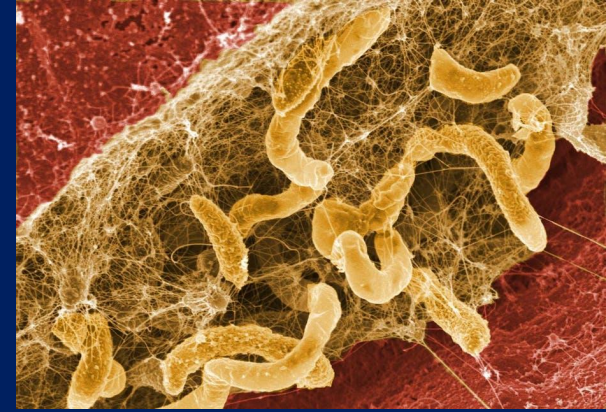
- Bacilo gramnegativo anaerobio, inmóvil presente en diversas partes del cuerpo
- Patógeno oportunista relacionado con CCR (Castellarin 2012, Kostic 2012)
- Frecuencia en CCR varía entre 8-61% (según plataforma de secuenciación)

BIOFILM

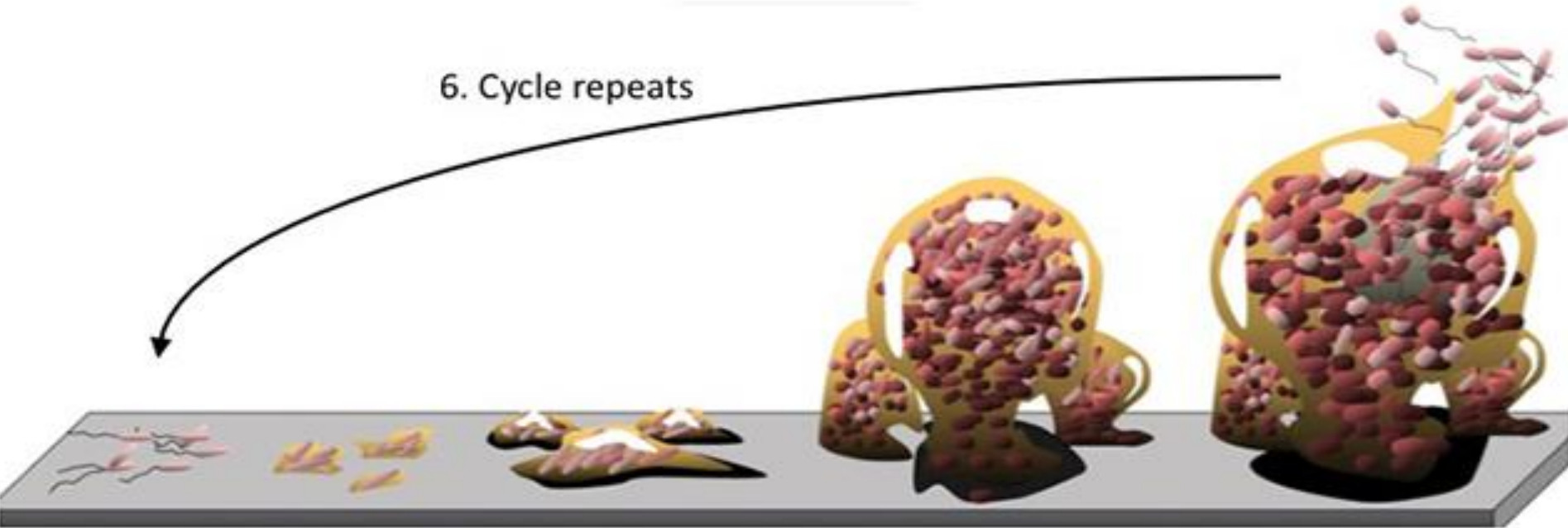
Estructura colectiva de microorganismos que se adhieren a superficies vivas o inertes rodeada de matriz gelatinosa de exo-polisacárido con propiedades nutritivas y protectoras



Biofilm



6. Cycle repeats



1. Single free floating bacteria land on surface

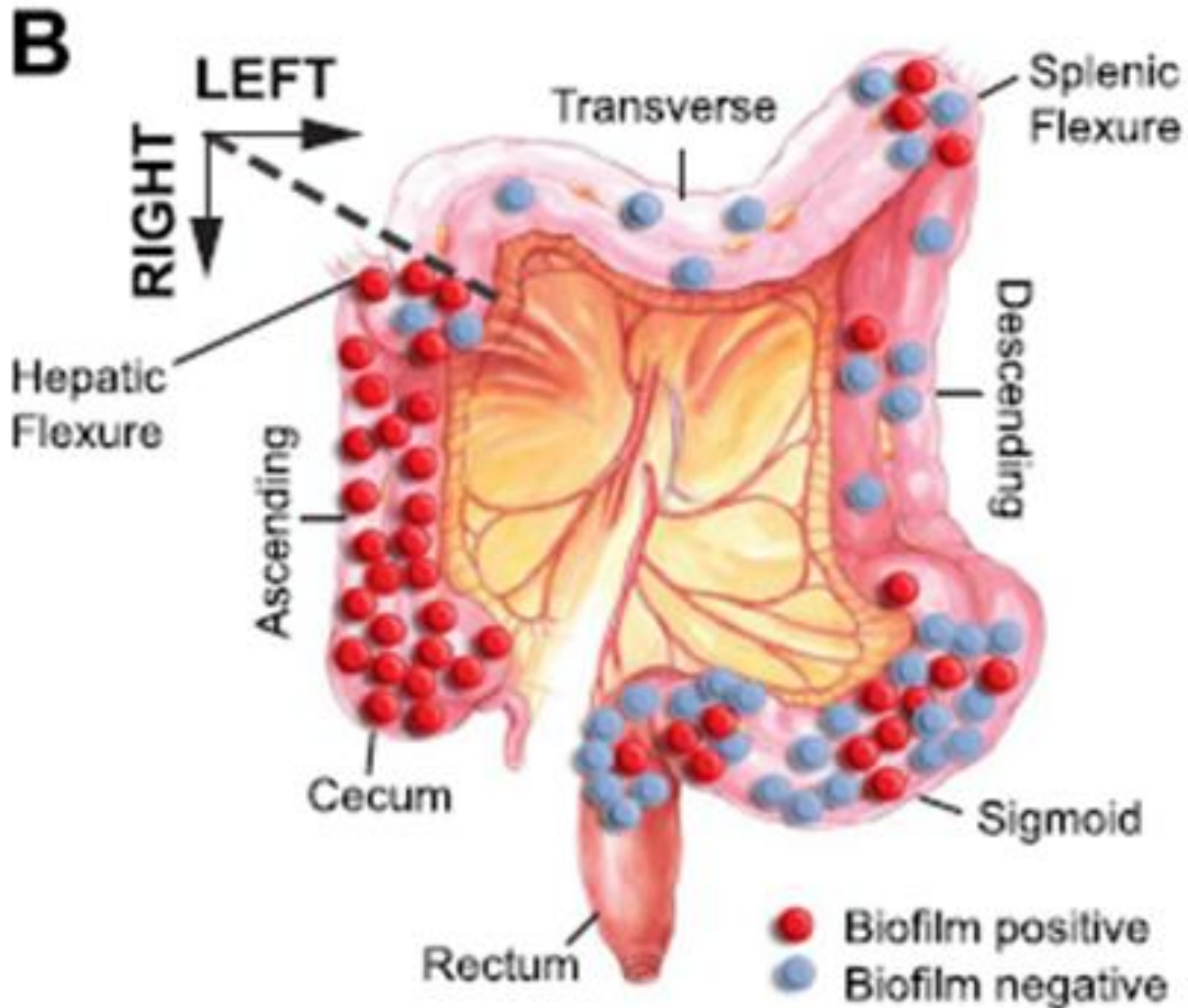
2. Bacterial cells aggregate and attach

3. Growth and division of bacteria for biofilm formation

4. Mature biofilm formation

5. Part of biofilm disperses to release free floating bacteria for further colonization

Biofilm y Fn en colon

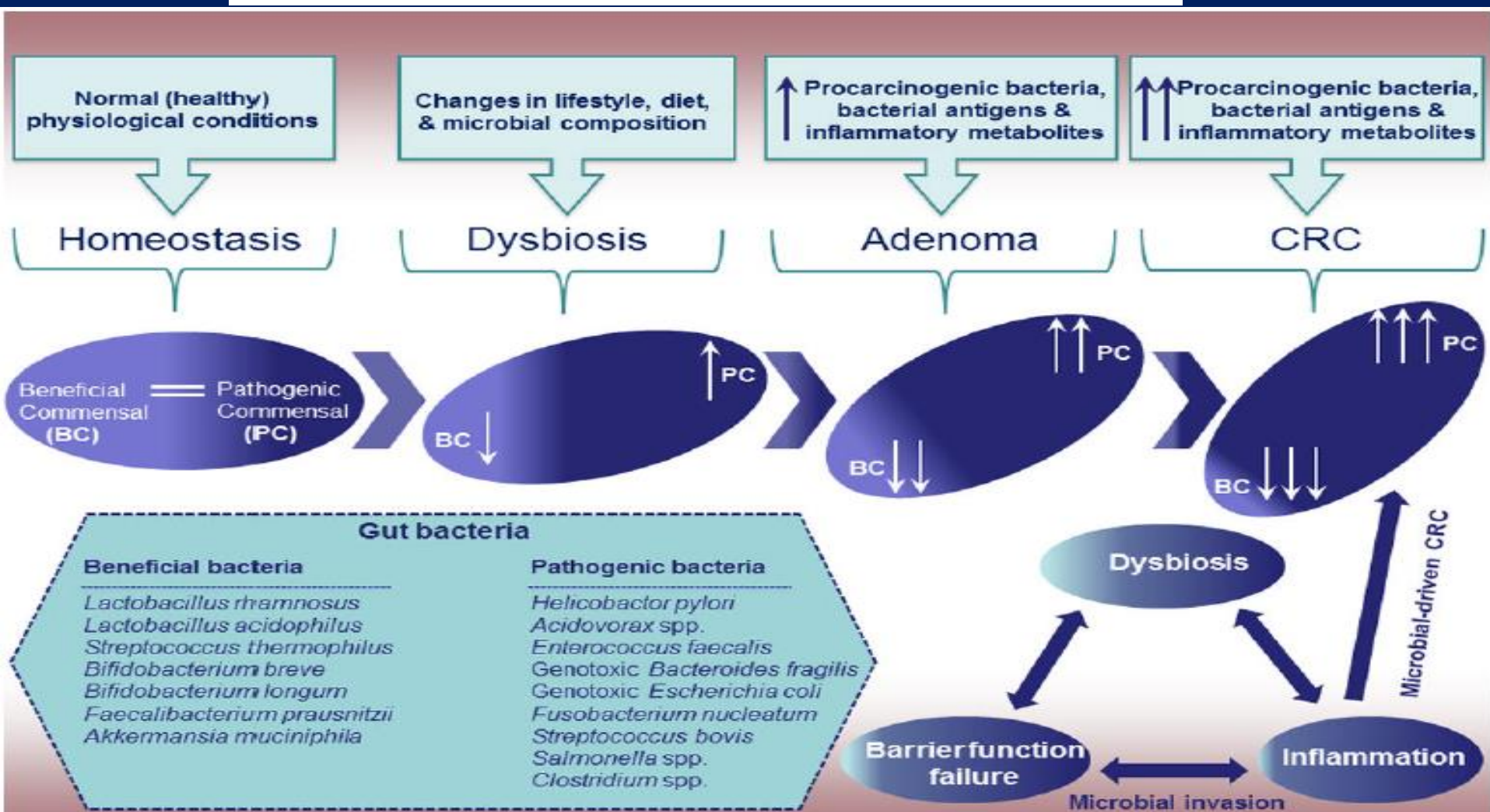


Gut Microbiome and Colorectal Adenomas

Santosh Dulal[‡] and Temitope O. Keku^{†,‡,*}

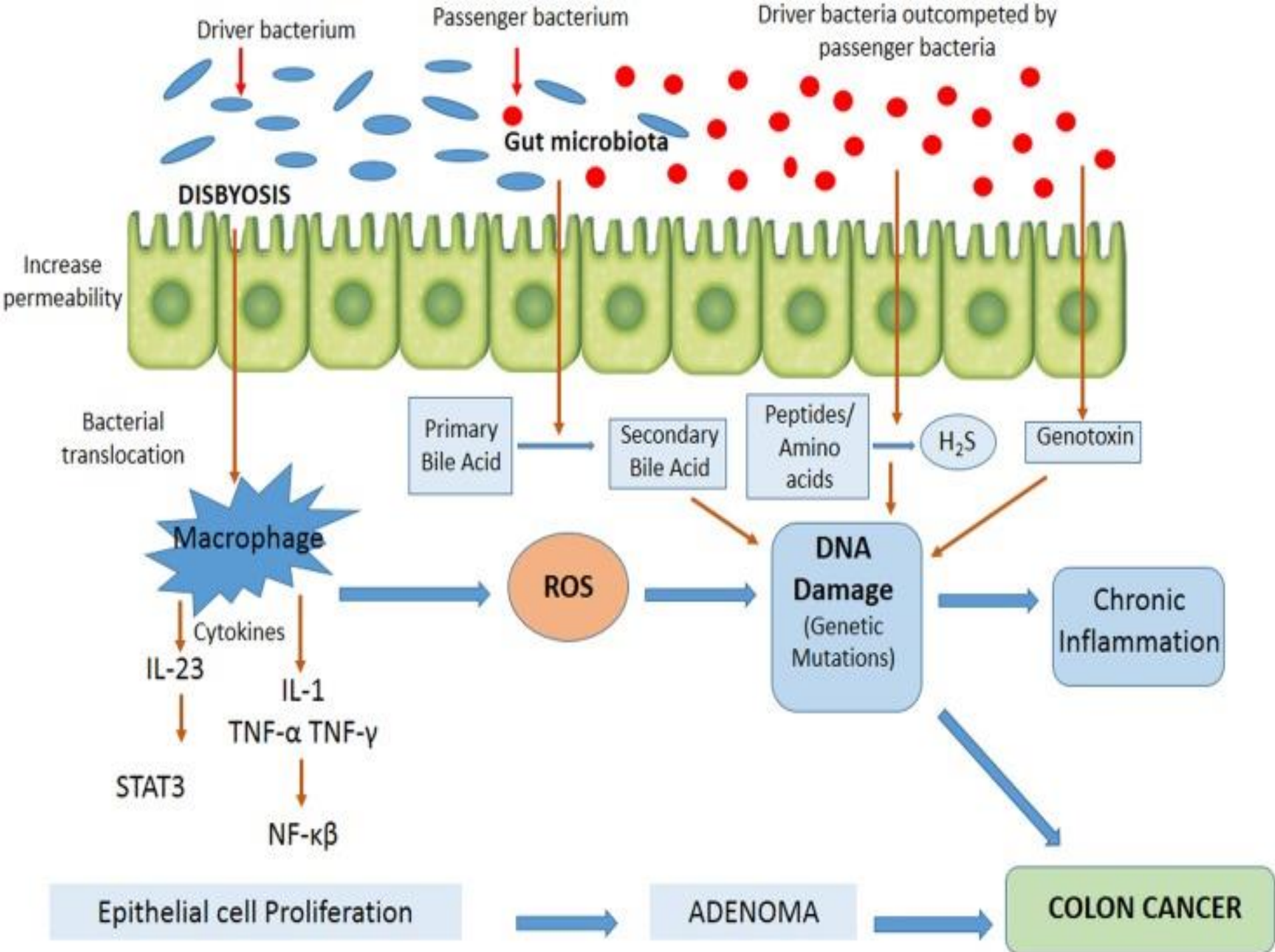
[†]School of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, North Carolina, USA

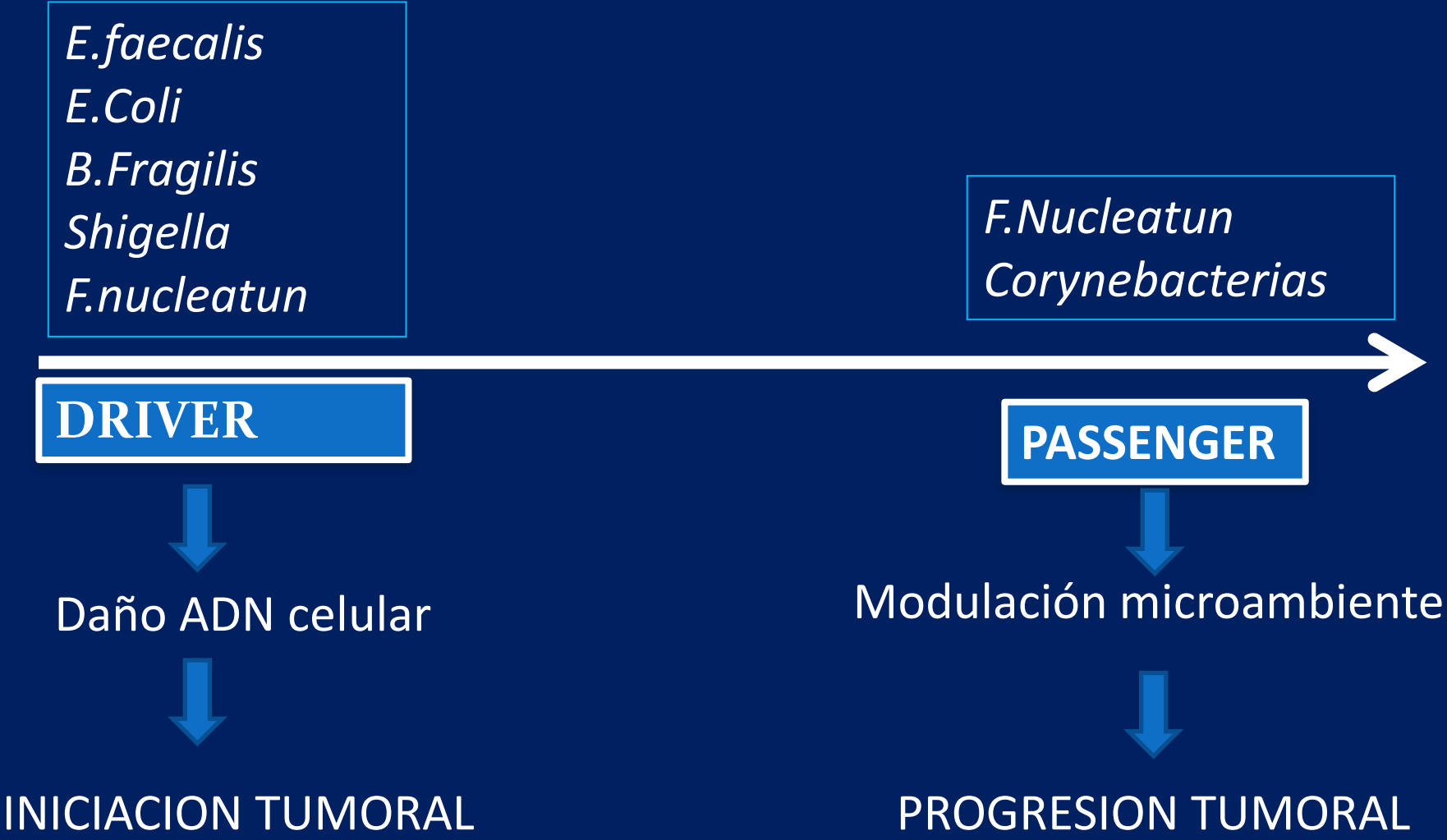
[‡]Center for Gastrointestinal Biology and Disease, and Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, North Carolina, USA



Modelo de carcinogénesis bacteriano

“ DRIVER – PASSENGER ”
(Harold Tjalsma 2012)





Fusobacterium nucleatum (Knorr 1922)

“factores de virulencia”

Proliferación celular (E-cadherina / β -catenina)
Unión endotelio-vascular

Colonización e invasión

Fad A

Fap2

Rad

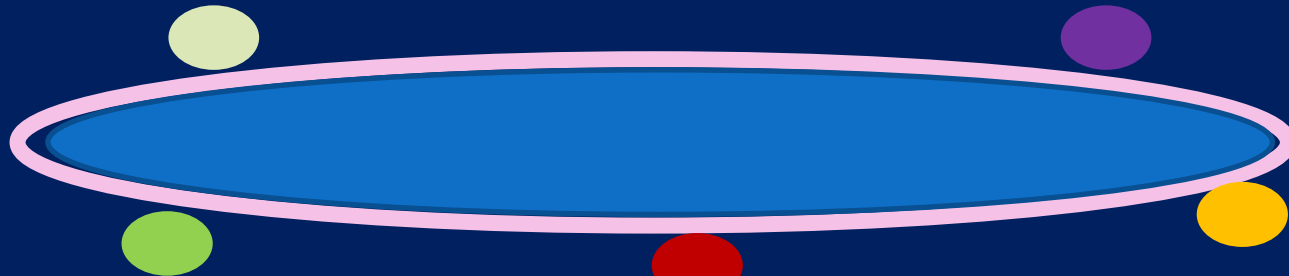
OMVs

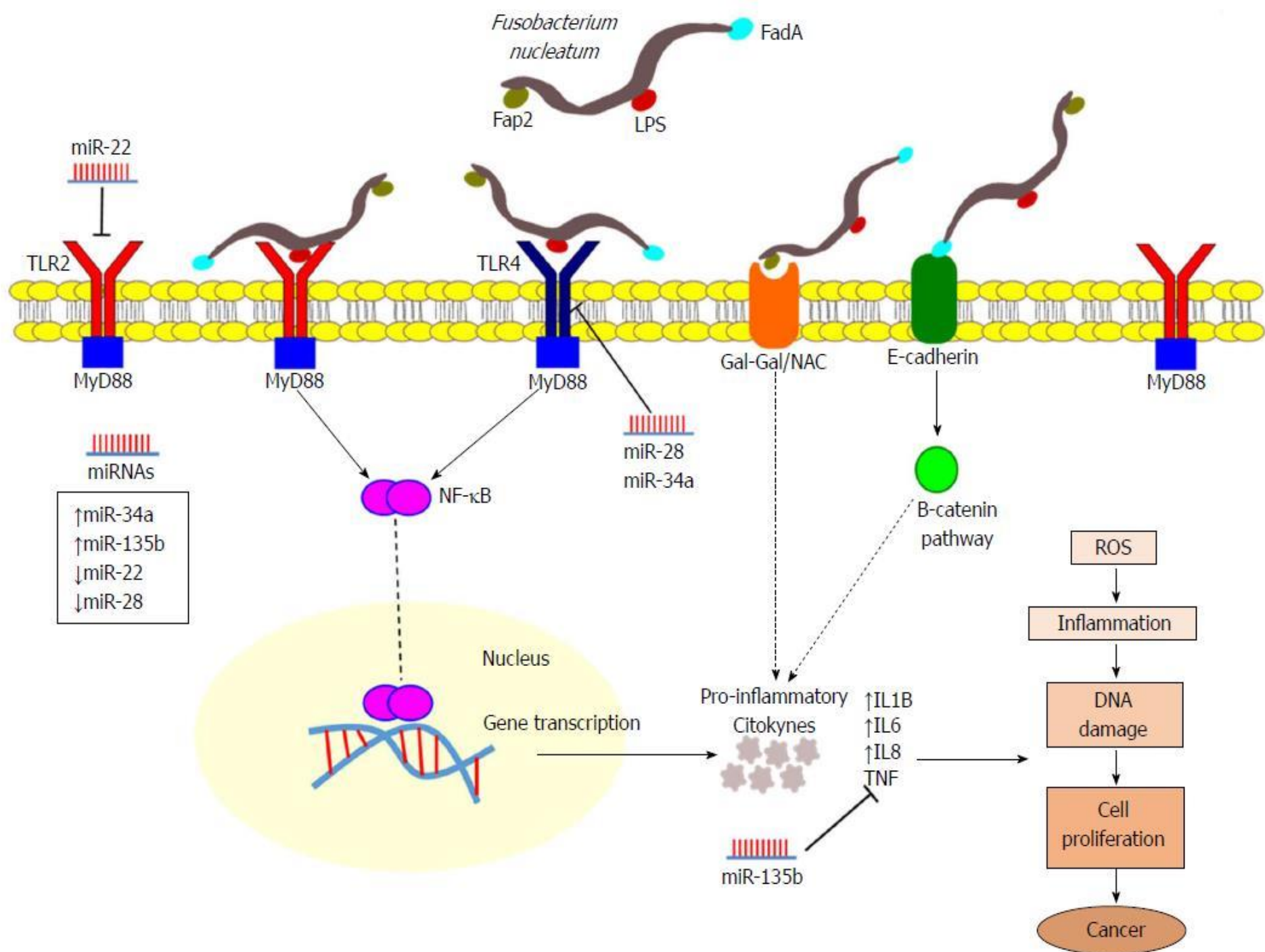
LPs

Formación del biofilm

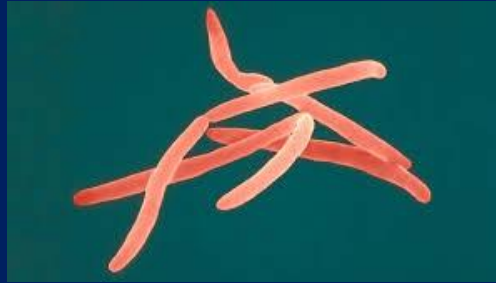
Invasión y metástasis

Producción de citoquinas





Patrones de microbiota en estadios del CCR

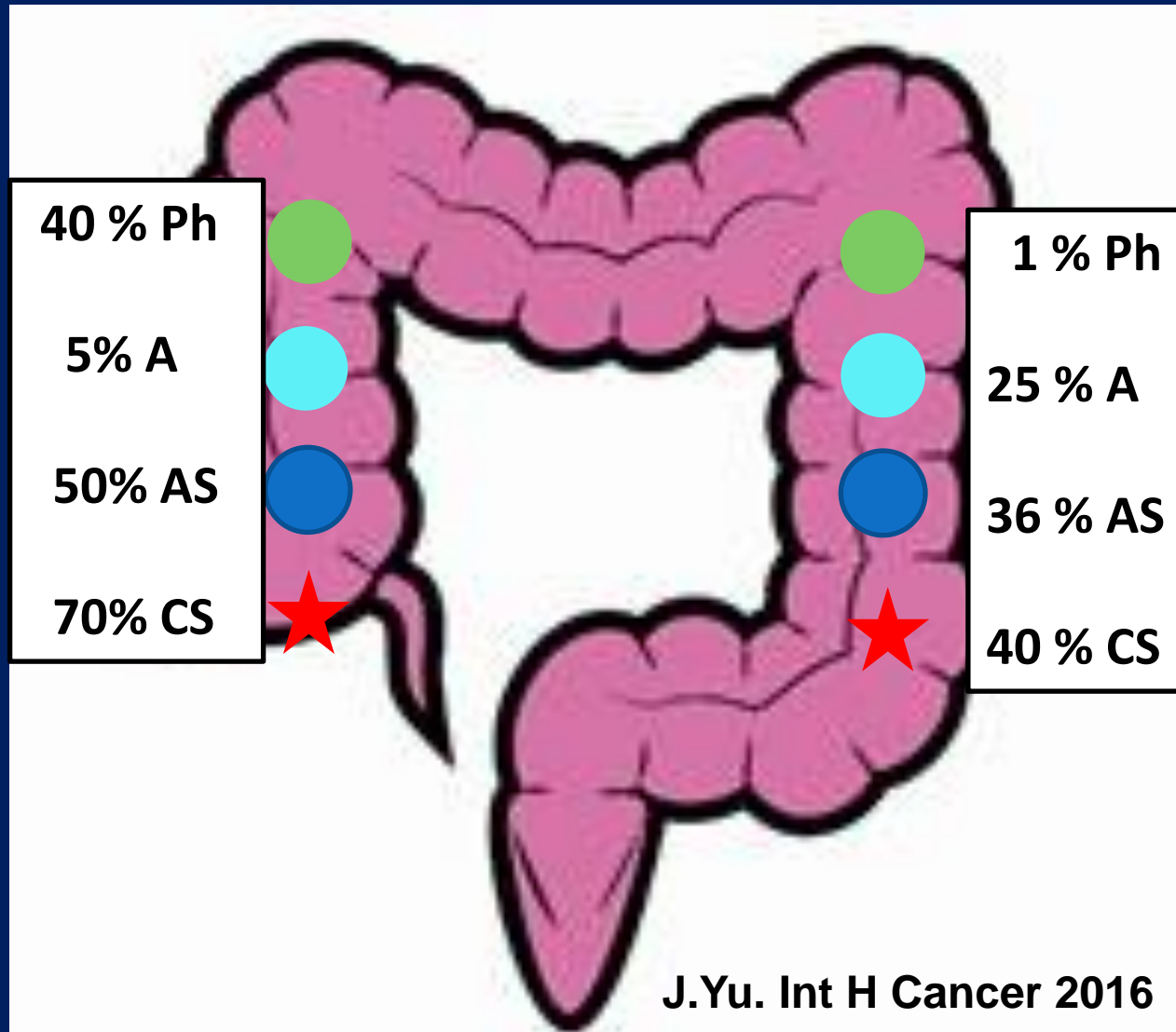


Atopobium parvulum



Actinomyces odontolyticus

Prevalencia de Fn según histología y localización



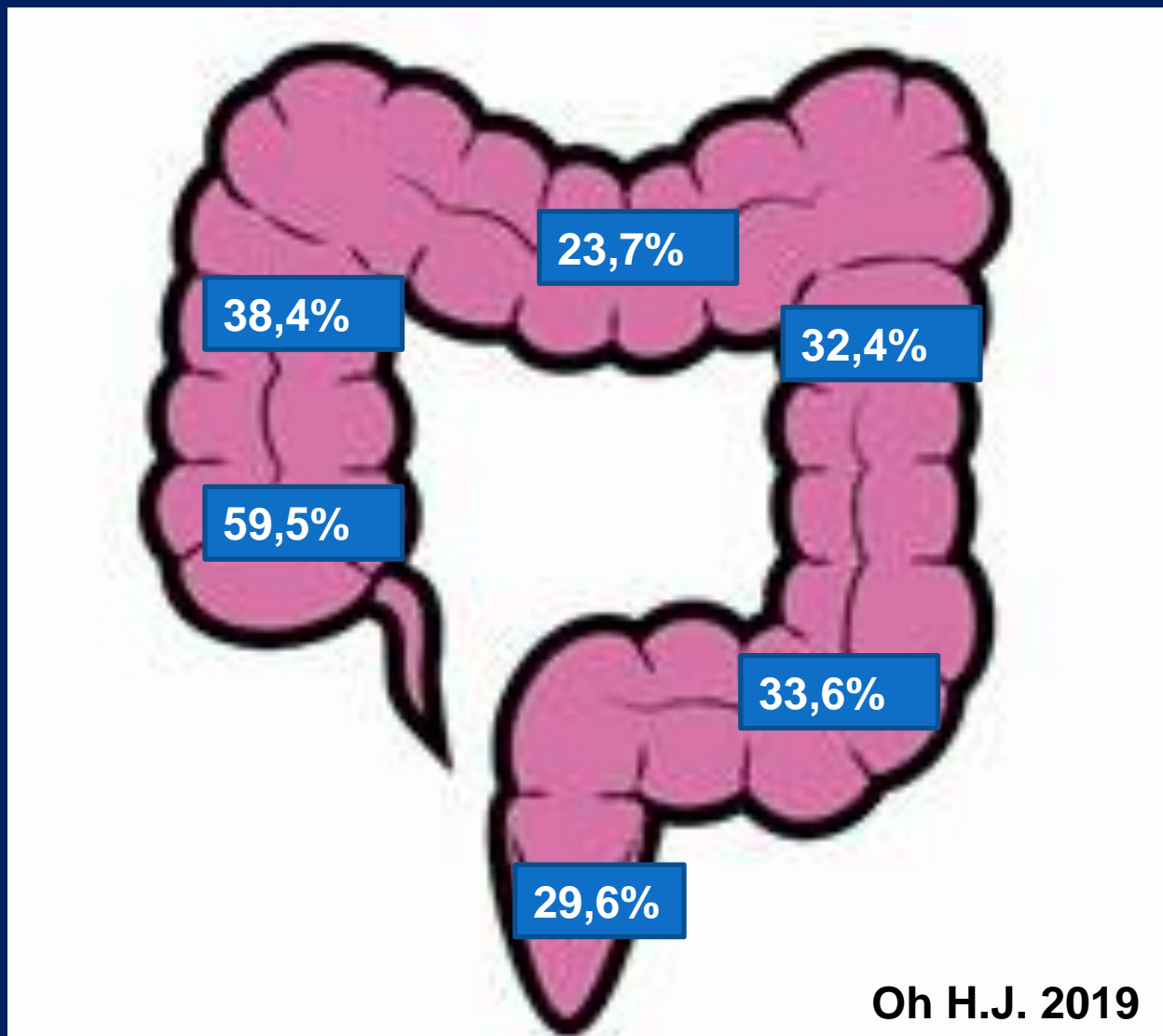
Prevalencia de Fn en CCR y localización

HAMACA

ASCENSOR

CASCADA

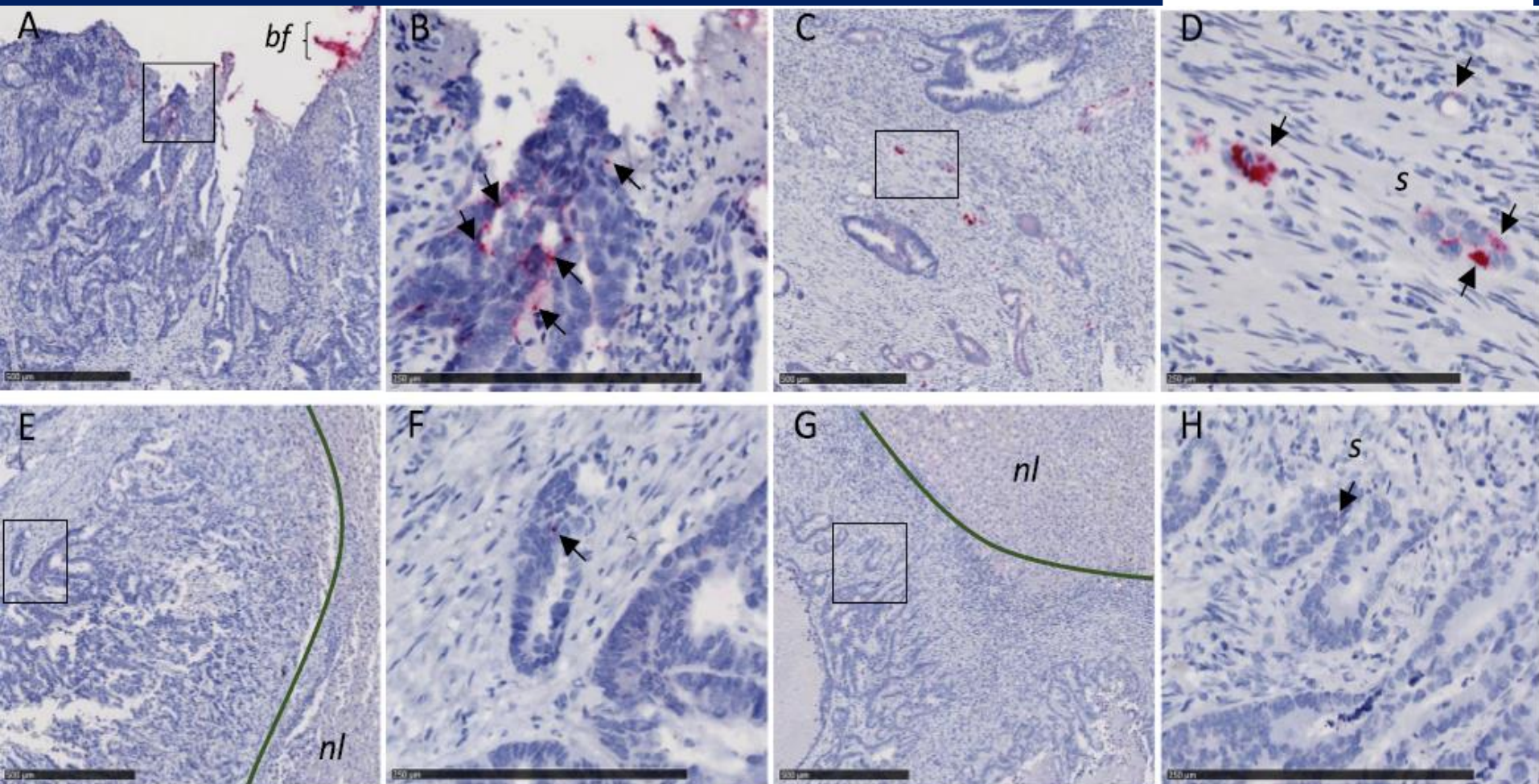
TOBOGAN



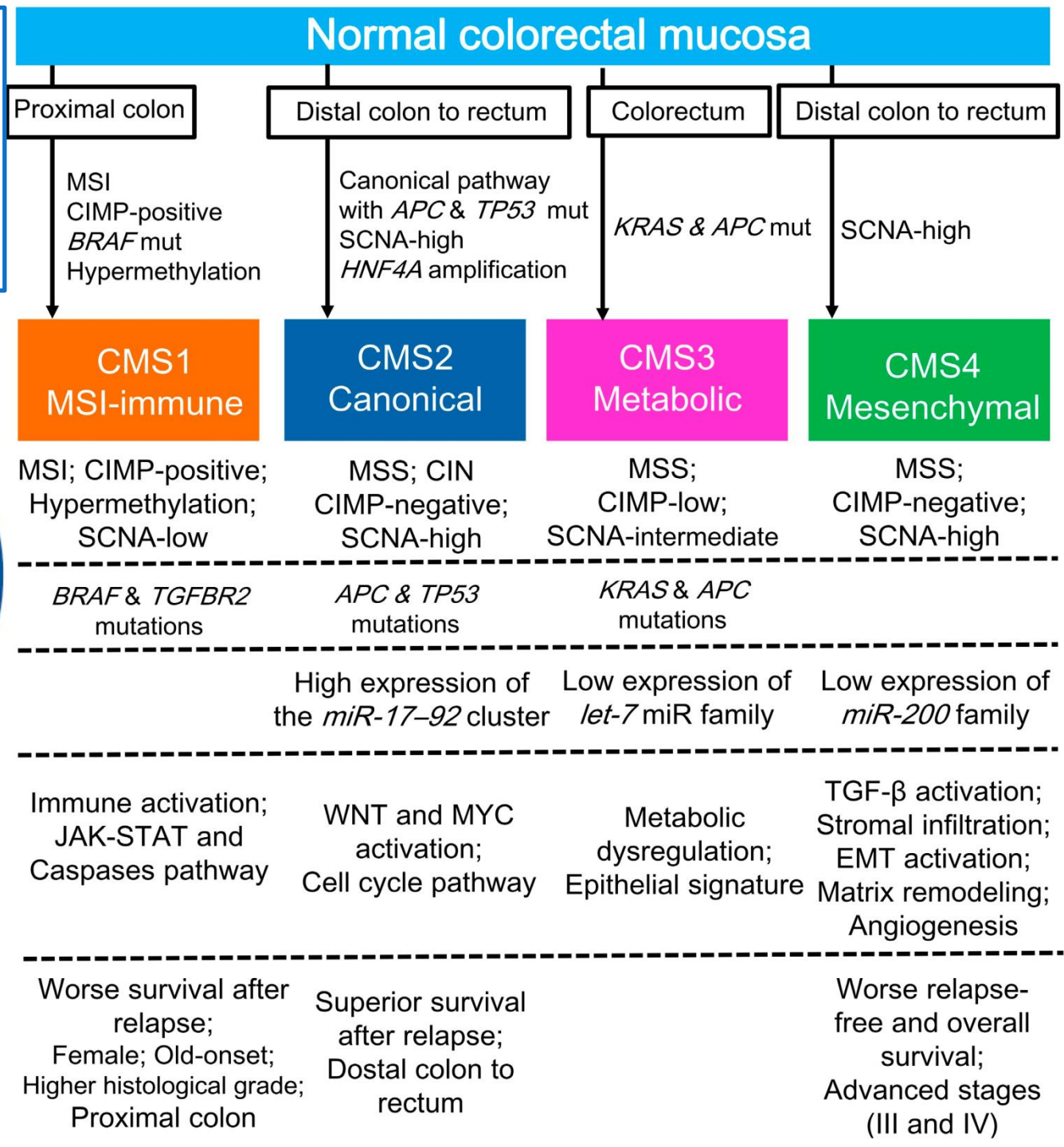
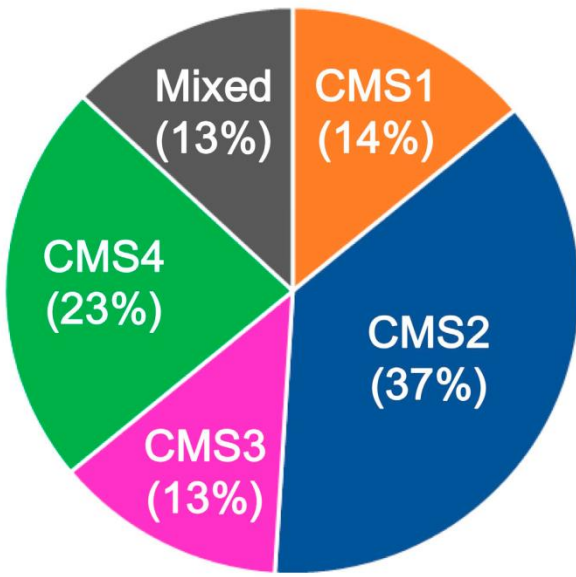
Oh H.J. 2019

Hibridación in situ del Fn

Bullman et al. Science (2017)







Guinney 2015. Consenso sobre los tipos moleculares

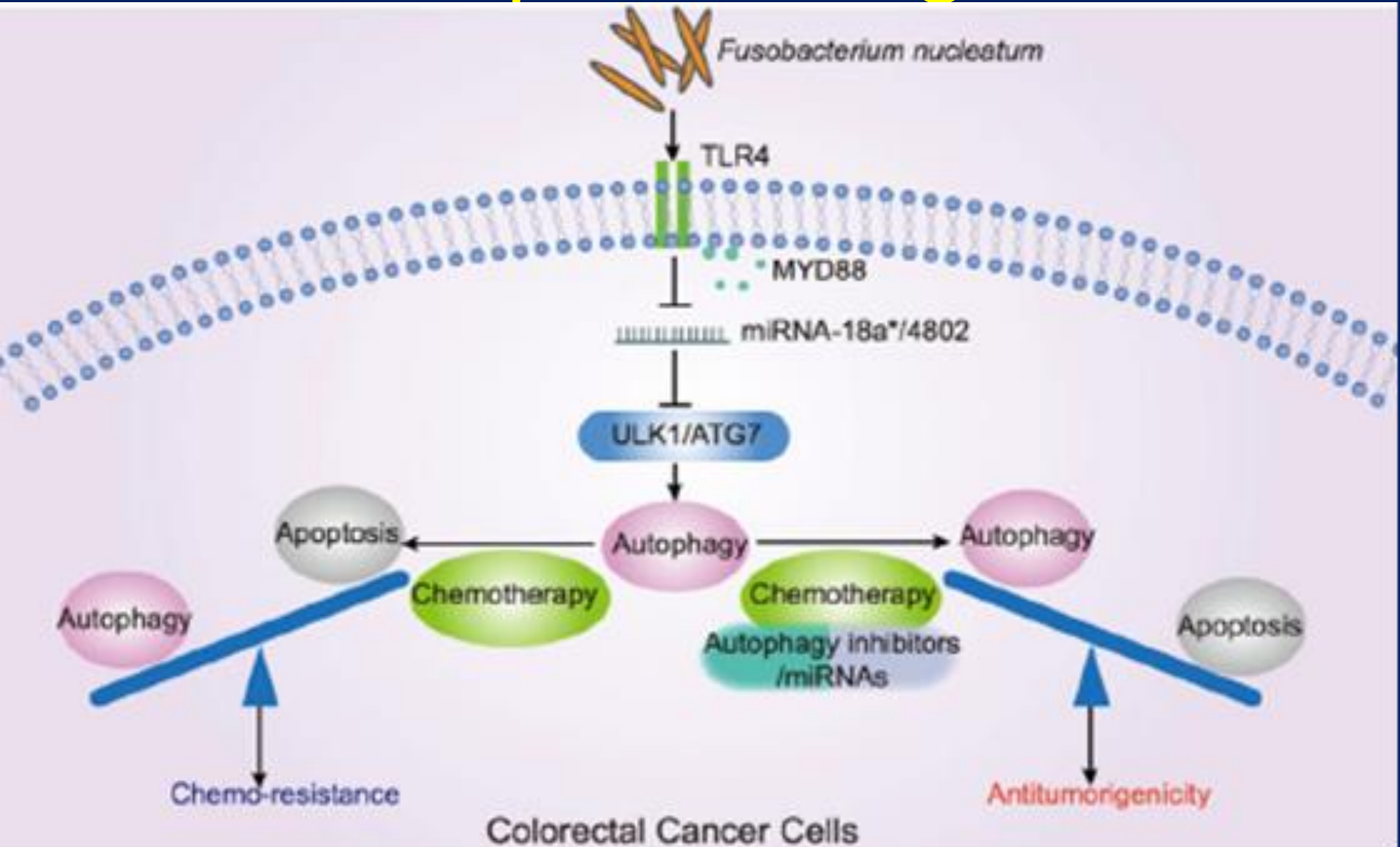


Población microbiana intestinal asociada al subtipo molecular de consenso del CCR

Nowak. J of Pathology 2019/ Purcel. Scientific Reports 2017

- Tipo 1 (CMS-1) 14%  Fn y Porf.  Firm. y Prot.
 - Tipo 2 (CMS-2) 37%  Fn, Sele y Prevot.
 - Tipo 3 (CMS-3) 13%
 - Tipo 4 (CMS-4) 23%
-  SIN DETERMINAR

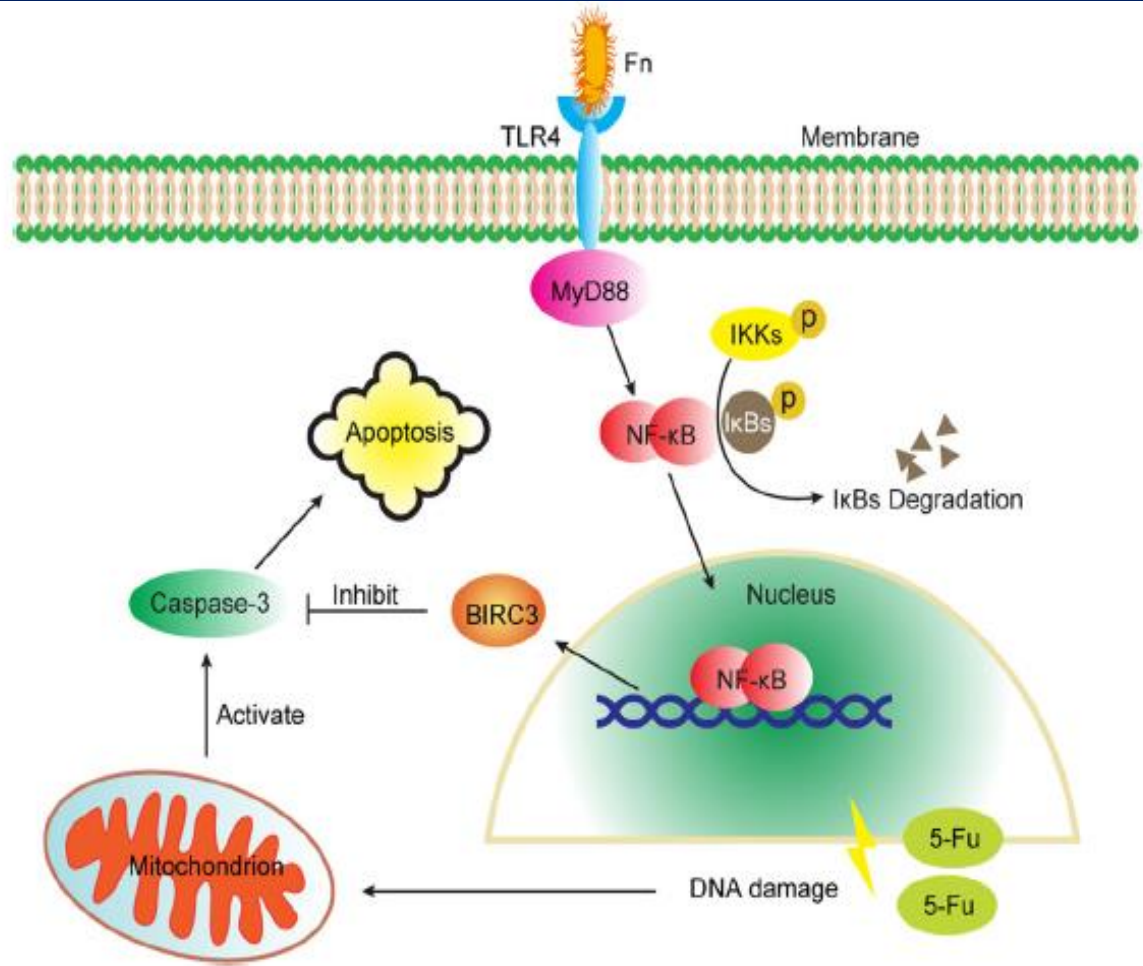
Fn y quimioresistencia por autofagia



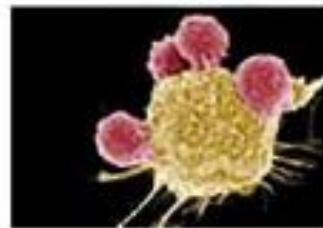
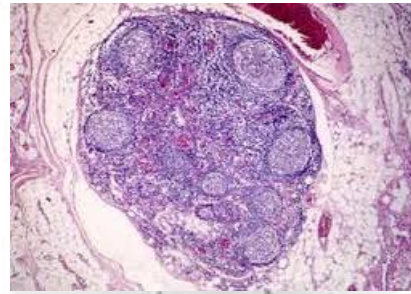
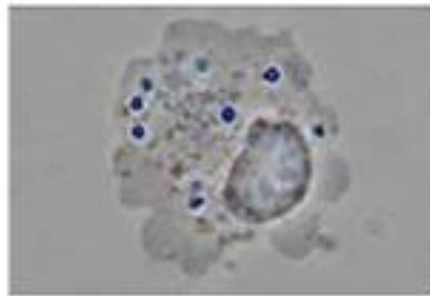
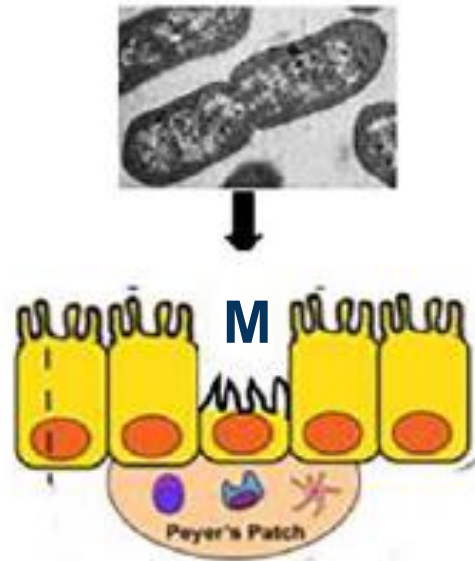
Fusobacterium nucleatum promotes chemoresistance to 5-fluorouracil by upregulation of BIRC3 expression in colorectal cancer

Zhang et al. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* (2019) 38:14
<https://doi.org/10.1186/s13046-018-0985-y>

Sheng Zhang^{1,2}, Yongzhi Yang^{1,2}, Wenhao Weng^{3,4}, Bomin Guo⁵, Guoxiang Cai^{1,2}, Yanlei Ma^{1,2*} and Sanjun Cai^{1,2*}



Microbios intestinales inmunomoduladores



- Bifidobacterium
- Faecalobacterium prausnitzii
- Bacteroides fragilis
- Akkermansia muciniphila

**Cancer Immune Checkpoint Inhibitor
Therapy and the Gut Microbiota**

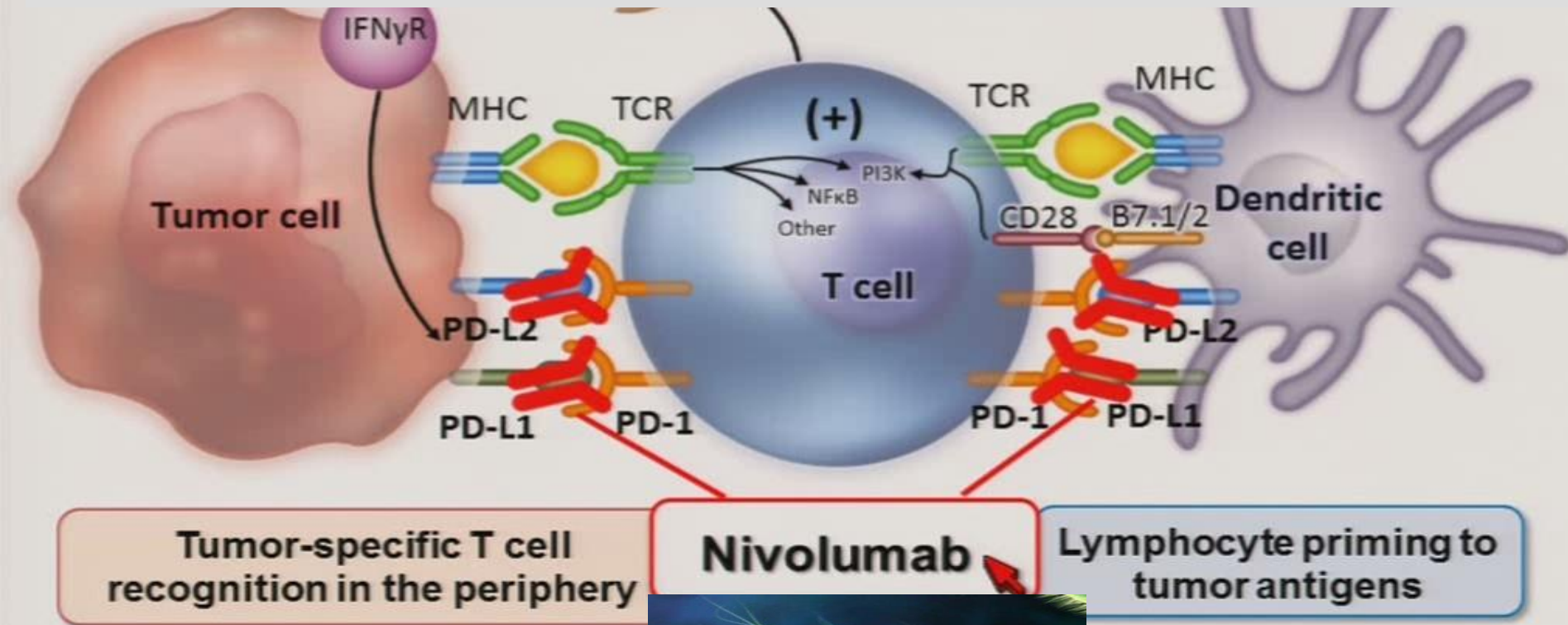
Integrative Cancer Therapies

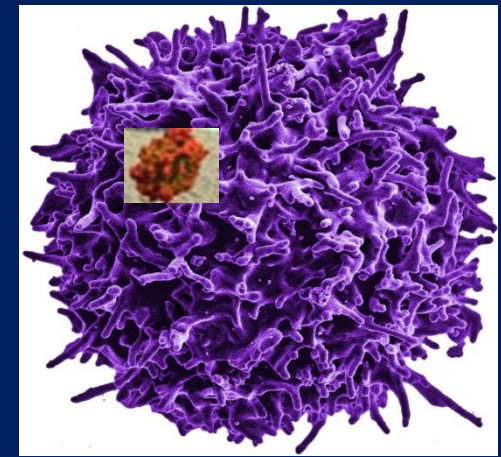
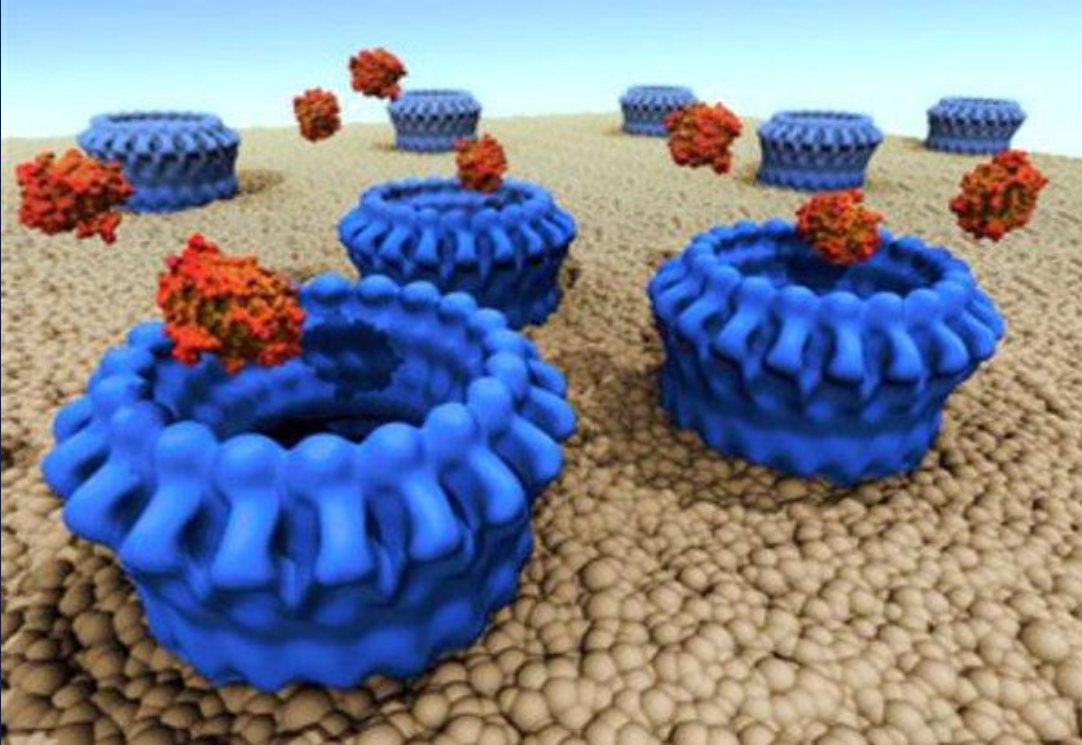
Volume 18: 1-10

© The Author(s) 2019

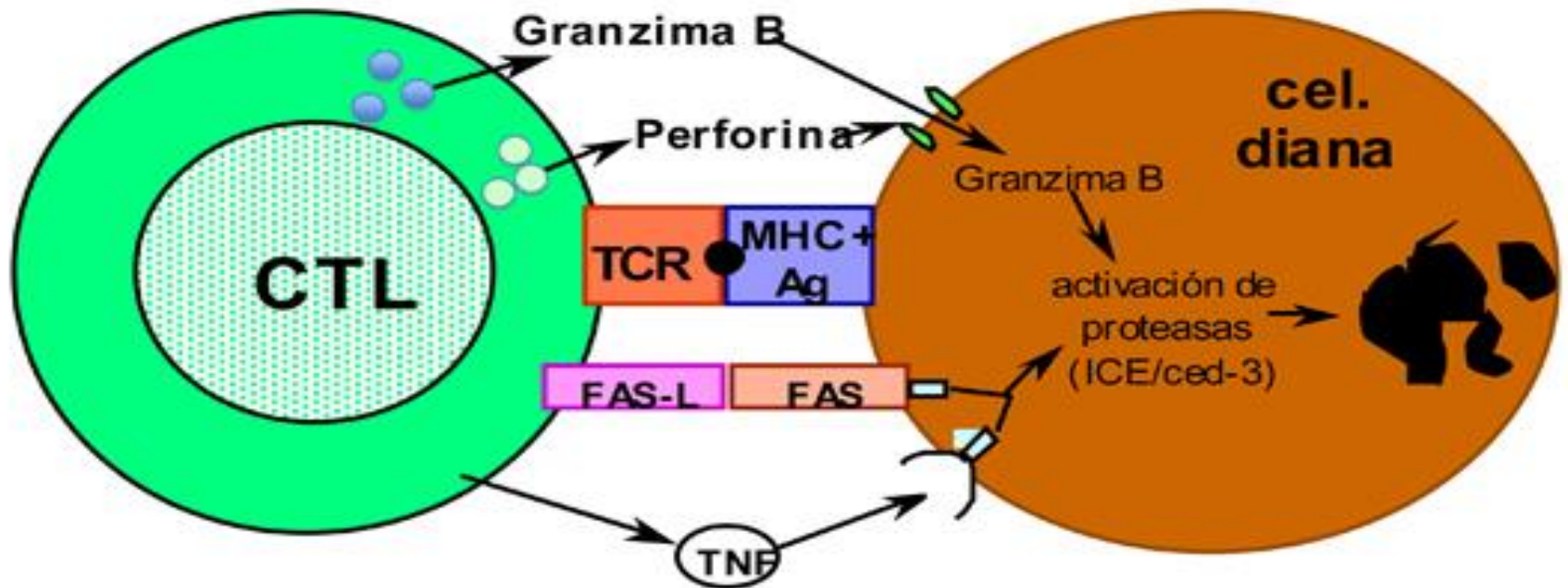
Arthur E. Frankel,

Papel de la vía PD-1 / PDL-1 en la supresión de la inmunidad antitumoral





CD8 T



!! MUERTE AL ENEMIGO !!

- Estrategias de modulación del microbioma:

- ✓ Dieta

- ✓ Bióticos

- ✓ Vacunación con Fn



- ✓ Reemplazamiento del ecosistema (trasplante fecal)

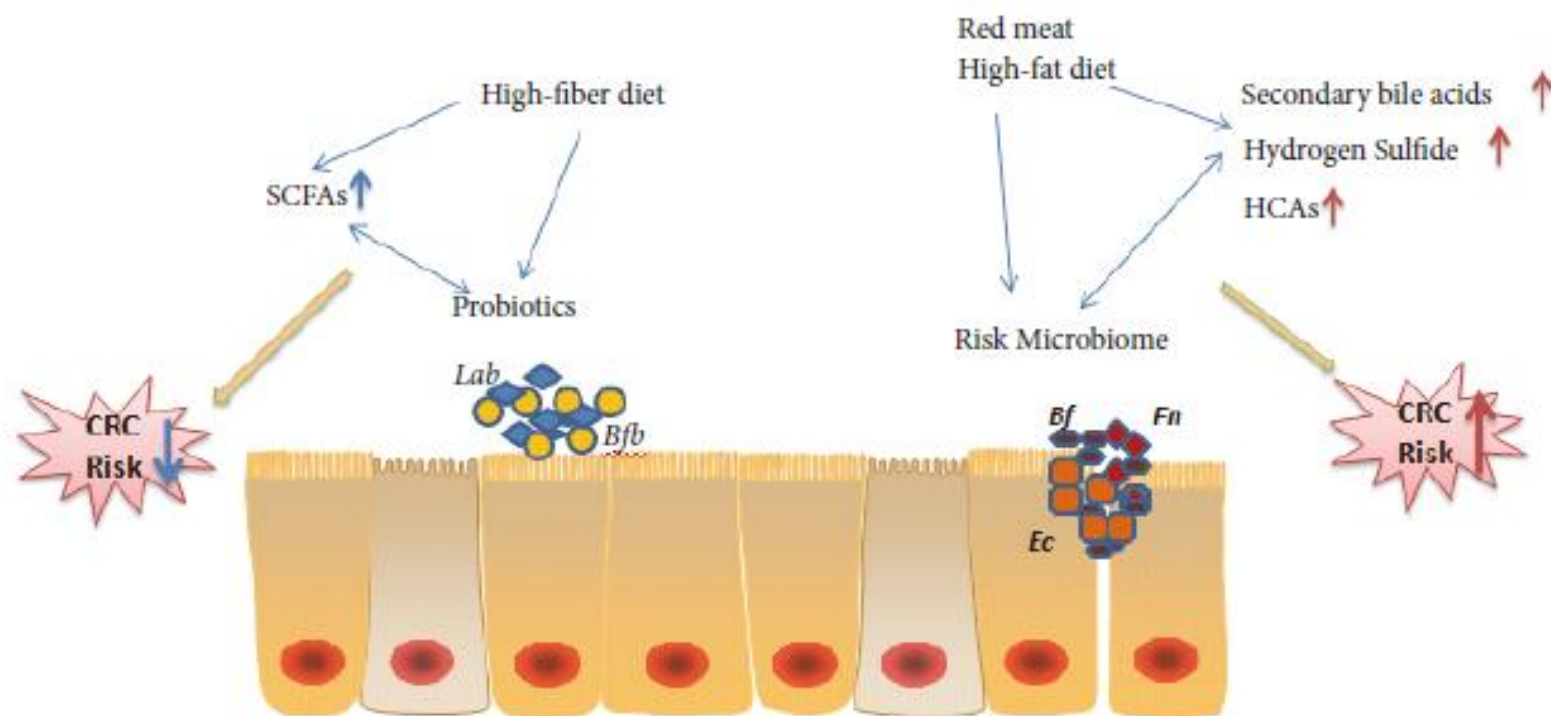


A Reasonable Diet Promotes Balance of Intestinal Microbiota: Prevention of Precolorectal Cancer

Pan Huang  and Yi Liu 

Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Regions and Taoyuan Station of Agro-Ecology Research, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

BioMed Research International
Volume 2019, Article ID 3405278, 10 pages
<https://doi.org/10.1155/2019/3405278>



ENTEROTIPOS Y SU CLASIFICACIÓN

Arumugan. Nature 2011

Costea . Nat. Microbiol 2018

Modelo de estratificar en grupos la composición del microbioma intestinal. Utilizan diferentes rutas para genera energía de las sustancias fermentables y absorbibles por el colon



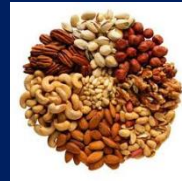
ENTEROTIPOS Y SU CLASIFICACIÓN

“Dime lo que comes y te diré quién eres”

- **ENTEROTIPO 1 (ET-B)** Bacteroides (20-30%)



- **ENTEROTIPO 2 (ET-P)** ... Prevotella (10-15%)



- **ENTEROTIPO 3 (ET-R)**...Ruminococcus (40-60%)



!! MUERTE AL ENEMIGO !!

- Estrategias de modulación del microbioma:

- ✓ Dieta

- ✓ **Bióticos**

- ✓ Vacunación con Fn



- ✓ Reemplazamiento del ecosistema (trasplante fecal)



Probiotics , prebiotics and synbiotics-mechanism of action

PROBIOTICS

- Mutagen binding, degradation and mutagenesis inhibition by probiotics
- Prevention of nontoxic procarcinogen conversion to harmful, toxic and highly reactive carcinogens
- Lowering of intestinal pH by short chain fatty acids (SCFA) produced during non-digestible carbohydrates degradation
- Modulation and enhancement of the host's innate immunity through the secretion of anti-inflammatory molecules.

SYNBIOTICS

- Facilitates apoptotic response to carcinogen induced DNA damage in the colon
- Enhance colonization, stimulate growth, survival and activity of probiotic with selective prebiotic substrate
- SCFA production
- Down regulation of carcinogenic enzymes e.g. inducible NO synthase and cyclooxygenase-2 expression
- Immunomodulation

PREBIOTICS

- Stimulate beneficial indigenous bacteria in the gut
- SCFA production
- Mineral metabolism
- Modulation of xenobiotic metabolizing enzymes
- Immunomodulation

+

METABIÓTICOS

!! MUERTE AL ENEMIGO !!

- Estrategias de modulación del microbioma:

- ✓ Dieta

- ✓ Bióticos

- ✓ Vacunación con Fn



- ✓ Reemplazamiento del ecosistema (trasplante fecal)



!! MUERTE AL ENEMIGO !!

- Estrategias de intervención sobre el microbioma:

- ✓ Terapia basada en fago



- ✓ Terapia antibiótica (Metronidazol)

- ✓ Terapia diana contra Fap2

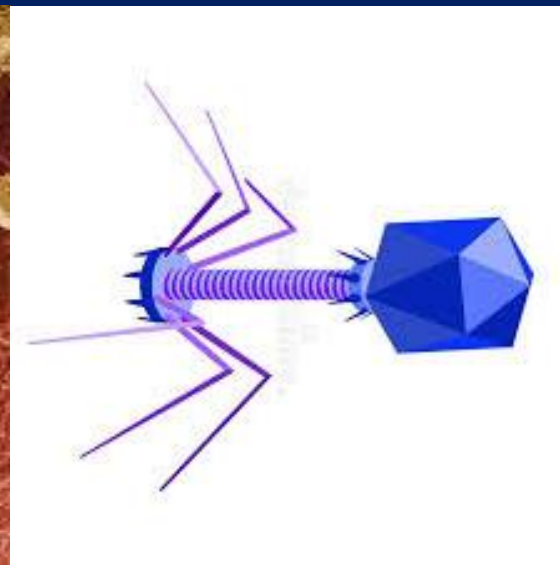
Genomic, morphological and functional characterisation of novel bacteriophage FNU1 capable of disrupting *Fusobacterium nucleatum* biofilms

Mwila Kabwe¹, Teagan L. Brown¹, Stuart Dashper², Lachlan Speirs¹, Heng Ku¹, Steve Petrovski³, Hiu Tat Chan⁴, Peter Lock⁵ & Joseph Tucci¹

SCIENTIFIC REPORTS | (2019) 9:9107 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45549-6>



BIOFILM



**BACTERIOFAGO
FNU1**

!! MUERTE AL ENEMIGO !!

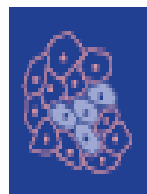
- Estrategias de intervención sobre el microbioma:

- ✓ Terapia basada en fago



- ✓ Terapia antibiótica (Metronidazol)

- ✓ Terapia diana contra Fap2



Review

Targeting Programmed *Fusobacterium nucleatum* Fap2 for Colorectal Cancer Therapy

Kumar Ganesan ¹, Songhe Guo ², Sundaz Fayyaz ³, Ge Zhang ^{2,*} and Baojun Xu ^{1,*}

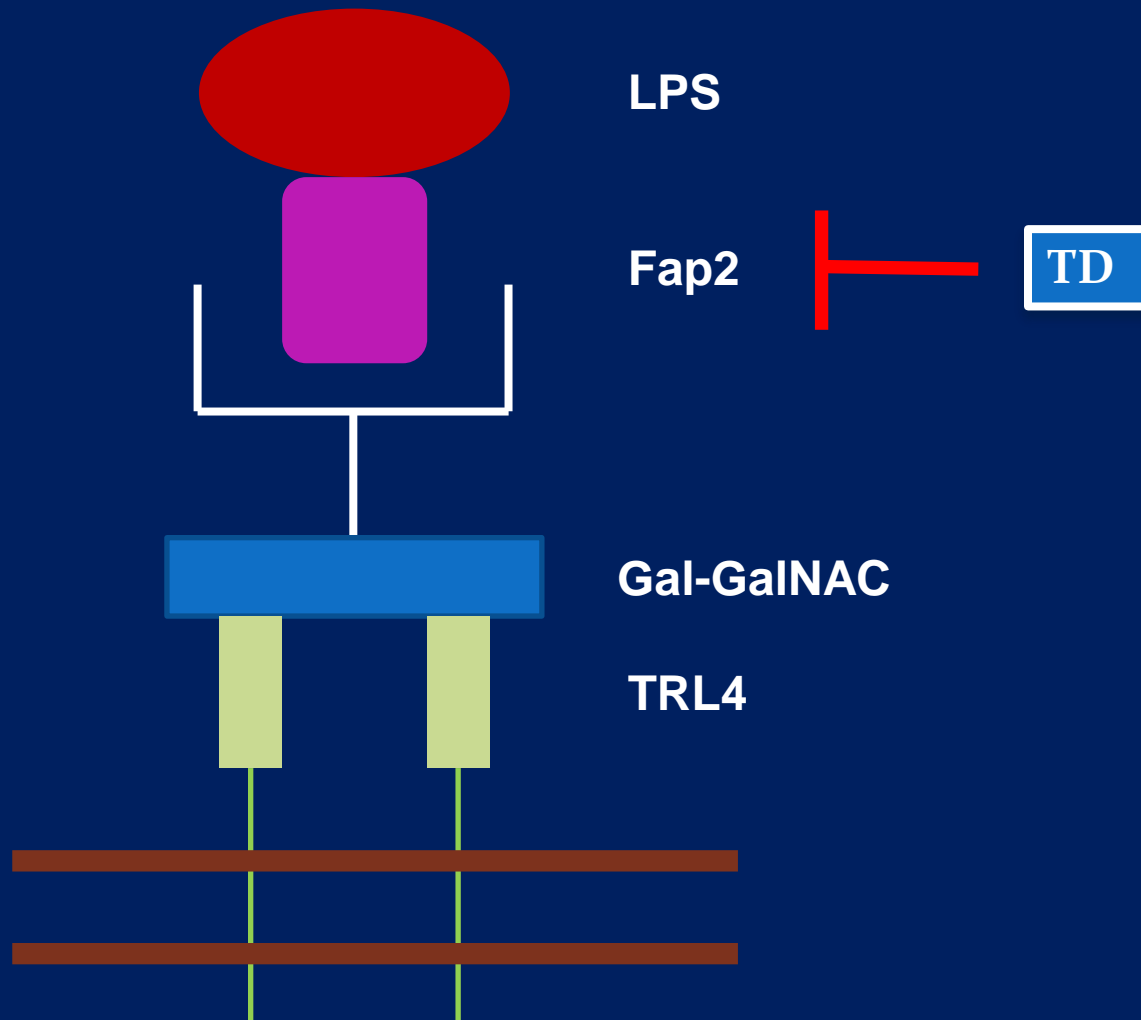
¹ Food Science and Technology Program, Beijing Normal University-Hong Kong Baptist University United International College, Zhuhai 519087, China; kumarg@hku.hk

² Department of Microbial and Biochemical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China; guosonghe@126.com

³ Laboratory for Translational Oncology and Personalized Medicine, Rashid Latif Medical College, Lahore 44000, Pakistan; sundas.khan23@yahoo.com

* Correspondence: zhangge@mail.sysu.edu.cn (G.Z.); baojunxu@uic.edu.hk (B.X.);
Tel.: +86-020-39943027 (G.Z.); +86-756-3620636 (B.X.); Fax: +86-756-3620882 (B.X.)

Diana terapéutica frente a Fap2 para CCR



Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer

Yu J, et al. *Gut* 2017;**66**:70–78. doi:10.1136/gutjnl-2015-309800

Este es el primer estudio que realiza estudio metagenómico para detectar la presencia de Fn en heces como marcador de la presencia de adenomas y carcinoma colorectal

PUNTOS A CONSIDERAR:

- **Fn** es la bacteria más relacionada con CCR y con más frecuencia en la vía serrada (Galán J 2015)
- En diferentes estudios epidemiológicos, se considera la más frecuente en España (incluido Murcia.-J.Galán)
- **Fn** es más frecuente en CCR derecho que izquierdo por la formación de biofilm

- **Fn** es más frecuente en CCR derecho que izquierdo por la formación de biofilm
- En estadios avanzados de CCR peor pronóstico si existe colonización de **Fn**
- El perfil molecular según la vía CCR (Galán J) en la forma convencional (aumento de **Fn**, disminución de **Am**), y en la vía serrada (aumento de **Fn** y **Strep.**, disminución de **Am**)

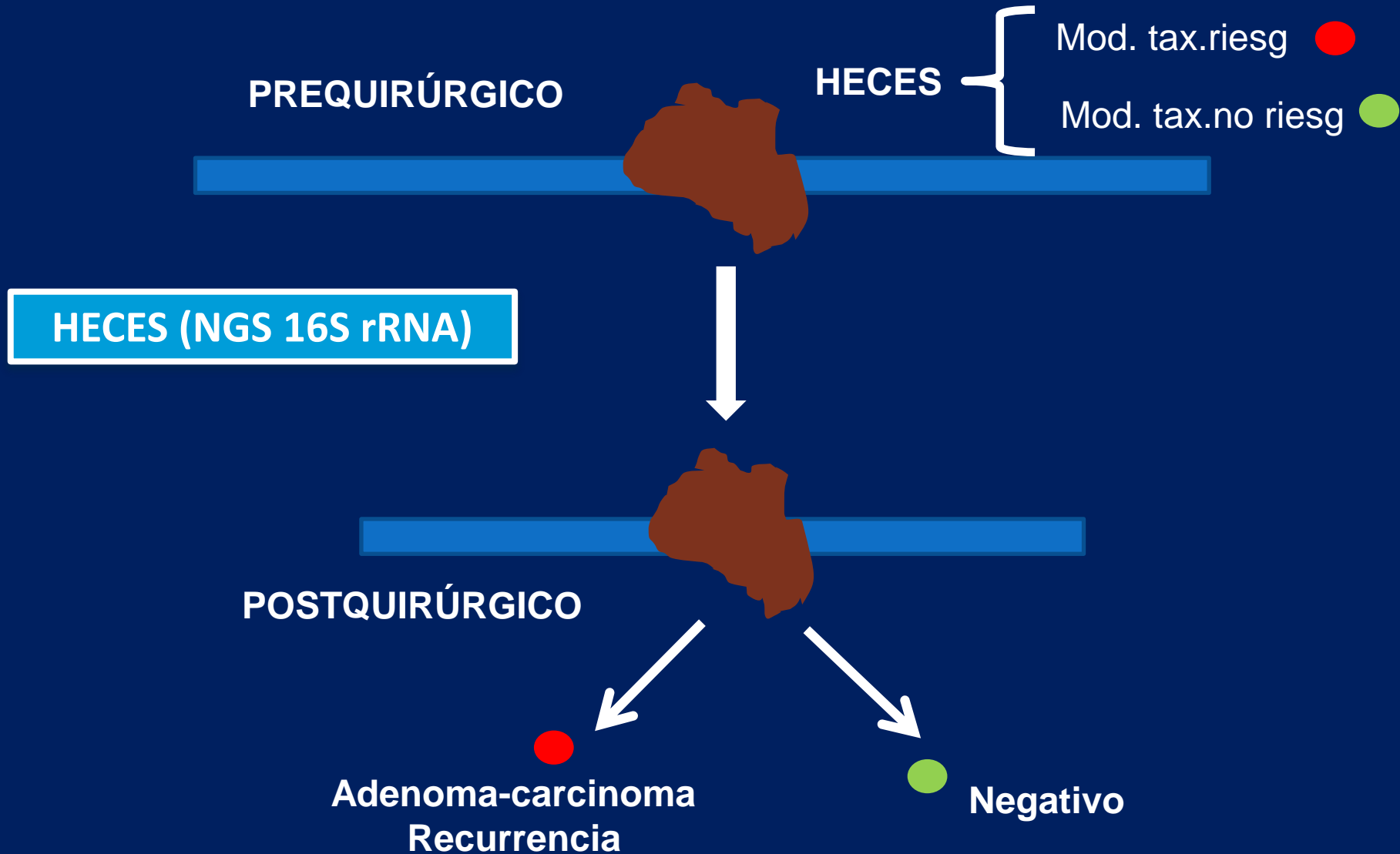
- **Fn** está relacionado con el tipo molecular IMS y con el subtipo molecular CMS-1 (Inmune)
- **Fn** acompañada a las células tumorales (biopsia líquida) y participa en las metástasis hepáticas (Niciforo y Santiago Ramón Cajal)
- **Fn** interviene en la quimioresistencia (5-Fu) por inhibición de la autofagia
- **Am** interviene en el desbloqueo de puntos de control PD1-PDL1 haciendo más efectiva la inmunoterapia

CONCLUSIONES

- ✓ El CCR no es solo una enfermedad genética sino también microbiana, siendo **Fn** el microorganismo predominante
- ✓ La presencia de **Fn** oscila entre 8 - 61% en diferentes estudios (según métodos de secuenciación)
- ✓ La detección de **Fn** y/o su proteína Fap2 en heces, podrían ser utilizados como biomarcadores diagnósticos de CCR

- ✓ Posibilidad de modular la microbiota intestinal (antibiótico como tratamiento potencial de **Fn** asociado a CCR)
- ✓ La presencia de **Fn** en la metástasis hepática no es un fenómeno pasajero, sino que puede ser un “conductor” para su desarrollo
- ✓ Recientemente se ha desarrollado un bacteriófago FNU1 capaz de penetrar en el biofilm y anular la acción bacteriana de **Fn**

Gut microbiota in patients after surgical treatment for colorectal cancer



GRACIAS

EL MOTOR DE NUESTRA VIDA

