

Nueva herramienta biotecnológica para el tratamiento de tumores sólidos cancerosos: transformación genética de bacterias anaerobias.

New biotechnological tool for the treatment of solid cancerous tumors: genetic transformation of anaerobic bacteria.

*María Alejandra Martínez Delgado**, *Stefanny Melissa Bejarano Díaz***

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v26n2.116050

RESUMEN

El cáncer representa una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial debido a su comportamiento y a la carga de resistencia a los tratamientos convencionales; esto, ha impulsado a explorar otras alternativas terapéuticas más específicas y con una toxicidad limitada hacia los tejidos circundantes. La terapia contra el cáncer mediada por bacterias se basa en el tropismo inherente de las bacterias por regiones hipóxicas de los tumores sólidos y su capacidad para ser manipuladas genéticamente como un vector para la terapia farmacológica considerándose como un arma potencial contra esta enfermedad, debido a que reducen la tasa de crecimiento de células aberrantes involucrando las respuestas inmunitarias del huésped y las respuestas moleculares celulares. En esta revisión, se presenta esta terapia novedosa haciendo énfasis en los géneros y especies bacterianas más estudiadas y los diversos mecanismos implicados en el direccionamiento y la supresión tumoral.

Palabras clave: cáncer, bacterias anaerobias, terapia oncológica, vector, regiones hipóxicas.

ABSTRACT

Cancer represents one of the leading causes of mortality worldwide due to its behavior and the burden of resistance to conventional treatments. This has driven the exploration of other therapeutic alternatives that are more specific and have limited toxicity to surrounding tissues. Bacteria-mediated cancer therapy is based on the inherent tropism of bacteria for hypoxic regions of solid tumors and their ability to be genetically manipulated as vectors for pharmacological therapy, considered a potential weapon against this disease. This approach reduces the growth rate of aberrant cells by involving the host's immune responses and cellular molecular responses. This review presents this novel therapy, emphasizing the most studied bacterial genera and species, as well as the various mechanisms involved in tumor targeting and suppression.

Key words: cancer, anaerobic bacteria, oncology therapy, vector, hypoxic regions.

Recibido: julio 31 de 2024 **Aprobado:** octubre 25 de 2024

* Pregrado en Bacteriología y laboratorio clínico. Facultad de Ciencias de la salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá DC; Colombia. martinezmariaalejandra18@gmail.com

** Pregrado en Bacteriología y laboratorio clínico. Facultad de Ciencias de la salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá DC; Colombia. melissabejaranodiaz7@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las bacterias representan los organismos vivos más abundantes en la biosfera y aunque muchas de ellas son patógenas para el ser humano, se han documentado numerosos efectos beneficiosos en diferentes géneros y especies que han sido exploradas con fines terapéuticos (Chang W, Lee C; 2014). Los primeros intentos modernos se realizaron hace más de 100 años. En aquel entonces se demostró experimentalmente que ciertas especies bacterianas podían replicarse predominantemente en tumores sólidos, especialmente en las regiones hipóxicas.

El médico estadounidense William Coley (1862-1936) es reconocido como el precursor de la inmunoterapia oncológica. Sus estudios se fundamentaban en la administración de una solución bacteriana compuesta por *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens* en pacientes adolescentes o adultos jóvenes con sarcomas óseos inoperables; particularmente, sarcoma osteogénico u osteosarcoma. Durante su carrera, Coley administró su formulación, conocida como “toxina de Coley”, a más de 1000 pacientes, desarrollada para inducir una respuesta inmunitaria antitumoral mediante la estimulación de pirógenos y una reacción inflamatoria sistémica. Se cree que su mecanismo de acción involucraba la activación del sistema inmunológico, promoviendo la liberación de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF), lo que ayudaba a reconocer y destruir células cancerosas. Siempre que las condiciones lo permitían, inyectaba la solución directamente en la masa tumoral primaria o en sus proximidades, incrementando la dosis progresivamente a lo largo del tratamiento (López MM, Cardona AF; 2021) (Nauts., Swift & Coley, 1946).

Según sus registros, un tratamiento prolongado y la aparición de fiebre se correlacionaban con el éxito de la terapia (Sampieri R, Calderón E; 2023). Un ejemplo específico es el caso de un paciente con un sarcoma de cuello inoperable que, tras la administración de las toxinas y la inducción de fiebre alta, experimentó una remisión completa y vivió más de 26 años sin recurrencia. En otro estudio retrospectivo realizado por H.C. Nauts en 1946, se revisaron 896 casos tratados por Coley y se observó que pacientes con sarcomas y carcinomas que recibieron las toxinas tenían tasas de supervivencia superiores a las obtenidas con tratamientos convencionales de la época (como cirugía o radioterapia). Por ejemplo, en algunos tipos de sarcomas, las tasas de supervivencia a 5 años en pacientes tratados con toxinas alcanzaron el 50%, significativamente más altas que en aquellos que no recibieron el tratamiento. En numerosos casos se reportó regresión tumoral, y en algunos pacientes se logró la completa erradicación de la masa tumo-

ral primaria, alcanzando un estado libre de enfermedad (Orange N *et al.*; 2016).

Sin embargo, existieron casos de pacientes que desarrollaron una infección sistémica mortal; por lo cual, en los últimos años, se ha considerado una manera de “reprogramar las bacterias genéticamente”, es decir, alterar la composición del ADN con fines prácticos, en la búsqueda de agentes biológicos capaces de potenciar los tratamientos convencionales (Shengwei *et al.*; 2023).

A pesar de la eficiencia de dichas terapias en un número significativo de pacientes, surgen dos desafíos adicionales: los tumores desarrollan mecanismos de resistencia y/o metástasis (Zugazagoitia *et al.*; 2016). En consecuencia, resulta fundamental continuar avanzando en la comprensión de la biología del cáncer, identificando nuevas vías celulares implicadas en la formación y expansión de tumores, así como factores que puedan anticipar la respuesta a diversos tratamientos. En este contexto, el presente artículo revisa los géneros y especies bacterianas más estudiadas y los diversos mecanismos implicados en el direccionamiento y la supresión tumoral.

METODOLOGÍA

Según el análisis y alcance de los resultados, el presente artículo es de tipo narrativo, ya que la búsqueda de la información fue basada en trabajos realizados por otros investigadores.

Universo

Artículos científicos y de revisión en inglés y español y pruebas clínicas en inglés y español relacionados con el tema: bacterias genéticamente modificadas para el tratamiento del cáncer en un período comprendido del 2014-2024.

Análisis bibliométrico

Se evaluó y analizó la producción de literatura científica publicada mediante la herramienta Scopus.

Revisión de la información

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica detallada en las bases de datos que se muestran en la Figura 1. Bases de datos disponibles en la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; para obtener artículos relevantes para este artículo. Los estudios se obtuvieron de acuerdo con una combinación de palabras (gene therapy bacteria and cancer), (gene transformation bacteria “cáncer”) y operadores booleanos (AND, OR, NOT). Todos los estudios evaluados fueron en un período de tiempo entre los años 2014-2024.

Figura 1. Bases de datos consultadas. Realización propia

Además, se efectuó una búsqueda en los registros de ensayos clínicos (ClinicalTrials.gov, la Plataforma de Registro Internacional de Ensayos Clínicos de la OMS) donde se seleccionaron los ensayos clínicos que tienen como título del estudio (gene therapy bacteria / cáncer).

Selección de la información

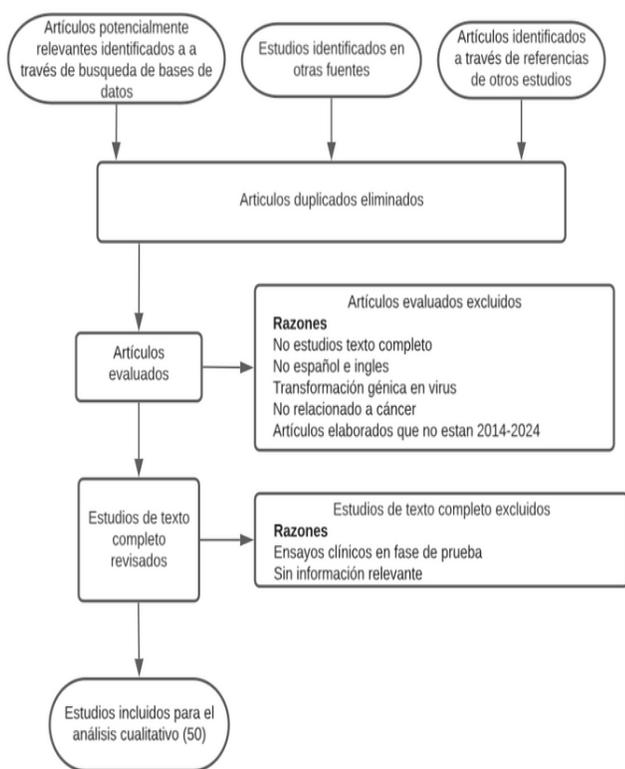


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de selección de estudios. Realización propia.

Gestor de referencia

La organización y gestión de las referencias bibliográficas de artículos de revistas o libros obtenidos de una o varias fuentes de información se hizo mediante el programa Refworks.

FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER

Las células tumorales se originan por un proceso llamado carcinogénesis Figura 3. La transformación progresiva de células normales a derivados altamente malignos se origina en mutaciones del material genético. Estas mutaciones, le confieren a una célula la capacidad de dividirse a una tasa mayor que su cohorte y generar una descendencia que conserva esta mutación (clones); posteriormente, las células hijas acumulan subsecuentes y diversas mutaciones que permiten generar distintos clones. Estos presentan mayores capacidades de supervivencia y crecimiento, ventajas proliferativas respecto de su contraparte normal que permite generar un clon neoplásico persistente (León J, Pareja A; 2018). Normalmente, las células del sistema inmune son capaces de eliminar a estas células tumorales, en un proceso denominado inmunovigilancia tumoral, no obstante; algunos de estos clones pueden adquirir nuevas capacidades que les permiten evadir estos mecanismos de control y se desarrolla una neoplasia (León J, Pareja A; 2018).

FUNDAMENTOS DE LA TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE BACTERIAS ANAEROBIAS

Las formas vivas, atenuadas o genéticamente modificadas de bacterias anaerobias pueden replicarse selectivamente dentro de los tumores y suprimir su crecimiento. Debido a su especificidad hacia las células tumorales y su capacidad de adaptarse al microambiente tumoral, estas bacterias y sus productos actúan como vectores ideales para administrar cargas terapéuticas a los tumores. Algunas especies bacterianas han demostrado replicarse y acumularse en mayor medida dentro de los tumores, aprovechando las condiciones únicas del entorno canceroso, como la hipoxia, pH ácido y metabolismo energético (Lozano M; 2019). Además, estas bacterias poseen ciertas propiedades favorables como la motilidad, la quimiotaxis y la capacidad de transportar y expresar simultáneamente múltiples proteínas terapéuticas, lo que hace que el tratamiento bacteriano sea una nueva estrategia prometedora para el futuro de la medicina, mejorando la eficacia de los tratamientos tradicionales (Duong MT *et al.*; 2019).

Una de las principales razones de la falta de eficacia de la radioterapia y la quimioterapia para muchos tumores sólidos es la presencia de zonas hipóxicas que son resistentes a estas intervenciones; los factores que contribuyen a esta resistencia incluyen la modulación de la respuesta a la quimioterapia, puesto que la hipoxia puede activar la vía de señalización celular regulada por el factor inducible por hipoxia (HIF-1) que a su vez estimula la

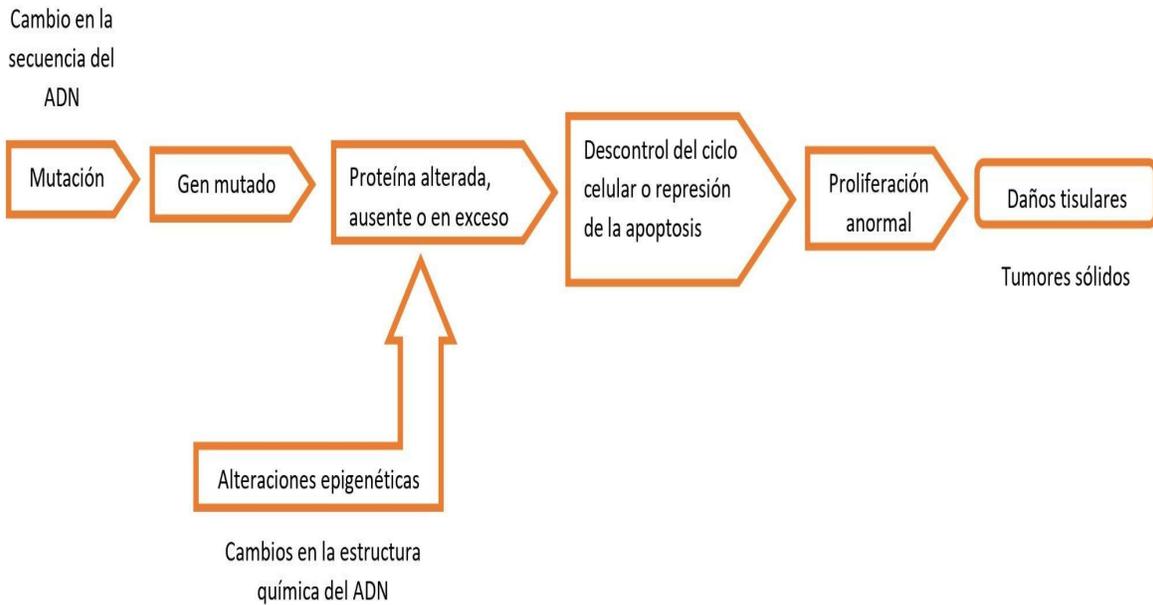


Figura 3. Proceso de carcinogénesis. Realización propia. La epigenética contribuye al cáncer mediante inactivación de genes supresores de tumores, activación de oncogenes, desregulación del ciclo celular y resistencia a la apoptosis.

expresión de genes relacionados con la resistencia a la quimioterapia y supervivencia celular; por otro lado, al limitarse la difusión de oxígeno, los tejidos sanos y no sanos son generadores de nuevos vasos sanguíneos gracias a el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF en inglés) secretado bajo condiciones de hipoxia que induce la proliferación y organización de las células, además en la radioterapia se generan radicales libres de oxígeno que dañan el ADN de las células cancerosas, en un entorno hipóxico hay menos oxígeno disponible para participar en estas reacciones, lo que disminuye la eficacia de la radioterapia (Mayorga D *et al.*; 2020).

En consecuencia, esta aparente limitación puede aprovecharse para mejorar el tratamiento de los tumores, como la aplicación de bacterias anaerobias obligadas o facultativas. Diversos estudios han demostrado que bacterias genéticamente modificadas, como *Clostridium novyi-NT*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, y *Bifidobacterium*, pueden actuar como agentes selectivos contra tumores, ya sea administrando medicamentos o como vectores para la terapia génica. Estas bacterias anaerobias, particularmente las esporas de *Clostridium*, se activan en regiones tumorales hipóxicas, donde proliferan y destruyen las células tumorales. Estas terapias bacterianas estimulan una respuesta inmune innata, activando macrófagos y células dendríticas, y promueven la inmunidad adaptativa a través de células T citotóxicas que atacan el tumor. Los estudios muestran que estas bacterias no solo inducen la liberación de cito-

cinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, sino que también actúan como adyuvantes, mejorando la respuesta inmune contra las células cancerosas. (Din YD *et al.*, 2023) (Staedtke *et al.*, 2016). A continuación, en la Tabla 1 se detalla estos enfoques basados en bacterias.

Bacterias como vectores de terapia génica

El principal problema con el uso de bacterias como agentes anticancerígenos es su toxicidad a la dosis requerida para la eficacia terapéutica y la reducción de la dosis da como resultado una eficacia disminuida y el obstáculo básico en la terapia génica del cáncer es la orientación específica de la terapia directamente a un tumor sólido.

Un enfoque para superar estas limitaciones ha sido el uso de bacterias modificadas genéticamente para expresar un gen terapéutico específico (Figura 4).

En primer lugar, se debe obtener una secuencia de ADN que contenga el gen o genes de interés, así como también los elementos reguladores necesarios para su expresión en la bacteria huésped.

Una vez obtenida esta secuencia, se utilizan enzimas de restricción. A continuación, se toma un plásmido vector, y su elección depende de factores como los elementos reguladores presentes, el tamaño del inserto y la eficiencia de replicación en la bacteria. El vector se corta con la misma enzima de restricción, de manera que se

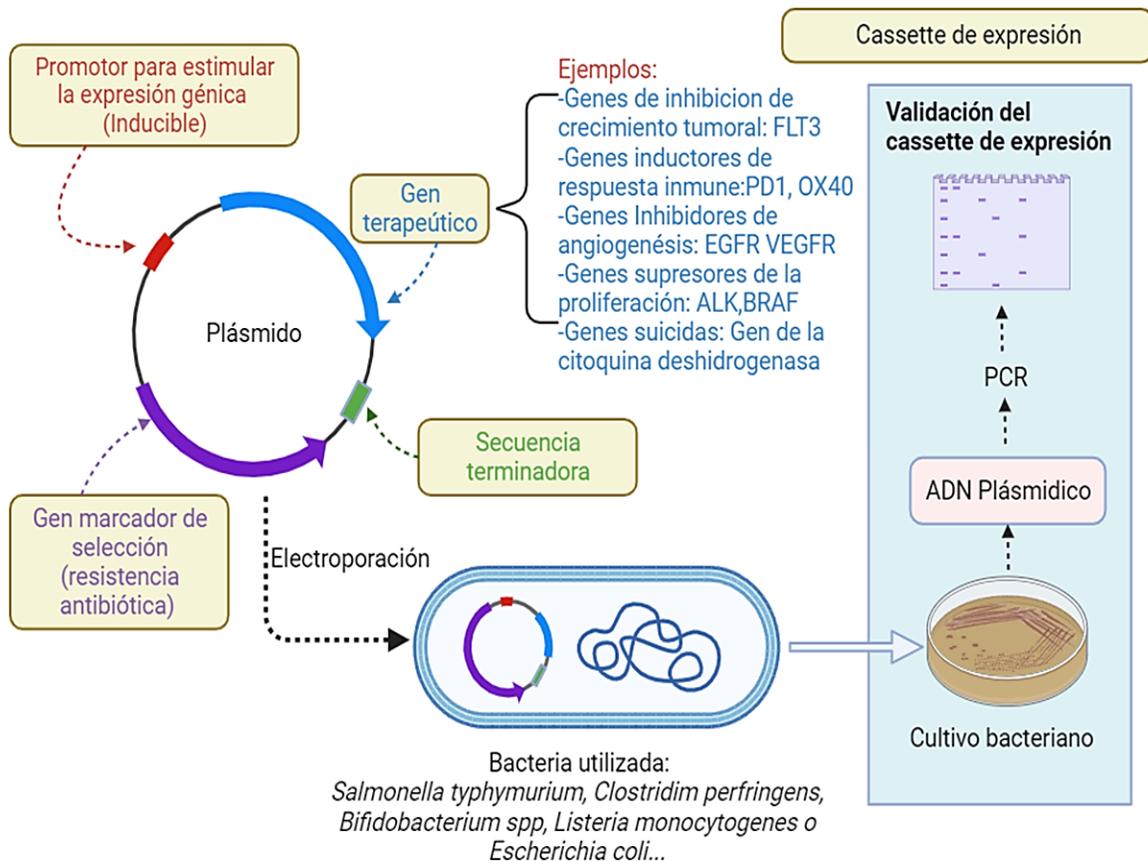


Figura 4. Modificación bacteriana para la terapia del cáncer mediante la técnica de ADN recombinante. Realización propia.

generan extremos complementarios con los fragmentos de ADN cortados previamente. Este paso es crucial para asegurar la orientación correcta de la inserción. Finalmente, se mezcla el vector y los fragmentos de ADN, y se utiliza una ligasa para unirlos de manera permanente. Una vez que se ha construido el plásmido recombinante, se introduce en una célula bacteriana y se replica junto con el cromosoma bacteriano.

Al producir la proteína de interés específicamente en el microambiente del tumor, estos vectores bacterianos pueden proporcionar una poderosa terapia adyuvante para varios tratamientos contra el cáncer. Por lo tanto, las bacterias sirven como vectores o vehículos para administrar preferentemente agentes anticancerígenos, péptidos citotóxicos, proteínas terapéuticas o enzimas convertidoras de profármacos a tumores sólidos (Sarotra P, Medhi B; 2016). Aunque este método es ampliamente utilizado y eficiente; pueden surgir inconvenientes. La elección inadecuada de enzimas de restricción puede llevar a extremos incompatibles, que da como resultado una ligación incorrecta o la pérdida de fragmentos.

Por otra parte, en la actualidad se han generado cepas atenuadas que se obtienen mediante pases in vitro o in vivo o por la eliminación de genes específicos utilizando técnicas moleculares (Zhou HM et al., 2021). La primera técnica se basa en la presión selectiva cuando las bacterias se adaptan a un entorno particular dentro del huésped. Al pasar bacterias de un tumor a otro, ya sea en cultivos celulares o en ratones, pueden desarrollar un fenotipo adaptado al tumor que exhibe al mismo tiempo una alta especificidad tumoral (López MM, Cardona AF; 2021).

MECANISMOS DE ACCIÓN EN EL TRATAMIENTO DE TUMORES SÓLIDOS

Toxinas bacterianas

Las toxinas bacterianas con actividad antitumoral han sido reconocidas como agentes anticancerígenos alternativos para el tratamiento de tumores sólidos avanzados. Las células cancerosas suelen tener un elevado número de antígenos tumorales específicos en la superficie celular y las toxinas bacterianas se unen a estos antígenos y posteriormente se activan. Las toxinas

Tabla 1. Bacterias más utilizadas en estudios para reducir la tasa de crecimiento tumoral. Realización propia.

Bacteria	Características	Modelo Tumoral	Referencia
<i>Salmonella Typhimurium</i>	-Gram negativa móvil -Anaerobia facultativa	Mama, próstata, cuello uterino, cerebro, páncreas, ovario, carcinoma, colón, melanoma	(Aldecoa F; 2023) (Lee CH et al; 2014) (Felgner S et al; 2016) (Nguyen VH, Min JJ; 2016) (Sampieri R, Calderon E; 2023). (Sieow BF et al; 2020)
<i>Bifidobacterium spp</i>	-Gram positivas -Anaerobias obligadas -No patógena -Probiótico -Altamente resistentes a la manipulación genética	Vejiga	(Aldecoa F; 2023) (Gracia T et al; 2016) (Felgner S et al; 2016)
<i>Clostridium</i>	-Grampositiva -Anaerobios obligados -Formadores de esporas inmunológicamente inertes y que germinan en ausencia de oxígeno -Enterotoxinas	Glioma, leiomiomasarcoma, ovario, mama, útero, páncreas	(Pahle J et al; 2017) (León J, Pareja A; 2019) (Felgner S et al; 2016)
<i>Listeria monocytogenes</i>	-Anaerobia facultativa -Son fagocitadas por monocitos, estimulando el sistema inmune	Ovario, páncreas	(León J, Pareja A; 2019) (Felgner S et al; 2016) (Felgner S et al; 2017)
<i>Escherichia coli</i>	-Anaerobia facultativa -Gram negativa -Facilidad de transformación genética -Potencial probiótico	mama, carcinoma nasofaríngeo	(Gracia T et al; 2016) (de Vaca R.P.C et al; 2017) (Song S et al; 2018) (Yaghoubi N et al; 2019) (Ho CL et al; 2018)
<i>Mycobacterium bovis*</i>	-Vacuna BCG -Microaerófila -Alto poder antigénico -Modificante de la respuesta biológica	Vejiga	(Sieow BF et al; 2020)
<i>Serratia marcescens</i> y <i>Streptococcus pyogenes*</i>	-Toxina de Coley -Anaerobios facultativos -Necrosis hemorrágica de los tumores	Sarcoma	(López MM, Cardona AF; 2021). (Sampieri R, Calderon E; 2023). (Orange N et al; 2016).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-Bacilo Gram negativo móvil -Versátil (capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno y sobrevivir con bajos niveles de nutrientes)	Pulmón	(Song S et al; 2018)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-Gram negativa -Encapsulada -Anaerobio facultativo	Carcinoma de cuello uterino	(Song S et al; 2018)

**Mycobacterium bovis*: Única bacteria aprobada en humanos con fines terapéuticos; se administra intravascularmente a los pacientes con cáncer de vejiga superficial tras la resección del tumor.

**Serratia marcescens* y *Streptococcus pyogenes*: Toxina de Coley, importante en la historia de la inmunoterapia. Estas bacterias pueden administrarse en el tumor por múltiples vías, como la inyección intratumoral, la inyección intravenosa o, en algunos casos, por vía oral como probióticos.

bacterianas que se han dirigido a células incluyen la toxina diftérica (DT), la enterotoxina de *Clostridium perfringens* (CPE) y la exotoxina A de *Pseudomonas* (PE) (Weerakkody LR, Witharana, C; 2019).

La enterotoxina de *Clostridium perfringens* (CPE), tiene la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana celular y se ha utilizado eficazmente en la terapia contra el cáncer, sobre todo en el tratamiento del cáncer colorrectal, y numerosos estudios han demostrado que tiene ciertos efectos anticancerígenos (Trivanovic D et al; 2021). Esta propiedad biológica se ha evidenciado en el estudio de (Pahle J et al.; 2017) donde la CPE puede desencadenar la lisis de las células epiteliales al unirse a la claudina-3 y la claudina-4 que están sobreexpresadas en diferentes tipos de cáncer. Posteriormente, la toxina ensamblada forma un poro activo desencadenando la lisis celular. Se ha explorado un enfoque alternativo mediante el uso de CPE, correspondiente al dominio de unión al receptor I, para mejorar la permeabilidad celular y facilitar la administración de agentes quimioterapéuticos contra células cancerosas.

Inmunomoduladores

La inmunoterapia en el cáncer se refiere a un conjunto de tratamientos médicos que se basa en el uso de agentes que estimulan el sistema inmunológico del paciente para atacar y destruir las células cancerosas (Reyes SJ et al., 2020). En los últimos años, se ha explorado cada vez más el potencial de las bacterias como agentes de inmunoterapia, y se han descubierto

varias formas en que estas pueden ser utilizadas para mejorar la respuesta inmunológica del cuerpo frente a diferentes entidades clínicas (Hu W et al., 2019).

Se ha demostrado que algunas bacterias pueden colonizar selectivamente los tumores y causar una respuesta inmunológica local que destruye las células cancerosas. (Rahman et al., 2024). En particular, en los tumores de melanoma se han identificado péptidos HLA derivados de bacterias, lo que sugiere que las células tumorales son capaces de presentar estos antígenos bacterianos en su superficie. Dado que dichos antígenos no son propios del organismo, podrían servir como objetivos potenciales para la inmunoterapia, ya que el sistema inmunológico podría reconocerlos y dirigir una respuesta antitumoral específica contra ellos. (Kalaora et al., 2021).

Además, algunas bacterias pueden ser genéticamente modificadas para producir proteínas específicas que estimulan la respuesta inmunológica y la eliminación de las células tumorales (Wong KK et al., 2016). Otro enfoque es el uso de bacterias como vectores de terapia génica para la entrega de moléculas terapéuticas directamente a las células tumorales. Las bacterias pueden ser genéticamente modificadas para producir y secretar proteínas terapéuticas, tales como citocinas (Tabla 2) o anticuerpos, que pueden mejorar la respuesta inmunológica y la eliminación de las células malignas (Conlon KC et al., 2019).

Por otro lado, las bacterias también pueden ser utilizadas en combinación con otros agentes de

Tabla 2. Citocinas administradas por bacterias modificadas en estudios preclínicos. Realización propia. Interleucina 2 (IL-2), Interleucina 4 (IL-4), Interleucina 12 (IL-12), Interleucina 15 (IL-15), Interleucina 18 (IL-18), Interferón gamma (IFN- γ), Quimiocina (CCL21), Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), El ligando de tirosina quinasa 3 (FLT3L), Miembro 14 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNFSF14).

Citocina	Función
IL-2	Mitosis LT
IL-4	Producción IgE
IL-12	Diferenciación a Th1
IL-15	Activación de LT citotóxico
IL-18	Activación de NK
IFN- γ	Síntesis de CMH clase II
CCL21	Controlar la quimiotaxis, adhesión, migración y proliferación en condiciones de inflamatorias
GM-CSF	Ayuda a la producción de células de línea mieloide
FLT3L	Aumenta el número de células inmunitarias
TNFSF14	Función proapoptótica

inmunoterapia, tales como inhibidores de puntos de control inmunológico (actúan bloqueando la interacción entre proteínas inhibitoras y estimuladoras en la superficie de las células T), para mejorar la eficacia del tratamiento. Por ejemplo, los anticuerpos anti-PD-1 o anti CTLA-4, bloquean las vías de señalización inhibitoras en las células T; la interacción de PD-1 en las células T con PD-L1 en las células tumorales puede inhibir la actividad antitumoral de las células T. Los inhibidores de PD-1 o PD-L1 bloquean esta interacción, liberando así células T para atacar células cancerosas (Sieow BF *et al*; 2020).

Esporas

Muchas bacterias anaerobias tienen la cualidad de formar esporas cuando se encuentran en condiciones adversas que les permita sobrevivir incluso en condiciones ricas de oxígeno, aunque no puedan crecer ni multiplicarse. Dentro de las bacterias anaerobias productoras de esporas se encuentran géneros como: *Anaerobacter spp.*, *Halobacterium spp.* o *Clostridium spp*; siendo este último el más estudiado (Wei X *et al.*, 2022). Diversos estudios en modelos animales destacan el uso de las esporas de *Clostridium spp* como vectores para la administración o expresión de péptidos citotóxicos, proteínas terapéuticas, genes supresores de tumores y agentes anticancerígenos (Kubiak AM, Minton NP; 2015). Asimismo, este género se ha investigado por la capacidad de sus esporas de sobrevivir, pero no crecer, en condiciones hipóxicas, lo que conlleva la muerte de las células tumorales que abarcan zonas hipóxicas y como se ha mencionado anteriormente son resistentes a los tratamientos habituales. Así, en varios estudios en ratones hembra de 6 a 8 semanas de edad a los que se les inyectó intratumoralmente esporas de *C. novyi-NT*, germinaban dentro de las regiones avasculares de los tumores en ratones y destruían las células tumorales viables circundantes. Cuando las esporas de *C. novyi-NT* se administraban junto con medicamentos quimioterapéuticos convencionales, a menudo se desarrollaba una necrosis hemorrágica extensa de los tumores en 24 h, lo que resultaba en efectos antitumorales significativos y prolongados (Dang LH *et al.*, 2001).

Enzimas convertidoras de profármacos

El método predominante en el tratamiento contra el cáncer mediante bacterias se basa en la terapia enzimática-farmacológica. En este enfoque, se administra bacterias a través de la vía sistémica con el propósito de liberar un gen/enzima específico capaz de transformar un profármaco administrado sistémicamente en su

compuesto activo dentro del tejido tumoral (Preitakaitè V *et al.*, 2023). Para que esta estrategia sea efectiva, es imperativo cumplir con ciertos requisitos: la enzima debe ser de origen no humano o expresarse en concentraciones mínimas en tejidos normales, además de poseer una alta actividad catalítica. El profármaco debe ser un buen sustrato óptimo para la enzima, sin activarse en tejidos sanos, y debe carecer de toxicidad. Además, el fármaco activado debe ser altamente difusible o ser absorbido activamente por células adyacentes para lograr un efecto de "eliminación de células transeúntes", mientras que idealmente no debe filtrarse a la circulación sistémica (Dhankhar R *et al.*, 2021).

En el estudio de (Ho, C.L *et al.*, 2018), demostraron que *Escherichia coli* Nissle (EcN) deficiente en alanina para coexpresar INP-HlpA (proteína HlpA de *Streptococcus gallolyticus* con una etiqueta de INP) y YebF-11 (mirosinasa de *Armoracia rusticana* con una etiqueta de secreción de YebF) usando promotores constitutivos; como consecuencia, la mirosinasa secretada transformó el glucosinolato dietético en sulforafano, una molécula orgánica con actividad anticancerígena.

Por otro lado, La terapia del gen suicida con bacterias es una estrategia prometedora para el tratamiento del cáncer que se basa en el uso de bacterias modificadas genéticamente para expresar un gen "suicida" que mata selectivamente las células cancerosas. En el paso 1, con la ayuda de un vector (bacteria), las células cancerosas son transducidas por genes suicidas que dan como resultado la expresión de una enzima. En el paso 2, se administra el profármaco que puede convertirse en su forma citotóxica por la enzima y matar no solo las células transducidas sino también las vecinas (Karjoo Z *et al.*, 2016).

En esta terapia, se utiliza una bacteria que se ha modificado genéticamente para expresar una enzima llamada "citoquina deshidrogenasa". Esta enzima es capaz de convertir un profármaco inactivo llamado "5-fluorocitosina" en un compuesto citotóxico llamado "5-fluorouracilo", que es capaz de matar las células cancerosas (Siddiqui N.S *et al.*, 2019). El gen de la enzima citoquina deshidrogenasa se coloca dentro de la bacteria, que se dirige selectivamente a las células cancerosas a través de ciertos mecanismos de reconocimiento celular. Una vez que las bacterias alcanzan el tumor, liberan la enzima citoquina deshidrogenasa, que convierte la 5-fluorocitosina en 5-fluorouracilo, matando así las células cancerosas. A altas concentraciones de 5-FU, se reporta que el nivel de inhibición del ARNm es tan alto que puede ocasionar que las células no pueden producir las proteínas

esenciales para su crecimiento y supervivencia, lo que a veces se describe como “inanición de proteínas”. En otras palabras, las células cancerosas pueden volverse disfuncionales debido a la falta de proteínas importantes (Karjoo Z *et al.*, 2016).

La terapia del gen suicida con bacterias ha mostrado efectividad en modelos animales, y ha sido objeto de varios ensayos clínicos en humanos para evaluar su seguridad y eficacia en diferentes tipos de tumores sólidos, incluyendo colorrectales, de mama, de cerebro, páncreas y piel (Beier LS, *et al.*, 2022).

En general, esta terapia representa una prometedora estrategia de tratamiento para el cáncer que combina la especificidad y selectividad de las bacterias para las células tumorales, junto con la capacidad de las enzimas suicidas para matar selectivamente las células cancerosas.

CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD Y DESAFIOS ACTUALES

La eficacia del tratamiento depende de varios factores. En primer lugar, se considera la respuesta de las células tumorales, del sistema inmune y de los mecanismos celulares involucrados. Estos aspectos se evalúan mediante técnicas de imagenología como resonancias magnéticas, tomografías computarizadas o ecografías, por el sistema de medición The Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) (Villarreal JJ *et al.*, 2018). La evaluación de la respuesta inmune al tratamiento en el cáncer puede realizarse mediante diferentes métodos y técnicas; por ejemplo, análisis de biomarcadores por citometría de flujo, perfilación genómica, inmunohistoquímica y ensayos de liberación de citoquinas (Karjoo Z *et al.*, 2016). La dosis administrada y duración, la administración coadyuvante con terapias convencionales, el blanco terapéutico, mecanismo de acción bacteriana en el ambiente tumoral, así como la resistencia o refractariedad al tratamiento convencional son otros factores relevantes para tener en cuenta en el resultado esperado. La medicina personalizada también desempeña un papel importante, permitiendo adaptar el tratamiento a las características individuales de cada paciente.

Uno de los principales factores que impulsan el uso de esta terapia coadyuvante está relacionado con la capacidad de las especies bacterianas anaerobias para prosperar en núcleos tumorales hipóxicos (Gupta KH *et al.*, 2021). La hipoxia es un rasgo distintivo de tumores sólidos que proliferan rápidamente, una característica atribuida a su expansión más allá del suministro de

sangre disponible. La estructura de la vasculatura de los vasos sanguíneos es funcionalmente anormal en los tumores, lo que da como resultado un flujo sanguíneo irregular en todo el tejido, lo que conduce a la privación de oxígeno; esta condición obliga a las células tumorales a alterar su metabolismo (Aldecoa F., 2023). Se sabe que la región del tumor hipóxico está asociada con una mayor expresión de MDR1 (un gen resistente a múltiples fármacos) y genes de glicoproteína P, que son responsables del desarrollo de resistencia múltiple a varios fármacos contra el cáncer (Duong MT *et al.*, 2019).

Por otro lado, la evaluación de la eficacia de esta terapia no se limita a las respuestas inmediatas al tratamiento, también es importante realizar un seguimiento a largo plazo de los pacientes tratados para evaluar la duración de la respuesta, la supervivencia y los posibles efectos secundarios a largo plazo. Antes de probar la terapia en seres humanos, se llevan a cabo estudios en modelos animales que se asemejan a la enfermedad humana. Estos estudios evalúan la capacidad de las bacterias atenuadas para dirigirse a los tumores sólidos, la capacidad de entrega de genes terapéuticos o agentes farmacológicos, y los efectos antitumorales resultantes. Se miden parámetros como el tamaño del tumor, la tasa de crecimiento tumoral, la supervivencia de los animales y las respuestas inmunológicas inducidas. Una vez que se ha demostrado la eficacia en modelos animales, se procede a los ensayos clínicos en humanos (Tabla 3).

ESTUDIOS CLÍNICOS RELEVANTES

Estos ensayos se dividen en fases, desde la fase I hasta la fase III, y evalúan la seguridad y eficacia de la terapia en pacientes humanos. Se recopilan datos sobre la respuesta del tumor, la supervivencia, la calidad de vida y otros parámetros clínicos relevantes (Zurita JN *et al.*; 2019). Los ensayos clínicos también pueden incluir análisis de biomarcadores para evaluar los cambios moleculares y biológicos en los tumores y en el sistema inmunológico de los pacientes tratados. Además, se están realizando investigaciones para mejorar la seguridad y la eficacia de la terapia de modificación genética bacteriana en el cáncer. Se están explorando diferentes estrategias para garantizar que las bacterias modificadas sean seguras y no causen daño a los pacientes. Además, se están desarrollando enfoques para mejorar la capacidad de las bacterias para colonizar y persistir en el tumor, así como para superar los desafíos del sistema inmunológico del paciente (Farfán R; 2017). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la terapia de modificación genética bacteriana en el cáncer todavía está en las etapas iniciales de investigación y desarrollo. Se ne-

Tabla 3. Estudios reportados en Clinicaltrials. Realización propia.

Bacteria usada	Condiciones de la enfermedad	Resultados	Referencia
<i>Salmonella typhimurium</i> VNP 200009	Cáncer de mama y melanoma metastásico	Exhibe una colonización tumoral preferencial. Los ensayos clínicos han demostrado que la <i>Salmonella</i> atenuada en condiciones de seguridad no es eficaz en el tratamiento de tumores.	(Coutermarsh SL et al; 2017) (Clinicaltrials; 2008)
<i>Listeria monocytogenes</i> vacuna experimental ADXS11-001	Cáncer orofaríngeo	Con el objetivo de potenciar la respuesta inmunológica	(Clinicaltrials; 2022)
Vacuna de bacterias mixtas MBV- tumores de expresan el Ag NY-ESO-1	Melanoma, sarcoma tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma de células de transición, cáncer de próstata, carcinoma de ovario, cáncer de esófago, cáncer de mama	Identificar la dosis que induce el efecto pirógeno deseado	(Clinicaltrials; 2022) (Karbach J et al; 2012)
<i>Clostridium novyi</i> esporas	Tumores malignos sólidos refractarios al tratamiento	Evaluar la actividad antitumoral preliminar de una respuesta general después de la administración de una única inyección	(Clinicaltrials; 2019) (Janku F et al; 2021)
<i>Pseudomonas truncada</i>	Linfoma cutáneo de células T - LMB-2	Anticuerpo genéticamente modificado y la toxina producida por la bacteria	(Clinicaltrials; 2018)

cesitarán más estudios preclínicos y clínicos para comprender completamente su seguridad, eficacia y potencial a largo plazo.

También es importante mencionar las posibles implicaciones legales y cuál sería el papel de la bioética con respecto a esta terapia. En esta necesidad de analizar desde la bioética las investigaciones como la terapia génica, es importante considerar la seguridad biológica ya que es importante garantizar que las bacterias modificadas genéticamente no representen riesgos para la salud humana, por otro lado, se debe evaluar la posibilidad de transferencia de genes a otras bacterias y se debe evaluar la posibilidad de revertir los cambios genéticos introducidos en las bacterias en caso de que surjan efectos adversos inesperados. Considerar principios bioéticos para las investigaciones de terapia génica, puede promover el establecimiento de normas mínimas para la realización de estas, por medio de un proceso de deliberación dinámico cuyas soluciones siempre queden abiertas a una revisión, con base en los avances científicos. El papel de la bioética, en este sentido, es desarrollar un espacio de deliberación interdisciplinaria que colabore en la creación de un carácter ético de las sociedades; y en la forja del carácter justo y prudente del ámbito de la investigación biotecnológica (Olivo A et al; 2021)

PERSPECTIVAS FUTURAS Y POTENCIAL IMPACTO CLÍNICO

Una de las perspectivas a futuro más interesantes en este campo es el uso de bacterias para liberar agentes terapéuticos directamente en el tumor. Estas bacterias pueden ser programadas genéticamente para producir y liberar moléculas específicas, como enzimas, toxinas o medicamentos, dentro del entorno tumoral. Esto permite una entrega precisa y localizada de terapias al tumor, minimizando los efectos secundarios en los tejidos sanos circundantes. Otra perspectiva prometedora, es el uso de bacterias modificadas para estimular la respuesta inmune contra el cáncer. Algunas bacterias pueden ser diseñadas para producir proteínas que activan el sistema inmunológico, lo que a su vez desencadena una respuesta inmune más robusta contra las células cancerosas. Esto podría mejorar la eficacia de la inmunoterapia, que es un enfoque terapéutico emergente en el tratamiento del cáncer. Sin duda alguna, es necesario considerar de qué manera se comunica esta terapia a la sociedad y cómo se abordarían las preocupaciones, mitos y temores potenciales asociados con la manipulación genética y el uso de bacterias en el tratamiento del cáncer para generar aceptación pública, impactando así en la calidad de vida, sin tantos efectos secundarios, con una duración del tratamiento menos intensiva y con

implicaciones a largo plazo favorables. Evidentemente, eso representará cambios en el panorama del tratamiento del cáncer y en la medicina.

CONCLUSIONES

Hasta el momento, entre todas las opciones disponibles, la terapia contra el cáncer mediada por bacterias anaerobias exhibe resultados alentadores debido a que se ha evidenciado que las bacterias tienen una capacidad relevante y apropiada en la erradicación de tumores establecidos que se encuentran en modelos animales. Sin embargo, dado que el cáncer es una enfermedad multifactorial, ninguna terapia única es completamente adecuada para su tratamiento. En este sentido, se sugiere que estas terapias sean coadyuvantes o neoadyuvantes de las terapias convencionales para así obtener mejor respuesta terapéutica y minimizar los efectos secundarios.

En consecuencia, es probable que la combinación de tecnología de ADN recombinante junto con inmunoterapia aplicada a dichos microorganismos funcione como base para las estrategias terapéuticas multimodales contra el cáncer. No obstante, es importante destacar que la escasez para monitorizar los eventos posteriores a la administración del vector a los pacientes representa un obstáculo para la progresión clínica a menos que las terapias contra el cáncer basadas en bacterias puedan recibir un impulso significativo que se tomará en consideración para propósitos científicos concretos, sobre todo en lo que se refiere a los campos de la investigación biológica, biotecnológica y biomédica. En perspectiva futura, las posibilidades de mejora en la eficacia del tratamiento del cáncer están intrínsecamente vinculadas a la continua investigación y desarrollo de enfoques terapéuticos más precisos y personalizados. La colaboración entre disciplinas médicas y avances tecnológicos podrían allanar el camino hacia una nueva era en la lucha contra el cáncer.

Agradecimientos

Las autoras agradecen profundamente a la doctora Mary Luz Yaya Lancheros por su compromiso, dedicación y apoyo durante la realización del presente artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldecoa Bedoya, F. Lima, Perú. (2023). Factor inducible por hipoxia en cáncer. *Horizonte médico*, 23(4), e2584. DOI: <https://doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n4.11>

Bacterial Toxins as Developed by the Late William B. Coley, M.D., Reviewed in the Light Beier, L.-S., Pion-

tek, J., Piontek, A., Protze, J., Kobelt, D., & Walther, W. (2022). Claudin-Targeted Suicide Gene Therapy for Claudin-Overexpressing Tumor Cells by Using Modified *Clostridium perfringens* Enterotoxin (CPE). En *Methods in Molecular Biology* (pp. 173–188). Springer US. DOI: [10.1007/978-1-0716-2441-8_9](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2441-8_9)

Chang, W., & Lee, C. (2014). Salmonella as an Innovative Therapeutic Antitumor Agent. *International Journal Of Molecular Sciences*, 15(8), 14546-14554. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms150814546>

Clinicaltrials, (2008). Treatment of Patients With Cancer With Genetically Modified Salmonella Typhimurium Bacteria. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00004988>

Clinicaltrials, (2018). Anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) to Treat Cutaneous T-Cell Lymphomas. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00080535?tab=table>

Clinicaltrials, (2019). Safety Study of Intratumoral Injection of Clostridium Novyi-NT Spores to Treat Patients With Solid Tumors That Have Not Responded to Standard Therapies. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01924689?tab=table>

Clinicaltrials, (2022). A Phase 1 Study of Mixed Bacteria Vaccine (MBV) in Patients With Tumors Expressing NY-ESO-1 Antigen. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00623831?tab=table>

Clinicaltrials, (2022). ADXS 11-001 Vaccination Prior to Robotic Surgery, HPV-Positive Oropharyngeal Cancer. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02002182>

Conlon, K. C., Miljkovic, M. D., & Waldmann, T. A. (2019). Cytokines in the treatment of cancer. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 39(1), 6–21. DOI: <https://doi.org/10.1089/jir.2018.0019>

Coutermarsh-Ott, S. L., Broadway, K. M., Scharf, B. E., & Allen, I. C. (2017). Effect of Salmonella enterica serovar Typhimurium VNP20009 and VNP20009 with restored chemotaxis on 4T1 mouse mammary carcinoma progression. *Oncotarget*, 8(20), 33601–33613. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16830>

Dang LH, Bettgowda C, Huso DL, Kinzler KW, Vogelstein B.(2001). Combination bacteriolytic therapy for the treatment of experimental tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 18;98(26):15155-60. doi: [10.1073/pnas.251543698](https://doi.org/10.1073/pnas.251543698)

de Vaca, R. P.-C., Cárdenas-Cárdenas, E., Mondragón-Terán, P., & Solís, y. A. A. (s/f). *Biología molecular del cáncer y las nuevas herramientas en oncología*. Me-

- digraphic.com. Recuperado el 21 de mayo de 2024, de <https://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2017/rmq174d.pdf>
- Dhankhar, R., Kawatra, A., Mohanty, A., & Gulati, P. (2021). Microbial enzymes used in prodrug activation for cancer therapy: Insights and future perspectives. *Current Protein & Peptide Science*, 22(7), 514–525. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389203721666201207231932>
- Ding YD., Shu LZ., He RS., Chen KY., Deng YJ., Zhou ZB., Xiong Y., Deng H. *Listeria monocytogenes*: a promising vector for tumor immunotherapy. *Front Immunol.* (2023) Vol 14. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1278011>
- Duong, M. T.-Q., Qin, Y., You, S.-H., & Min, J.-J. (2019). Bacteria-cancer interactions: bacteria-based cancer therapy. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(12), 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0297-0>
- Farfán R. (2017). Ensayos clínicos con medicamentos biológicos. F. Gonzales-Andrade (Ed). *Medicamentos biológicos: presente y futuro de la terapéutica.* (pág 99-111). Universidad Central del Ecuador.
- Felgner, S., Kocijancic, D., Frahm, M., & Weiss, S. (2016). Bacteria in cancer therapy: Renaissance of an old concept. *International Journal of Microbiology*, 2016, 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/8451728>
- Felgner, S., Pawar, V., Kocijancic, D., Erhardt, M., & Weiss, S. (2017). Tumour-targeting bacteria-based cancer therapies for increased specificity and improved outcome. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1074–1078. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12787>
- Gracia-Cazaña, T., Salazar, N., Zamarrón, A., Mascaraque, M., Lucena, S. R., & Jurranz, Á. (2016). Resistencias al tratamiento no quirúrgico en cáncer cutáneo no melanoma. Parte II: terapia fotodinámica, vismodegib, cetuximab, metotrexato intralesional y radioterapia. *Actas dermo-sifiliográficas*, 107(9), 740–750. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ad.2016.04.020>
- Gupta, K. H., Nowicki, C., Giurini, E. F., Marzo, A. L., & Zloza, A. (2021). Bacterial-Based Cancer Therapy (BBCT): Recent Advances, Current Challenges, and Future Prospects for Cancer Immunotherapy. *Vaccines*, 9(12), 1497. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines9121497>
- Ho, C. L., Tan, H. Q., Chua, K. J., Kang, A., Lim, K. H., Ling, K. L., Yew, W. S., Lee, Y. S., Thiery, J. P., & Chang, M. W. (2018). Engineered commensal microbes for diet-mediated colorectal-cancer chemoprevention. *Nature Biomedical Engineering*, 2(1), 27–37. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41551-017-0181-y>
- Hu, W., Wang, G., Huang, D., Sui, M., & Xu, Y. (2019). Cancer immunotherapy based on natural killer cells: Current progress and new opportunities. *Frontiers in Immunology*, 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01205>
- Janku, F., Zhang, H. H., Pezeshki, A., Goel, S., Murthy, R., Wang-Gillam, A., Shepard, D. R., Helgason, T., Masters, T., Hong, D. S., Piha-Paul, S. A., Karp, D. D., Klang, M., Huang, S. Y., Sakamuri, D., Raina, A., Torrisi, J., Solomon, S. B., Weissfeld, A., . . . Gounder, M. M. (2021). Intratumoral Injection of Clostridium novyi-NT Spores in Patients with Treatment-refractory Advanced Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*, 27(1), 96-106. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-2065>
- Kalaora, S., Nagler, A., Nejman, D. *et al.* (2021). Identification of bacteria-derived HLA-bound peptides in melanoma. *Nature* 592, 138–143. DOI: <https://www.nature.com/articles/s41586-021-03368-8#citeas~:text=DOI,https%3A//doi.org/10.1038/s41586%2D021%2D03368%2D8,-Subjects>
- Karbach, J., Neumann, A., Brand, K., Wahle, C., Siegel, E., Maeurer, M., Ritter, E., Tsuji, T., Gnjatic, S., Old, L. J., Ritter, G., & Jäger, E. (2012). Phase I Clinical Trial of Mixed Bacterial Vaccine (Coley's Toxins) in Patients with NY-ESO-1 Expressing Cancers: Immunological Effects and Clinical Activity. *Clinical Cancer Research*, 18(19), 5449-5459. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-12-1116>
- Karjoo, Z., Chen, X., & Hatefi, A. (2016). Progress and problems with the use of suicide genes for targeted cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 99, 113–128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.009>
- Kubiak, A. M., & Minton, N. P. (2015). The potential of clostridial spores as therapeutic delivery vehicles in tumour therapy. *Research in Microbiology*, 166(4), 244–254. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.12.006>
- Lee, C.-H., Lin, S.-T., Liu, J.-J., Chang, W.-W., Hsieh, J.-L., & Wang, W.-K. (2014). Salmonella induce autophagy in melanoma by the downregulation of AKT/mTOR pathway. *Gene Therapy*, 21(3), 309–316. DOI: <https://doi.org/10.1038/gt.2013.86>
- León J, Pareja A. Lima, Perú (2018). Inmunología del cáncer I: bases moleculares y celulares de la respuesta inmune antitumoral. *Horizonte médico*, 18(3): 80-89. DOI: <http://dx.doi.org/10.24265/>

- horizmed.2018.v18n3.11
- León, J., Pareja, A. Lima, Perú. (2019). Inmunología del cáncer II: bases moleculares y celulares de la carcinogénesis. *Horizonte médico*, 19(2), 84–92. DOI: <https://doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n2.11>
- López, M. M., & Cardona, A. F. (2021). Historia del cáncer y el cáncer en la historia. *Medicina*, 42(4), 528–562. DOI: <https://doi.org/10.56050/01205498.1559>
- Lozano Martin, M. (2019). El efecto warburg y los cambios metabólicos asociados al cáncer: Revisión por dicloroacetato en células de cáncer de colon. Universidad de Valladolid, pág 6. URL: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/24974/TFG-M-N1000.pdf?sequence=1>
- Mayorga D, Ramirez M, Aristizábal FA. (2020). Señuelo dirigido a HIF-1 potencializa efectos citotóxicos de dos agentes quimioterapéuticos en MDA-MB-231. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(2). <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v22n2.73114>
- Nauts, H. C., Swift, W. E., & Coley, B. L. (1946). The Treatment of Malignant Tumors by
- ND, Villarreal JJ. México (2018). Criterios de Evaluación en Tumores Sólidos 1.1 (RECIST 1.1) en pacientes con Cáncer Primario y/o Metastásico o Enfermedad Metastásica Recurrente. *Scientífica*, 16(1), 8-12. URL: https://www.researchgate.net/publication/332382922_Criterios_de_Evaluacion_en_Tumores_Solidos_11_RECIST_11_en_pacientes_con_Cancer_Primario_yo_Metastasisico_o_Enfermedad_Metastasisica_Recurrente
- Nguyen, V. H., & Min, J.-J. (2017). Salmonella-mediated cancer therapy: Roles and potential. *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 51(2), 118–126. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13139-016-0415-z> of Modern Research. *Cancer Research*, 6(4), 205-216.
- Olivo Yopez, A., Linares Márquez, P., Delgado Encisio, I., & Morales Romero, Z. (2021). terapia génica en México y España, una aproximación bioética desde la investigación científica. *Revista de bioética y derecho*, 117–138. DOI: <https://doi.org/10.1344/rbd2021.53.34049>
- Orange, M., Reuter, U., & Hobohm, U. (2016). Coley's lessons remembered: Augmenting mistletoe therapy. *Integrative Cancer Therapies*, 15(4), 502–511. DOI: <https://doi.org/10.1177/1534735416649916>
- Organización Mundial de la Salud, (2024). Cáncer. https://www.who.int/es/health-topics/cancer#tab=tab_1
- Pahle, J., Menzel, L., Niesler, N., Kobelt, D., Aumann, J., Rivera, M., & Walther, W. (2017). Rapid eradication of colon carcinoma by *Clostridium perfringens* Enterotoxin suicidal gene therapy. *BMC Cancer*, 17(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3123-x>
- Preitakaitė, V., Barasa, P., Aučynaitė, A., Plakys, G., Koplūnaitė, M., Zubavičiūtė, S., & Meškys, R. (2023). Bacterial amidohydrolases and modified 5-fluorocytidine compounds: Novel enzyme-prodrug pairs. *PloS One*, 18(11). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294696>
- Rahman, MM., Grice, ID., Ulett, GC., Wei, MQ. (2024). Advances in Bacterial Lysate Immunotherapy for Infectious Diseases and Cancer. *J Immunol Res*. DOI: <https://doi.org/10.1155/2024/4312908>
- Reyes, S. J., González, K. B., Rodríguez, C., Navarrete-Muñoz, C., Salazar, A. P., Villagra, A., Caglevic, C., & Hepp, M. I. (2020). Actualización general de inmunoterapia en cáncer. *Revista Medica de Chile*, 148(7), 970–982. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0034-98872020000700970>
- Sampieri, R., & Calderón, E. (2023). Transducción de señales: de lo molecular a lo funcional. Zenodo. DOI: <https://doi.org/10.5281/ZENODO.8381548>
- Sarotra, P., & Medhi, B. (2016). Use of bacteria in cancer therapy. En *Recent Results in Cancer Research* (Vol. 209, pp. 111–121). Springer International Publishing. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-42934-2_8
- Shengwei, F., Rongrong, Z., Yanmei, G. et al. (2023). Programming the lifestyles of engineered bacteria for cancer therapy, *National Science Review*, Volume 10, Issue 5. DOI: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwad031>
- Siddiqui, N. S., Godara, A., Byrne, M. M., & Saif, M. W. (2019). Capecitabine for the treatment of pancreatic cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 20(4), 399–409. DOI: <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1560422>
- Sieow, B. F.-L., Wun, K. S., Yong, W. P., Hwang, I. Y., & Chang, M. W. (2020). Tweak to treat: Reprogramming bacteria for cancer treatment. *Trends in Cancer*, 7(5), 447–464. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2020.11.004>
- Song, S., Vuai, M. S., & Zhong, M. (2018). The role of bacteria in cancer therapy – enemies in the past, but allies at present. *Infectious Agents and Cancer*, 13(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13027-018-0180-y>
- Staedtke V, Roberts NJ, Bai RY, Zhou S. *Clostridium novyi*

- NT in cancer therapy.(2016) Feb 6;3(2):144-152. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.01.003>
- Trivanović, D., Pavelić, K., & Peršurić, Ž. (2021). Fighting cancer with bacteria and their toxins. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12980. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222312980>
- Villarreal JJ, Flores López A, Morán Martínez J, Arroyo SM, Betancourt Martínez
- Weerakkody, L. R., & Witharana, C. (2019). The role of bacterial toxins and spores in cancer therapy. *Life Sciences*, 235(116839), 116839. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116839>
- Wei, X., Du, M., Chen, Z., & Yuan, Z. (2022). Recent advances in bacteria-based cancer treatment. *Cancers*, 14(19), 4945. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14194945>
- Wong, K. K., Li, W. A., Mooney, D. J., & Dranoff, G. (2016). Advances in Therapeutic Cancer Vaccines. En *Advances in Immunology* (pp. 191–249). Elsevier. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ai.2015.12.001>
- Yaghoubi, N., Soltani, A., Ghazvini, K., Hassanian, S. M., & Hashemy, S. I. (2019). PD-1/ PD-L1 blockade as a novel treatment for colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapie]*, 110, 312–318. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.105>
- Zhou, HM., Zhang, JG., Zhang, X. et al. (2021). Targeting cancer stem cells for reversing therapy resistance: mechanism, signaling, and prospective agents. *Sig Transduct Target Ther* 6, 62. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00430-1>
- Zugazagoitia J, Guedes C, Ponce S, Ferrer I, Molina-Pinelo S, Paz-Ares L. Current Challenges in Cancer Treatment. *Clin Ther.* (2016) Jul;38(7):1551-66. DOI: [10.1016/j.clinthera.2016.03.026](https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026)
- Zurita-Cruz, J. N., Barbosa-Cortés, L., & Villasís-Keever, M. Á. (2019). De la investigación a la práctica: fases clínicas para el desarrollo de fármacos. *Revista Alergia México*, 66(2), 246–253. DOI: <https://doi.org/10.29262/ram.v66i2.625>

