

Uso de bacterias y sus productos en la terapia del cáncer

Use of bacteria and their products in cancer therapy

Mónica L. Pineda-Castellanos,¹ Ma. Eugenia Núñez-Valdez.²

▷ RESUMEN

La terapia del cáncer se enfrenta a retos muy importantes en la actualidad, particularmente en términos de especificidad. Se ha planteado que la terapia ideal sería aquella capaz de erradicar las células tumorales selectivamente, con una toxicidad limitada hacia los tejidos normales. Aunado a lo anterior, el desarrollo de resistencia a las terapias convencionales contra el cáncer, ha generado la búsqueda de agentes que permitan enfrentar estos desafíos. Dentro de las nuevas estrategias planteadas surge el uso de las bacterias y sus productos como posibles agentes antitumorales, ya sea que proporcionen efectos tumoricidas directos, o bien que actúen como vehículos de liberación de las moléculas tumoricidas.

Ciertas especies bacterianas patógenas y no patógenas son capaces de multiplicarse de forma preferente en tumores e inhibir su crecimiento. Asimismo, esta especificidad por los tejidos tumorales, permite que estas bacterias y sus esporas sean utilizadas como vectores ideales para la liberación de proteínas terapéuticas hacia los tumores. Las toxinas bacterianas también se han convertido en una estrategia prometedora para el tratamiento del cáncer. En este artículo se examinan los trabajos más recientes del uso de las bacterias y sus productos en la terapia del cáncer.

▷ ABSTRACT

Cancer therapy faces significant challenges, particularly in terms of specificity. It has been suggested that the ideal therapy would be able to selectively eradicate tumor cells, with limited toxicity to normal tissues. In addition, the development of resistance to conventional cancer therapies has led to the search for agents capable of addressing these challenges. Among the new proposed strategies there is the use of bacteria and their products as potential antitumor agents, either to provide direct tumoricidal effects or to deliver tumoricidal molecules.

Certain pathogenic and non-pathogenic bacterial species are capable of multiplying selectively in tumors and inhibit their growth. Furthermore, this specificity of tumor tissues allows these bacteria and their spores to be used as ideal vectors for delivering therapeutic proteins to tumors. In addition, bacterial toxins have emerged as a promising cancer treatment strategy. In this review, it is examined the most recent research works on the use of bacteria and their products in cancer therapy.

Keywords: *Bacteria, bacterial toxins, cancer therapy.*

¹Estudiante de Doctorado, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

²Investigador Asociado C. T. C., Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

Correspondencia: Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, México. Teléfono y fax: 52 777 329 7020. Correo electrónico: eugenia@uaem.mx

Palabras clave: Bacteria, toxinas bacterianas, terapia del cáncer.

▷ INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cáncer es una de las causas más importantes de mortalidad en el ser humano, debido a ello desde hace varias décadas se ha iniciado una búsqueda de nuevas opciones para su tratamiento.

Dentro de estos tratamientos ha surgido el concepto de la terapia oncolítica bacteriana, el cual se ha comprobado en numerosos estudios tanto experimentales como clínicos.¹⁻³ La siguiente revisión, proporciona información acerca de los estudios más destacados sobre el uso de las bacterias y sus productos en la terapia del cáncer.

▷ GENERALIDADES

El cáncer se ha definido como un conjunto de enfermedades con diferente etiología, pronóstico y tratamiento, caracterizadas por el excesivo y descontrolado crecimiento celular, que invade y daña tejidos, provocando la muerte del organismo. La falta de control de la proliferación celular es el resultado de múltiples alteraciones en el ADN (Ácido Desoxirribonucleico) de las células, las cuales resultan en mutaciones en los genes que codifican para proteínas reguladoras de este proceso.⁴

Dado que los tumores están constituidos por células que alteran su división porque tienen descontrolado el ciclo celular o bien, debido a que son resistentes a estímulos fisiológicos que inducen muerte, con lo cual también se acumulan células formando una masa tumoral, se han realizado innumerables investigaciones que han conducido al desarrollo de tratamientos para combatir el cáncer.

Un tratamiento propuesto es el sistémico, en el cual se pueden utilizar dos estrategias terapéuticas diferentes: una es provocar citotoxicidad, o inducción de la muerte de las células de la masa tumoral; la otra, es provocar citostasis induciendo la diferenciación celular y frenando con ello el ciclo celular de las células cancerosas. Ambas estrategias terapéuticas provocan efectos deseados sobre el tumor, ya sea su recesión o su estabilización, evitando así su crecimiento.⁵

Las terapias convencionales para el tratamiento del cáncer, consisten en la resección quirúrgica, la radioterapia y la quimioterapia, las cuales han resultado eficaces en

el tratamiento de muchos pacientes. No obstante, existen varios casos de pacientes para los cuales dichas terapias han sido ineficaces o bien, han generado resistencia hacia los fármacos utilizados.⁶ Debido a ello en las últimas décadas se ha realizado una búsqueda de agentes terapéuticos que permitan la mejora, complemento o sustitución de los métodos convencionales.

Una de las razones de la falta de eficacia de las terapias convencionales, en especial para tumores sólidos, es la presencia de áreas hipóxicas que son resistentes a las intervenciones mencionadas. Sin embargo, esta limitación puede ser explotada para mejorar la orientación hacia los tumores, mediante el uso de bacterias anaerobias obligadas o facultativas, que puedan multiplicarse preferentemente en dichas áreas hipóxicas facultativas.⁷ Para ello se han propuesto diferentes géneros bacterianos con estas características, que se acumulan específicamente en los tumores, entre ellos se encuentran *Clostridium*,^{8,9} *Salmonella*,^{1-3,10-12} *Bifidobacterium*¹³⁻¹⁶ y *Escherichia*.^{12,15-17}

▷ USO DE BACTERIAS EN LA TERAPIA DEL CÁNCER

Las terapias bacterianas poseen numerosos mecanismos únicos para el tratamiento del cáncer. Dichos microorganismos ofrecen muchas ventajas, incluyendo citotoxicidad natural, motilidad y quimiotaxis. Es importante también, la presencia de un genoma relativamente grande para manipular su orientación específica hacia los tumores, lo que les permite penetrar en el tejido de forma activa, además de que son de fácil detección. Durante la última década, se ha demostrado que *Salmonella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* y *Escherichia coli* y otros géneros, tienen control sobre el crecimiento tumoral y promueven la supervivencia en modelos animales.^{15,16}

Dentro de las terapias diseñadas para tratar enfermedades neoplásicas, que tienen como objetivo la destrucción de las células blanco y en las cuales el uso de bacterias podría tener un papel importante, se encuentran las siguientes estrategias terapéuticas divididas en tres grupos: 1) terapias tendientes a potenciar la acción del sistema inmune (mediante expresión de citoquinas o quimiocinas en el tejido tumoral, o mediante la expresión de receptores antigénicos en células del sistema inmune,

entre otras), 2) terapias con genes tóxicos (que producen un efecto citotóxico directo en las células tumorales) y 3) terapias con genes suicidas (que permiten la activación enzimática de prodrogas en metabolitos citotóxicos).^{16,18}

A continuación se abordarán algunos estudios acerca del uso de la bacteria viva completa, atenuada o modificada genéticamente, bacterias como vectores de transporte de agentes tumoricidas y de enzimas bacterianas, y bacterias como fuente de toxinas y agentes inmunoterapéuticos.⁶

▷ BACTERIAS COMO AGENTES TUMORICIDAS

El uso de bacterias vivas no patógenas, atenuadas o genéticamente modificadas, ha comenzado a emerger como un agente antitumoral potencial, ya sea para proporcionar efectos directos tumoricidas o para liberación de moléculas tumoricidas.

Una de las principales ventajas de las terapias bacterianas para el cáncer, es su capacidad para dirigirse específicamente a los tumores. Dicha capacidad obedece a las condiciones intrínsecas encontradas dentro de los mismos, como son bajas concentraciones de oxígeno, circulación deteriorada y necrosis. Los mecanismos de acumulación de las bacterias en los tumores difieren dependiendo de su capacidad de tolerancia al oxígeno. Las bacterias anaerobias obligadas (por ejemplo, *Clostridium* y *Bifidobacterium*) no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno, por lo que al inyectar las esporas bacterianas sólo pueden germinar en las regiones anóxicas de los tumores. En el caso de las bacterias anaerobias facultativas como son *Salmonella* y *Escherichia*, usan un conjunto de mecanismos más complejos para la orientación hacia los tumores: la bacteria es atrapada en el tumor debido a la vasculatura caótica característica de los mismos, la bacteria presenta un crecimiento desmesurado dentro de los tumores tras la inflamación, la bacteria puede presentar quimiotaxis hacia los compuestos producidos por los tumores, y puede tener un crecimiento preferencial en microambientes específicos del tumor.¹⁶

Uno de los géneros bacterianos con los que se ha realizado diversos estudios es *Salmonella*. Este tipo de bacterias puede crecer tanto en condiciones aerobias como anaerobias, y es capaz de colonizar tumores pequeños y grandes. Se ha demostrado que una cepa derivada de *S. typhimurium*, tiene la capacidad de inhibir la metástasis de melanoma conduciendo a una reducción sustancial en el tamaño y número de micrometástasis. La cepa mencionada presenta supresión de dos de sus genes (*msbB* y *purl*), obteniendo así total atenuación (para impedir un shock tóxico en los animales inoculados) y dependencia de fuentes externas de purina y otras mutaciones

auxotróficas para sobrevivir. Esta dependencia deja indefensa a la bacteria lo que la hace incapaz de replicarse en tejidos normales como el hígado o el bazo¹⁰. Se han realizado experimentos tanto *in vivo* como *in vitro*, inoculando la cepa *S. typhimurium* A1 modificada con auxotrofias para leucina y arginina, con la expresión de una proteína verde fluorescente (GFP). La bacteria fue introducida intravenosa e intratumoralmente en ratones, fue capaz de invadir y replicarse intracelularmente en diversas células cancerosas, provocando la erradicación completa del tumor al día 20 después de la inoculación.¹ En estudios más recientes se observó la erradicación total del tumor al día 7.^{2,3} Por otra parte, se realizó un reaislado de la cepa, nombrada *S. typhimurium* A1-R, la cual permitió erradicar completamente la metástasis cancerosa inducida en ratones con las líneas XPA-1 (cáncer pancreático humano), HT-1080 (fibrosarcoma humano) y PC-3 (cáncer de próstata humano). Este tipo de cáncer se caracteriza por crecer en regiones necróticas tumorales, por lo que se pudieron erradicar los tumores sin necesidad de complementar con quimioterapia o algún otro agente citotóxico, además de que no presentó efectos adversos.^{2,11}

Los ensayos que emplean especies del género *Clostridium*, productoras de esporas, se basan principalmente en la actividad oncolítica natural de la bacteria, para lograr respuestas terapéuticas en el tumor. No obstante, en algunos estudios se ha observado que después de la administración, las esporas germinan dentro de los tumores, matando las células cancerosas. Se han demostrado efectos oncolíticos significativos en estudios pre-clínicos.⁸ A pesar de los éxitos preclínicos obtenidos con *Clostridium* y *Salmonella*, la eficacia terapéutica no siempre se ha podido adaptar en estudios humanos. Con *Clostridium*, a pesar de que existe evidencia de oncólisis en ensayos humanos, la tasa de recurrencia del tumor no disminuyó después del tratamiento.⁹

Las investigaciones en este campo han ido creciendo y nuevas cepas de bacterias han sido investigadas como agentes anticancerosos: *Salmonella choleraesuis*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, e incluso, *Escherichia coli*, todas han mostrado que pueden replicarse dentro de los tumores.¹²

▷ BACTERIAS COMO VECTORES PARA TERAPIA GÉNICA

Como resultado de la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento del cáncer, y con el advenimiento de la Biología Molecular, la terapia génica se ha ido desarrollando durante las últimas dos décadas, específicamente diseñando genes terapéuticos que puedan tratar el cáncer usando sistemas de vectores. Para ello, se han evaluado una variedad de genes y vehículos de liberación,

obteniendo progresos significativos realizados con diversas modalidades de terapia génica en pruebas clínicas. Sin embargo, la carencia de un sistema ideal de liberación de genes, representa un mayor obstáculo para implementar con éxito dicha terapia a nivel clínico. Para eliminar dicho obstáculo, se ha propuesto el uso potencial de la terapia combinada, estrategia que en la actualidad es objeto de estudio intensivo, incluyendo la asociación entre la citotoxicidad clásica y el uso de los genes que codifican para las proteínas citotóxicas, que mejoren la actividad antitumoral.

Se vislumbra que al producir la proteína de interés específicamente en el microambiente del tumor, los vectores bacterianos pueden proporcionar una terapia adyuvante de gran alcance para los diferentes tratamientos de cáncer. Por lo tanto, las bacterias sirven como vectores o vehículos para la liberación preferencial de los agentes anticancerígenos, péptidos citotóxicos, proteínas terapéuticas o pro-fármacos convertidos enzimáticamente en los tumores sólidos.

Los vectores bacterianos pueden mediar la expresión de los agentes, que son citotóxicos para la célula huésped. Maciag y colaboradores¹⁹ reportaron el primer ensayo clínico, utilizando bacterias vivas como vacuna terapéutica contra el virus del papiloma humano (VPH). Se aplicó el patógeno con virulencia atenuada *Listeria monocytogenes*, utilizando como antígeno HPV-16 E7 fusionado al fragmento de listeriolisina O (LLO) de la bacteria. Por otra parte, Prados y colaboradores²⁰ evaluaron el gen *gef*, un gen suicida que ha demostrado tener una actividad anti-proliferativa de las células tumorales, en combinación con fármacos quimioterapéuticos (paclitaxel, docetaxel o doxorubicina), observando que la combinación del gen *gef*/doxorubicina (10 μ M) indujo una actividad antitumoral mejorada en células MCF-7 de carcinoma de mama. Además, esta estrategia de combinación resultó en un efecto sinérgico significativo, lo que permite dosis más bajas de la droga que se utiliza para lograr el mismo efecto terapéutico.

▷ BACTERIAS COMO AGENTES INMUNOTERAPÉUTICOS

La inmunoterapia representa un enfoque atractivo para el tratamiento del cáncer, debido a la capacidad para erradicar tumores sistémicos en múltiples sitios del cuerpo, manteniendo la especificidad necesaria para discriminar entre las células neoplásicas y no neoplásicas. Puesto que los tumores son inmunogénicos, la estrategia de inmunoterapia emplea la estimulación del sistema inmunitario para destruir las células cancerosas. Sin embargo, el principal obstáculo es la capacidad de los

tumores para desarrollar tolerancia y evadir el sistema inmune. Los tumores son débilmente inmunogénicos por lo que el cuerpo puede reconocerlos como antígenos propios. Así, una de las nuevas estrategias de inmunoterapia emplea bacterias para mejorar la capacidad antigénica de las células tumorales.²¹

La terapia génica puede ser empleada para inducir en células tumorales, la producción de citocinas que pueden atraer y mejorar la actividad anti-tumoral de varios linfocitos. *S. typhimurium* ha sido utilizada en inmunoterapias en ensayos murinos, con reducción significativa del tumor, resultado de la expresión local de bacterias o la expresión de las moléculas estimulantes del sistema inmune en las células tumorales IL-18, CCL21, LIGHT o el ligando Fas.²² Los estudios preclínicos también han utilizado *Bifidobacterium* en terapia combinada con citocinas, como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), resultando en efectos anti-tumorales superiores. Curiosamente la respuesta inmune fue dirigida principalmente hacia las células tumorales, en lugar de las células de los vectores bacterianos.¹³

Dentro de la inmunoterapia también se ha sugerido el uso de inmunotoxinas, las cuales son moléculas que contienen una toxina proteica y un ligando, que puede ser un anticuerpo o un factor de crecimiento. El ligando se une a un antígeno de la célula diana, y la célula diana internaliza la inmunotoxina, permitiendo que la toxina migre al citoplasma, donde pueda matar a la célula. En el caso de inmunotoxinas recombinantes, el ligando y la toxina se codifican en el ADN que se expresa entonces en las bacterias, y la inmunotoxina purificada contiene el ligando y la toxina fusionados.²³

Entre las inmunotoxinas recombinantes más activas clínicamente probadas, son las dirigidas a neoplasias malignas hematológicas. Un agente que contiene interleucina-2 humana y la toxina de la difteria truncada, conocido como Denileucina Diftitox (Ontak® DAB[389]-IL-2), ha sido aprobado para su uso en el linfoma cutáneo de células T (LCCT) y ha mostrado actividad en las neoplasias hematológicas, incluyendo leucemias y linfomas. Al parecer la porción de IL-2 del anticuerpo-recombinante de naturaleza proteica se une con el receptor de IL-2, que funciona como antígeno y que se encuentra sobre la célula blanco, permitiendo que la toxina de difteria entre a la célula e induzca la muerte celular. Hasta el momento se encuentra en ensayos de pruebas clínicas fase III con el linfoma LCCT.²⁴

Por otra parte, desde hace varios años ha surgido el uso de vacunas contra el cáncer, cuyo objetivo es romper la tolerancia del sistema inmune a antígenos específicos, caracterizados por su expresión principal o exclusiva en las

células tumorales. Esta estrategia consiste en la liberación de un vector que exprese el gen de interés, y la función es orientar la actividad inmunológica de manera similar, a como funcionan las vacunas tradicionales.

Las estrategias de vacunación intentan estimular la respuesta inmune mediante la generación de linfocitos T citotóxicos y/o anticuerpos de células B, para romper la tolerancia pre-existente hacia los antígenos específicos. Las bacterias que se dirigen a las células de inducción del sistema inmune, son candidatos altamente interesantes para la liberación de vacunas, y así se han desarrollado como vehículos vivos, para la inducción de respuestas protectoras a una amplia variedad de antígenos.¹²

▷ TERAPIA CON PRO-FÁRMACO ACTIVADO ENZIMÁTICAMENTE

Esta estrategia usa bacterias anaerobias que han sido transformadas con una enzima, que puede convertir un pro-fármaco no tóxico en una droga tóxica. Con la proliferación de la bacteria en las áreas de necrosis e hipoxia del tumor, la enzima se expresa únicamente en el tumor. Así, un pro-fármaco aplicado sistémicamente es metabolizado al fármaco tóxico sólo en el tumor.⁸

Se han reportado estrategias terapéuticas que consisten en la expresión exógena de un gen o ADNc, que codifica para una enzima capaz de convertir una pro-droga inocua en un metabolito tóxico.^{25,26} Entre ellas se encuentran: 1) la terapia con genes suicidas también conocida como quimioterapia molecular, GDEPT (del acrónimo en inglés de *Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy*), 2) VDEPT (*Virus Directed Enzyme Prodrug Therapy*) cuando se utilizan vectores virales para transferir el gen terapéutico, y 3) BDEPT (*Bacterial Directed Enzyme Prodrug Therapy*), cuando se utilizan bacterias con el mismo fin. En estas terapias, la pro-droga es administrada sistémicamente, y sólo será capaz de inducir citotoxicidad en las células que hayan incorporado el transgen. La principal ventaja de este tipo de terapias frente a la quimioterapia convencional, radica en la posibilidad de alcanzar altas concentraciones del principio activo en el tejido blanco, minimizando los efectos adversos asociados al tratamiento. Por otra parte, esta acción localizada proporciona un incremento en la acción terapéutica del tratamiento, permitiendo el establecimiento de una terapia más agresiva.²⁶

La especificidad tisular depende tanto de la enzima terapéutica, como del vector de transferencia génica utilizado. Así, en una situación ideal la enzima terapéutica no debe expresarse en otros tejidos del organismo, su expresión ectópica debe ser necesaria y suficiente para metabolizar eficientemente una gran cantidad de pro-droga en el tejido tumoral. Para lograr este propósito,

se utilizan habitualmente enzimas de organismos no mamíferos. No obstante, la naturaleza inmunogénica de las enzimas provenientes de otras especies constituye el principal efecto colateral, que puede tener efectos positivos y negativos, en términos de inducción de una respuesta antitumoral.²⁵

Para la mayoría de los sistemas suicidas, se ha descrito que células que no expresan el gen terapéutico, pero que se encuentran en los alrededores de células que sí lo expresan, son afectadas por la citotoxicidad del sistema. Este fenómeno se denomina *efecto adyacente* o *bystander effect*, y se produce por la transferencia de metabolitos tóxicos de la pro-droga de una célula a otra. La naturaleza de dicha transferencia depende del sistema terapéutico y del tipo celular, incluyendo la endocitosis de fragmentos de células apoptóticas cargadas de metabolitos y la comunicación intercelular mediada por uniones *gap*.²⁷

Las principales ventajas de esta estrategia sobre la quimioterapia son la acción localizada, lo cual permite que la terapia sea más agresiva, además de que permite altas concentraciones del principio activo en el tejido diana, minimizando los efectos adversos asociados al tratamiento. Sin embargo, la naturaleza inmunogénica de las enzimas provenientes de otras especies constituye el principal efecto colateral.²⁸

▷ TOXINAS PROTEICAS BACTERIANAS USADAS EN LA TERAPIA DEL CÁNCER

Las toxinas proteicas bacterianas son los principales factores de virulencia de las bacterias patógenas, su producción representa una de las principales estrategias bacterianas para interactuar con las células de mamíferos. Las toxinas bacterianas han evolucionado de acuerdo a una relación estrecha del microorganismo, con los diversos y sofisticados mecanismos de las funciones de la célula huésped, de una manera que pueden favorecer la supervivencia y propagación de dichos microorganismos.²⁹

Una de las ventajas del uso de toxinas en la terapia del cáncer, es que pueden matar a las células a niveles reducidos o alterar los procesos celulares, tales como el control de la proliferación, la apoptosis y la diferenciación celular. Estas alteraciones se asocian con la carcinogénesis y pueden estimular alteraciones funcionales o inhibir controles de la célula normal. Ejemplos de este tipo de moléculas son, dentro de los inhibidores del ciclo celular, las toxinas de distensión citoletal (CDTs) y el factor inhibidor de ciclo (CIF), los cuales bloquean la mitosis y se cree que comprometen el sistema inmunitario por inhibición de la expansión clonal de los linfocitos. Por el contrario, estimuladores del ciclo celular, tales como el factor citotóxico necrotizante (CNF), promueven la

proliferación celular e interfieren con la diferenciación de las células.³⁰ La Citolisina A (ClyA; también conocida como HlyE) es una toxina bacteriana que funciona mediante la formación de poros en las membranas de células de mamíferos, induciendo con ello apoptosis. Varios grupos han demostrado que el tratamiento de ratones con *Escherichia coli* o *Salmonella typhimurium* que expresan ClyA reducen el crecimiento del tumor.¹⁷

En el caso de la bacteria *Bacillus anthracis* se ha observado que produce varias toxinas, que son cruciales para el establecimiento de la infección y patogénesis. Estas consisten en tres tipos de proteínas: el antígeno protector (PA), el factor edema (EF) y el factor letal (LF). La combinación binaria de estas proteínas secretadas forman las dos toxinas del ántrax: PA combinada con LF, conocida como toxina letal (LeTx) y PA combinada con EF, conocida como toxina edema (EdTx). LF y EF actúan enzimáticamente en sustratos intracelulares. LF es una metaloproteasa dependiente de zinc que se une e inactiva la mayoría de las isoformas de MAPK (de las siglas en inglés Mitogen-activated protein kinases, o cinasas proteicas activadas por mitógenos), mientras que EF es una adenilato ciclasa dependiente de calcio y calmodulina que causa un incremento dramático de AMPc citoplasmático, causando un desbalance homeostático de agua.³¹ Ambas toxinas bloquean las vías de señalización esenciales para la defensa de las células del huésped. La toxina letal, PA combinada con LF, ha mostrado actividad antitumoral en melanoma tanto *in vitro* como *in vivo*.³²

Además de los estudios realizados con toxinas bacterianas previamente caracterizadas, en estudios recientes se aislaron *Azurin* y *Laz*, dos proteínas bacterianas que ejercen efectos anticancerosos hacia una variedad de tumores sólidos. Asimismo se ha observado que no sólo afectan a tumores sólidos, sino que al ser evaluados en líneas celulares de leucemia (K562 y HL60), ambos compuestos ejercieron actividad tóxica.³³

Otros agentes citotóxicos relevantes por su selectividad hacia las células cancerosas comparados con las células normales, son tres de los miembros de la familia de los TnF α : 1) ligando FAS (FASL), 2) ligando inductor de apoptosis relacionado con el TnF (TRAIL) y 3) TnF α . Estas proteínas inducen apoptosis a través de los receptores de las vías de muerte celular, que activan la caspasa 8 y la caspasa 3. Sin embargo, cuando son administrados sistémicamente como fármacos proteicos, los tres miembros de esta familia tienen dos deficiencias que son superadas por la liberación mediante vectores bacterianos: hepatotoxicidad y una vida-media corta en el aparato circulatorio.³⁴

► CONCLUSIONES

Recientemente, muchos experimentos han demostrado que las terapias bacterianas pueden provocar la regresión exitosa de los tumores y promover la supervivencia en ratones. No obstante, aún quedan numerosos desafíos antes de que las bacterias puedan ser utilizadas en la clínica, incluyendo la limitada producción de fármacos, la toxicidad bacteriana intrínseca, la eficiencia de la focalización, la inestabilidad genética y la combinación con otras terapias.

A pesar del potencial de los sistemas de liberación bacterianos vivos, es evidente que en muchos casos, es necesario seguir trabajando en la búsqueda de sistemas de liberación óptimos que presenten limitados efectos secundarios adversos. Además es necesario optimizar la producción de fármacos, para que su síntesis sea en una concentración suficiente como para producir los efectos terapéuticos deseados, pero en concentraciones no tan altas como para causar toxicidad sistémica.

Una propiedad única de seguridad de los vectores bacterianos es su sensibilidad a los tratamientos antibióticos clínicamente disponibles, permitiendo su control post administración, una propiedad invaluable para una terapia génica segura. Esto es importante, ya que varias de las plataformas de liberación bacteriana descritas han entrado en ensayos clínicos humanos.¹⁻³

En general, el desarrollo de vectores bacterianos vivos con potencial para la liberación de agentes terapéuticos, es un área de investigación interesante que está ganando aceptación por parte de los médicos y las autoridades reguladoras por su potencial para ofrecer resultados clínicos positivos. A la fecha, la seguridad y eficacia clínica observada con la generación actual de vectores, indica que estamos más cerca de una era en la que los vectores bacterianos vivos recombinantes, pronto serán aceptables para su uso terapéutico.

Sin embargo, la complicada fisiopatología de un tumor y la metástasis asociada, hace complicada la elección de una sola modalidad terapéutica para la erradicación completa del tumor. Por lo tanto, la combinación de la terapia génica del cáncer con otros tratamientos convencionales representaría una gran oportunidad para el tratamiento de este padecimiento.

REFERENCIAS

1. Zhao M, Geller J, Ma H, et al. Monotherapy with a tumor-targeting mutant of *Salmonella typhimurium* cures orthotopic metastatic mouse models of human prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007;104:10170-10174.
2. Hayashi K, Zhao M, Yamauchi K, et al. Cancer metastasis directly eradicated by targeted therapy with a modified *Salmonella typhimurium*. *Journal of Cellular Biochemistry* 2009;106:992-998.

3. Nagakura C, Hayashi K, Zhao M, et al. Efficacy of a genetically-modified *Salmonella typhimurium* in an orthotopic human pancreatic cancer in nude mice. *Anticancer Research* 2009;29:1873-1878.
4. Weinberg RA. The nature of cancer. In: *The biology of cancer*. New York. Garland Sciencenh. 2007. 25-56.
5. Dimri G. What has senescence got to do with cancer?. *Cancer Cell* 2007;7:505-512.
6. Patyar S, Joshi R, Prasad D, et al. Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy. *Journal of Biomedical Science* 2010;17:21.
7. Gardlik R, Behuliak M, Palfy R, et al. Gene therapy for cancer: bacteria-mediated anti-angiogenesis therapy. *Gene Therapy* 2011;18:425-431.
8. Mengesha A, Dubois L, Paesmans K, et al. Clostridia in Anti-tumor Therapy. In: *Clostridia: Molecular Biology in the Post-genomic Era*. United Kingdom. Caister Academic Press. 2009. 215-230.
9. King I, Iterson M, Bermudes D. Tumor-targeted *Salmonella typhimurium* overexpressing cytosine deaminase: a novel, tumor-selective therapy. *Methods in Molecular Biology* 2009;542:649-659.
10. Leschner S, Westphal K, Dietrich N, et al. Tumor invasion of *Salmonella enterica* serovar typhimurium is accompanied by strong hemorrhage promoted by TNF-. *PLoS One* 2009;4:66-92.
11. Yam C, Zhao M, Hayashi K, et al. Monotherapy with a tumor-targeting mutant of *Salmonella typhimurium* inhibits liver metastasis in a mouse model of pancreatic cancer. *Journal of Surgical Research* 2010;164:248-255.
12. Baban CK, Cronin M, Hanlon D, et al. Bacteria as vectors for gene therapy of cancer. *Bioengineered Bugs* 2010;1(6):385-394.
13. Xu YF, Zhu LP, Hu B, et al. A new expression plasmid in *Bifidobacterium longum* as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy. *Cancer Gene Therapy* 2007;14:151-157.
14. Hu B, Kou L, Li C, et al. *Bifidobacterium longum* as a delivery system of TRAIL and endostatin cooperates with chemotherapeutic drugs to inhibit hypoxic tumor growth. *Cancer Gene Therapy* 2009;16:655-663.
15. Hoffman RM. Tumor-seeking *Salmonella* aminoacid auxotrophs. *Current Opinion in Biotechnology* 2011;22:1-7.
16. Forbes NS. Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 2011;10:785-794.
17. Yamamoto M, Curiel DT. Cancer gene therapy. *Technology in Cancer Research and Treatment* 2005;4:315-330.
18. Garcia RL, Abate-Daga D, Rojas A, et al. E-cadherin contributes to the bystander effect of TK/GCV suicide therapy and enhances its antitumoral activity in pancreatic cancer models. *Gene Therapy* 2011;18:73-81.
19. Maciag PC, Radulovic S, Rothman J. The first clinical use of a live-attenuated *Listeria monocytogenes* vaccine: a Phase I safety study of Lm-LLO-E7 in patients with advanced carcinoma of the cervix. *Vaccine* 2009;27:3975-3983.
20. Prados J, Melguizo C, Rama A, et al. Gef gene therapy enhances the therapeutic efficacy of doxorubicin to combat growth of MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Chemotherapy Pharmacology* 2010;66:69-78.
21. Xu J, Liu X, Zhou S, et al. Combination of immunotherapy with anaerobic bacteria for immunogene therapy of solid tumours. *Gene Therapy and Molecular Biology* 2009;13:36-52.
22. Loeffler M, Le'Negrate G, Krajewska M, et al. IL-18-producing *Salmonella* inhibit tumor growth. *Cancer Gene Therapy* 2008;15:787-794.
23. Frankel A, Liu JS, Rizzieri D, et al. Phase I clinical study of diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Leukemia & Lymphoma* 2008;49:543-553.
24. Kreitman R. Recombinant immunotoxins containing truncated bacterial toxins for the treatment of hematologic malignancies. *BioDrugs* 2009;23:1-13.
25. Springer C, Lehouritis P, Marais R. Bacteria in cancer therapy. *Microbiol Today* 2005;56:113-115.
26. Portsmouth D, Hlavaty J, Renner M. Suicide genes for cancer therapy. *Molecular Aspects of Medicine* 2007;28:4-41.
27. Altaner C. Prodrug cancer gene therapy. *Cancer Letters* 2008;270:191-201.
28. Li X, Fu G, Fan Y, et al. *Bifidobacterium adolescentis* as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy: selective inhibitor of angiogenesis and hypoxic tumor growth. *Cancer Gene Therapy* 2003;10:105-111.
29. Fabbri A, Travaglione S, Falzano L, et al. Bacterial Protein Toxins: Current and Potential Clinical Use. *Current Medicinal Chemistry* 2008;15:1116-1125.
30. Nougayrède J, Taieb F, De Rycke J, et al. Cyclomodulins: bacterial effectors that modulate the eukaryotic cell cycle. *Trends in Microbiology* 2005;13:103-110.
31. Turk B. Manipulation of host signalling pathways by anthrax toxins. *Biochemical Journal* 2007;402:405-417.
32. Rouleau C, Menon K, Boutin P, et al. The systemic administration of lethal toxin achieves a growth delay of human melanoma and neuroblastoma xenografts: assessment of receptor contribution. *International Journal of Oncology* 2008;4:739-748.
33. Kwan J, Fialho A, Kundu M, et al. Bacterial proteins as potential drugs in the treatment of leukemia. *Leukemia Research* 2009;33:1392-1399.
34. Cronin M, Morrissey D, Rajendran S, et al. Orally administered *Bifidobacterium* as vehicles for delivery of agents to systemic tumors. *Molecular Therapy* 2010;18:1397-1407.