



MICROBIOTA Y PATOLOGÍA RESPIRATORIA: REVISIÓN SOBRE LOS CONOCIMIENTOS MÁS RECIENTES.

Aranco Rodrigo

Curbelo Damián

Gallo Gonzalo

Iturralde Mateo

Ramírez José Ignacio

Servetto Micaela

Orientador: Prof. Adj. Dra. Analía Rial

Depto. Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene
Facultad de Medicina, Universidad de la República
Montevideo, Uruguay

Ciclo de Metodología Científica II-2020
Grupo 69

INDICE

MICROBIOTA Y PATOLOGÍA RESPIRATORIA: REVISIÓN SOBRE LOS CONOCIMIENTOS MÁS RECIENTES..	1
INDICE	2
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN:	5
OBJETIVO:	9
METODOLOGÍA:	9
DESARROLLO.....	10
¿CÓMO INFLUYE LA MICROBIOTA RESPIRATORIA EN EL SISTEMA INMUNE?	10
¿CUÁL ES EL ROL DE LA MICROBIOTA EN LA PATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL TRACTO RESPIRATORIO?.....	13
¿CÓMO DETERMINA,LA MICROBIOTA,EL DESARROLLO DE PATOLOGÍAS RESPIRATORIAS CRÓNICAS COMO EL ASMA O EL EPOC?	18
¿CUÁL ES LA VINCULACIÓN DE LA MICROBIOTA CON EL DESARROLLO Y PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE PULMÓN?	24
CONCLUSIONES:.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMEN

Hasta hace poco tiempo se creía en los pulmones como un ambiente estéril, tan solo se conocía la colonización de las vías aéreas superiores. Gracias a los avances técnicos en métodos de cultivo y secuenciación se ha logrado identificar la microbiota pulmonar. Estos microorganismos, junto a la ya conocida microbiota de las vías aéreas superiores, conforman toda la microbiota respiratoria, la cual está compuesta por una diversidad de bacterias, virus y hongos. La composición de la microbiota varía por factores externos (edad, desarrollo, población, tabaquismo, etc.), así como también por factores internos. Distintas condiciones de pH, temperatura, PO₂, PCO₂ que se dan a lo largo del tracto respiratorio determinan distintos nichos anatómicos. Estos nichos se ven afectados por una variedad de patologías frecuentes del aparato respiratorio, desde infecciones del sistema respiratorio o patologías inflamatorias, hasta patologías pulmonares malignas. La microbiota normal de estos nichos anatómicos puede verse alterada, en un proceso conocido como disbiosis, lo cual podría llevar a procesos de inflamación e inmunomodulación, que resultan partícipes en la patogenia, la progresión y también en la resolución de estas enfermedades. El conocimiento de estos procesos va cobrando cada vez más importancia por su aplicación en la clínica, específicamente como elementos diagnósticos, pronósticos e incluso terapéuticos. En esta revisión se realiza una puesta a punto de los avances en el área, específicamente sobre el rol y vinculación de la microbiota respiratoria con el sistema inmune, las infecciones respiratorias, la patología respiratoria crónica y el cáncer de pulmón.

Palabras clave: *Microbiota respiratoria, Sistema inmune, infecciones respiratorias, Asma, EPOC, Cáncer.*

ABSTRACT

Until recently, the lungs were believed to be a sterile environment, and only the colonization of the upper airways was known. Thanks to technical advances in sequencing methods, the lung microbiota has been identified. These microorganisms, together with the upper airway microbiota, make up the entire respiratory microbiota, which is made up of a variety of bacteria, viruses and fungi. The composition of the microbiota varies by external factors (age, development, population, smoking, etc.), as well as by internal factors. Different conditions of pH, temperature, PO₂, PCO₂ that occur throughout the respiratory tract determine different anatomical niches. These niches are affected by a variety of common pathologies of the respiratory system, such as infections, inflammatory pathologies or malignant pulmonary pathologies. The normal microbiota of these anatomical niches can be altered, in a process known as dysbiosis, which could lead to inflammation and immunomodulation processes, which are involved in the pathogenesis, progression and also in the resolution of these diseases. The knowledge of these processes is gaining more and more importance due to its clinical application, specifically as diagnostic, prognostic and even as therapeutic elements. This review is made to resume the advances in the area, specifically on the role and linkage of the respiratory microbiota with the immune system, respiratory infections, chronic respiratory pathology and lung cancer.

Key words: *Respiratory microbiota, immune system, respiratory infections, Asthma, COPD, Cancer.*

INTRODUCCIÓN:

El concepto de microbiota comprende a una población de microorganismos que comparten un nicho específico en un momento determinado. La microbiota está compuesta por aquellos organismos que integran esta población, conformando distintas comunidades. Los microorganismos individuales interactúan entre sí de forma funcional y metabólica. La microbiota está compuesta por bacterias, por archeas, eucariotas monocelulares y virus.^{1,2} La microbiota intestinal ha sido extensamente estudiada. En múltiples publicaciones se hace referencia sobre la importancia de la misma para el desarrollo de varias funciones, entre las que destacan el desarrollo del tracto digestivo, del sistema nervioso, de los pulmones y del sistema inmune.³ Si bien la microbiota respiratoria no ha sido estudiada de forma tan extensa, diversas investigaciones plantean que ésta presenta varias funciones. Una de las más reconocidas es ejercer resistencia ante la colonización de microorganismos ajenos al microbioma. Esto se basa en la privación de nutrientes, limitando la posibilidad de colonización e invasión de la mucosa al disminuir su capacidad de reproducción y perpetuación. El mantenimiento del balance simbiótico de todos los organismos que habitan en los distintos nichos contribuye a este fenómeno. En diferentes estudios han sido detectados microorganismos específicos de la microbiota que se relacionan con esta función, además del sistema inmune del huésped que también contribuye a esto.^{1,4} La alteración del balance de la microbiota (disbiosis) ya sea en su composición y/o en su capacidad funcional se asocia estrechamente con diversas patologías.^{3,4} Otra de las funciones reconocidas de la microbiota respiratoria se encuentra estrechamente relacionada con el desarrollo del sistema respiratorio. Estudios realizados en modelos de ratones *germ-free* (GF) demostraron que los pulmones de las crías de estos eran de menor tamaño y con menor concentración de unidades alveolares maduras. Posteriormente se realizaron inoculaciones de *Lactobacillus spp.* en las cavidades nasales de estas crías, lo que generó un aumento de la maduración de estas unidades. Además, se ha demostrado que el tejido linfático vinculado a la nasofaringe aumenta después del nacimiento, asociado en parte al estímulo generado por la microbiota respiratoria.¹ Tradicionalmente, las técnicas de estudio de la microbiota del tracto respiratorio requieren del cultivo de los microorganismos lo que presenta grandes limitaciones debido a la variedad de requerimientos nutricionales de las distintas especies involucradas. Por otro lado, presenta una gran dificultad debido a la variedad de todos los componentes de la microbiota: eucariotas unicelulares, archeas y virus. El desarrollo de técnicas moleculares, especialmente la metagenómica, han permitido estudiar con mayor profundidad la composición del microbioma y la relación que éste presenta con el huésped.⁵ La recolección de muestras del tracto respiratorio alto (TRA) no presentan mayores dificultades debido a su relativa accesibilidad. En cambio, existen limitaciones relacionadas a la accesibilidad del tracto respiratorio bajo (TRB). Parte de la dificultad está dada porque la

capacidad de cultivar bacterias de este sector se ve disminuida debido a su baja concentración en un pulmón sano y a la escasez de modelos animales donde se pueda realizar el estudio de la microbiota.⁶ Debido a estas limitaciones la toma de muestras para el estudio de la microbiota del TRB se basa en técnicas como el Lavado Broncoalveolar (BAL), el cepillado alveolar y muestras de esputo que presentan altas tasas de contaminación, lo que repercute en la calidad de la muestra.⁷ Tradicionalmente, el pulmón era considerado un órgano estéril. Esta conclusión fue alcanzada cuando la microbiota era examinada a partir de estudios basados en las clásicas técnicas de cultivo. Con la implementación de las técnicas nombradas anteriormente (estudios moleculares) este concepto cambió, permitiendo ampliar los horizontes de estudio en las últimas décadas.^{2,8}

La colonización del tracto respiratorio se comienza a dar a partir del nacimiento. Durante las primeras horas de vida el TRA se ve colmado de una amplia gama de microorganismos, los cuales son probablemente de origen materno. Estos al comienzo son inespecíficos, pero en el transcurso de las primeras semanas de vida se ven modificados para llegar a organismos más específicos, dándose un aumento en la concentración de *Staphylococcus spp*, seguido del *Corynebacterium spp*, el *Dolosigranulum spp* y *Moraxella spp*. Al llegar a los cuatro a seis meses de vida, se alcanza una estabilización de las poblaciones bacterianas^{1,5}. Existen determinantes que alteran la composición y maduración de la microbiota, entre estos destaca el mecanismo de nacimiento y el tipo de alimentación del recién nacido. De acuerdo al mecanismo por el cual se haya dado el nacimiento, el organismo del recién nacido habrá tenido contacto con diferentes poblaciones bacterianas. En el caso de haber sido por vía vaginal el contacto fue con las bacterias de dicho sector y del tubo digestivo, en el caso de haber sido por cesárea el contacto es con bacterias del sector dérmico.⁹ En lo que respecta al tipo de alimentación, aquellos recién nacidos alimentados a partir de leche materna recibieron de ésta anticuerpos maternos y bacterias como el *Bifidobacterium spp* y el *Lactobacillus spp*, lo que se relaciona con una menor incidencia de infecciones.¹

Los antibióticos han sido reconocidos como los más importantes perturbadores del equilibrio de la microbiota. Este desequilibrio conlleva alteraciones de sus funciones con un aumento de las infecciones del tracto respiratorio. Existen además diversos elementos que también pueden alterar la función de la misma, como las estaciones del año, la convivencia con hermanos, la concurrencia a centros de educación preescolar, la vacunación, la exposición al humo de tabaco y las infecciones previas. Se ha visto que las características genéticas del huésped tienen poca influencia sobre estas alteraciones¹.

El sistema respiratorio es un conjunto de órganos que se divide en dos sectores, el TRA que se compone de las narinas, las fosas nasales, los senos paranasales, la nasofaringe, la orofaringe y

la porción de la laringe que se encuentra sobre las cuerdas vocales, y el TRB que está compuesto por las cuerdas vocales, la tráquea, los bronquios, los bronquiolos y los alvéolos.¹ Es un complejo conjunto de órganos, cuya función principal es el intercambio de gases. El sistema respiratorio cuenta con una superficie de 70m², la cual se encuentra habitada por variadas comunidades de bacterias que son específicas para cada nicho.¹ A pesar de la continuidad de todo el sistema respiratorio, ambos sectores presentan características distintivas que determinan que las poblaciones bacterianas se encuentren de 100 a 10.000 veces más concentradas a nivel del TRA⁶. Esto puede ser explicado debido a las diferentes características que tienen los sectores del tracto respiratorio, ya que están expuestos a diversos factores ambientales. Estos sitios están colonizados por distintas bacterias, virus y hongos.¹ Las narinas son el sector más anterior de todo el tracto respiratorio, en estrecha relación con el ambiente. El epitelio que las reviste es epitelio escamoso plano queratinizado, con glándulas sebáceas y serosas lo que favorece la colonización de bacterias que presentan enzimas lipolíticas, como lo son el *Staphylococcus spp.*, *Propionibacterium spp.* y *Corynebacterium spp.* También se pueden encontrar bacterias típicas de otros nichos como *Moraxella spp.*, *Dolosigranulum spp.* y *Streptococcus spp.*¹ La nasofaringe está cubierta por epitelio estratificado plano con sectores de epitelio respiratorio. En comparación con los sectores anteriores, la microbiota de la nasofaringe es más diversa. Las bacterias que predominan son *Moraxella spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Corynebacterium spp.* Además, existen bacterias que son características de la nasofaringe: *Dolosigranulum spp.*, *Haemophilus spp.* y *Streptococcus spp.*^{1,6} La orofaringe presenta una mayor diversidad bacteriana que la nasofaringe y está recubierta por un epitelio escamoso no queratinizado. Las bacterias que se encuentran en este sector son mayoritariamente *Neisseria spp.*, *Rothia spp.* y anaerobios como *Veillonella spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.* y *Leptotrichia spp.*^{1,6} Se han realizado estudios basados en PCR que revelan la existencia de una extensa cohabitación por parte de virus del tracto respiratorio. Algunos de estos son *Rhinovirus*, *Bocavirus*, *Polyomaviruses*, *Adenovirus*, *Coronavirus humanos* y la familia *Anelloviridae*. El tracto respiratorio también presenta un micobioma extenso compuesto por *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Candida spp.* y *Alternaria spp.*¹ De acuerdo con la continuidad de la mucosa del tracto respiratorio la principal fuente de microorganismos del TRB es el TRA. La explicación más aceptada para este traslado de microorganismos son las micro aspiraciones desde el TRA al TRB. A pesar de la directa correlación que presentan los microorganismos de ambos sectores, se detectan diferencias notorias entre la microbiota de estos, sugiriendo que hay más factores que intervienen en la dinámica y la homeostasis del TRB.⁶ El TRA se caracteriza por ser un reservorio de microorganismos potencialmente patógenos, por ejemplo *Streptococcus pneumoniae*¹. La tráquea, los bronquios y los bronquiolos están compuestos por un epitelio similar. Los alvéolos presentan un epitelio específico y diferenciado que les permite realizar el intercambio gaseoso¹. La microbiota presente en el TRB difiere de aquella encontrada a nivel

del TRA, aunque presentan un alto grado de solapamiento: comparten especies como *Moraxella spp*, *Haemophilus spp*, *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp*.¹ En el adulto sano, la microbiota del pulmón parece estar dominada por distintos géneros de la familia *Firmicutes* como: *Streptococcus spp* y *Veillonella spp*, géneros de la familia *Bacteroidetes* incluyendo *Prevotella spp* y *Proteobacteria: Pseudomona spp*.^{1,9} La composición viral del pulmón se encuentra frecuentemente compuesta por la familia *Anelloviridae*.¹ En lo que respecta al micobiom apulmonar, está compuesto mayoritariamente por miembros de los géneros *Eremothecium*, *Systemostrema*, *Malassezia*, *Davidiellaceae*, *Aspergillus*, y *Penicillium*.^{1,10} Distintos parámetros fisiológicos varían a lo largo del tracto respiratorio. Algunos de ellos son el pH, la humedad, la temperatura, la presión de oxígeno, la presión de dióxido de carbono, entre otras. A nivel pulmonar, estos parámetros también presentan variaciones según las distintas regiones del mismo.^{1,7}

La microbiota ha sido objeto de estudio en varias patologías que afectan a las vías respiratorias. Se plantea que, conociéndola, se puedan realizar acciones con fines terapéuticos, evitando el desarrollo de distintas patologías, que van desde infecciones respiratorias hasta enfermedades crónicas de la vía aérea. El estudio de la microbiota ha contribuido a un mejor entendimiento del desarrollo de diversas patologías.⁹ El pulmón es un órgano que presenta baja concentración bacteriana, y en el cual cambios transitorios en la composición de la microbiota pueden generar una gran perturbación en su diversidad con la consecuente disbiosis y respuesta inflamatoria del huésped.⁶ En caso de probar que la microbiota pulmonar está directamente involucrada en el desarrollo de los procesos patológicos, y no de forma secundaria o incidental, podría ser considerada un blanco terapéutico, con el objetivo de corregir la disbiosis y restaurar la microbiota saludable utilizando probióticos, prebióticos, antibióticos e inhibidores específicos de moléculas.⁹ Entender como incide la microbiota y sus variaciones, la cual contribuye al desarrollo y severidad de las diferentes patologías, puede orientar a desarrollar medidas diagnósticas, pronósticas y terapéuticas, las cuales permitirían llevar a cabo una intervención oportuna.⁵

OBJETIVO:

Esta revisión tiene por objetivo realizar una actualización del estado del conocimiento científico, que permita evaluar la posible relación entre la microbiota respiratoria y el desarrollo, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de algunas de las enfermedades más frecuentes del aparato respiratorio.

METODOLOGÍA:

Se realizó una revisión bibliográfica narrativa sobre el tema planteado. Para la misma se utilizaron motores de búsqueda académicos (PubMed, Google Scholar, Timbo) así como también revistas de referencia en la temática. La búsqueda fue determinada por varias palabras clave, tales como: Respiratory microbiota, Dysbiosis, Pulmonary pathology, respiratory tract infection, chronic respiratory diseases, asthma, lung cancer, COPD, lungs microbiome, probiotics, airway, lung immunity, pneumonia, bronchiolitis, intensive care unit, intubation, mechanical ventilation, low respiratory tract, tuberculosis, inflammation, smoking. Los artículos fueron seleccionados tomando en cuenta el tiempo de publicación (se priorizaron las publicaciones de los últimos cinco años), y se incluyeron artículos en idioma inglés para poder abarcar la bibliografía más actualizada. Además, los artículos fueron seleccionados a criterio de los autores de la revisión considerando la evidencia y calidad de las publicaciones.

DESARROLLO

A continuación, se desarrollan los principales temas seleccionados por los autores de la revisión. A partir de la bibliografía revisada se eligieron diversas interrogantes a responder a lo largo de este trabajo.

¿Cómo influye la microbiota respiratoria en el sistema inmune?

Es bien conocida la existencia de múltiples interacciones bidireccionales entre bacterias y virus en la microbiota respiratoria. Por un lado, los virus respiratorios tienen la capacidad de modular las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas en el huésped, favoreciendo así la colonización e infección bacteriana. Esta colonización puede favorecer, o también impedir, las infecciones virales, mediante interacciones que pueden ser directas o indirectas a través del sistema inmune como mediador. De la misma forma, existen otras interacciones mutualistas o antagónicas en la microbiota respiratoria entre diferentes géneros de bacterias y hongos.¹ Debido a esto resulta importante analizar cómo interacciona el sistema inmune del huésped con la microbiota respiratoria y con los agentes infecciosos, de manera de lograr establecer un equilibrio entre la detección inmunológica, la tolerancia de los microorganismos de la misma y el control de patógenos invasores. A lo largo de todo el tracto respiratorio existen diferentes líneas de defensa. En primer lugar se encuentra la capa mucosa de las vías respiratorias, que se encarga de atrapar las partículas exógenas (que contienen a los microorganismos) y en conjunto con el barrido ciliar promueven la eliminación de las mismas.¹ La microbiota pulmonar puede promover la expresión de varias citoquinas de la familia de las interleucinas (IL)-17, como IL-17A e IL-17E, que se ha demostrado que mejoran la producción de moco en las vías respiratorias mediante el aumento de la expresión del gen Muc5ac.¹¹ Por otro lado, se ha identificado la acción ejercida por las inmunoglobulinas A, sintetizadas por los plasmocitos, que impiden que los patógenos interactúen con los receptores de la superficie epitelial. La siguiente línea de defensa son las células epiteliales, las cuales ejercen su acción a través de diversos mecanismos como la secreción de sustancias antimicrobianas y la activación de receptores que impulsan la señalización inflamatoria. En el tracto respiratorio alto se encuentran las células M (*microfold*), provenientes del tejido linfóide asociado a mucosas (MALT), cuya función es la de transportar los microorganismos desde el epitelio hasta la lámina propia subyacente, donde pueden activar las células dendríticas que se encargarán de presentar los antígenos procesados a los diferentes subtipos de células T colaboradoras (Th1, Th2, Th17). A nivel pulmonar, el mecanismo es similar, donde las células dendríticas presentan antígenos del espacio alveolar a los diferentes tipos de células T, desencadenándose así respuestas adaptativas.¹

Tanto las células epiteliales del tracto respiratorio superior e inferior, como las células dendríticas o los macrófagos alveolares presentan receptores para detectar la microbiota. Estos incluyen los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), como los TLR o los receptores tipo NOD. Estos son esenciales para desencadenar la activación de las vías de señalización inflamatorias y mantener la tolerancia inmunitaria. Sin embargo, la detección de la microbiota involucra también a las células M, especializadas en la captación de antígenos lumenales que activan las células dendríticas tolerogénicas. Por lo tanto, para el reclutamiento y activación de las células T reguladoras (Treg) y de los macrófagos alveolares, participantes importantes en el proceso de tolerancia inmune, es fundamental el proceso de señalización microbiana¹. Dentro de los macrófagos alveolares, se encuentran los que son activados por la vía alternativa (M2) que tienen un efecto antiinflamatorio al inhibir la activación de células T por las células dendríticas. Bajo la exposición a diferentes agonistas de TLR provenientes de la microbiota, el subtipo M2 puede adquirir una función reguladora al cambiar al fenotipo M2b, que expresa CCL1, TNF α , CD86 e IL-6, niveles altos de IL-10 y niveles bajos de IL-12, teniendo un rol crucial en la tolerancia inmune. Los macrófagos M2c son productores de TGF- β e IL-10. El TGF- β se ha visto que puede desempeñar un papel inmunorregulador al inducir la diferenciación de las células T reguladoras, desempeñando un papel importante en el mantenimiento de la tolerancia inmune. Esta contribuye al normal desarrollo y mantenimiento de la microbiota residente del tracto respiratorio, sin olvidar que la misma está directamente influenciada por factores ambientales y del huésped.¹¹

En múltiples experimentos se ha visto que la microbiota del tracto respiratorio afecta las respuestas inmunitarias locales. A manera de ejemplo, se estudió la microbiota del TRB, encontrándose una asociación entre la presencia de *Prevotella spp.* y *Veillonella spp.* con un mayor número de linfocitos en el lavado broncoalveolar y un aumento de la respuesta inflamatoria local, en una población de pacientes cursando un síndrome de dificultad respiratoria aguda.¹² Se ha mostrado que la colonización temprana por la microbiota tiene un papel importante en la regulación inmune a largo plazo. Por un lado, se ha demostrado que la colonización bacteriana en la etapa neonatal dirige a las células T reguladoras a la piel y es esencial para la inducción de tolerancia inmune hacia los microorganismos comensales de la misma. Por otra parte, existe una relación positiva entre la microbiota pulmonar y las células T reguladoras, mediada principalmente por la expresión inducida del ligando 1 de muerte programada (PDL1) en las células dendríticas. La estimulación del PDL1 y la consecuente activación de células dendríticas tolerogénicas, son importantes para la atenuación de las respuestas alérgicas de las vías respiratorias mediadas por células T reguladoras en las primeras semanas de vida. También, se ha demostrado que la microbiota induce la disminución de las

quimioquinas CXCL16 lo que atenúa el reclutamiento de células Natural Killer, que contribuirían al aumento de la inflamación alérgica de las vías respiratorias (Figura 1a)¹¹

A través de diversos estudios se ha visto que la microbiota tendría un papel de suma importancia para el desarrollo del tejido linfoide en los recién nacidos, impactando en la conformación del sistema inmune en el adulto. Para ejemplificar lo mencionado, se ha estudiado como la organogénesis del tejido linfoide asociado a la nasofaringe (NALT) solo se inicia en la primera semana de vida y es estimulada por microorganismos que forman parte de la microbiota¹³. En otro estudio se expuso a ratones recién nacidos al lipopolisacárido (LPS) observándose la formación de tejido linfoide asociado a los bronquios (BALT), mientras que dicho proceso no ocurrió cuando se realizó el mismo procedimiento en una etapa posterior de la vida.¹⁴ En consonancia con esto último, se ha visto que la carencia de microbiota conduce a la inmadurez del sistema inmunológico pulmonar, lo que hace que el huésped sea susceptible a trastornos pulmonares como la displasia broncopulmonar y el asma alérgica.¹¹

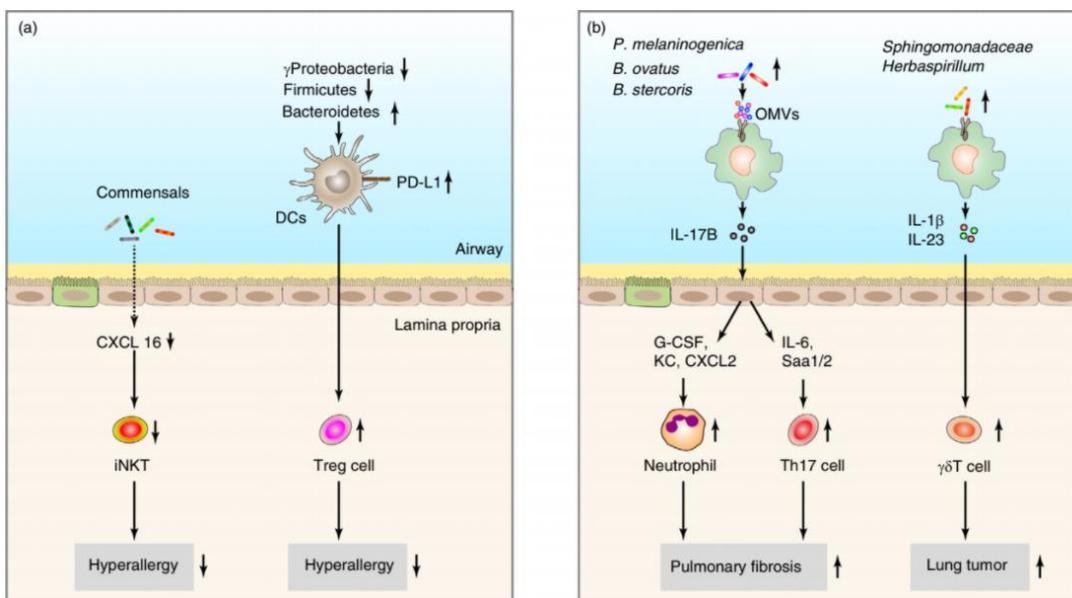


Figura 1(Extraído de D. Yang y cols.). Los efectos de la microbiota respiratoria sobre el sistema inmune. (a) En el sector izquierdo de la imagen se describe cómo la microbiota induce la disminución de la quimioquina CXCL16 que lleva a un descenso de las células Natural Killer, con la consiguiente disminución de la respuesta alérgica en el pulmón. En el sector derecho de la imagen se describe cómo la microbiota pulmonar promueve la expresión del PDL1 en las células dendríticas, lo cual es necesario para la atenuación de las respuestas alérgicas de las vías respiratorias mediada por células Treg. (b) El desbalance de la microbiota pulmonar contribuye a la inflamación crónica, promoviendo la progresión de enfermedades pulmonares como la fibrosis y los tumores.¹¹

La disbiosis, que se puede generar por diferentes factores intrínsecos como extrínsecos, contribuye a la inflamación crónica, que promueve la progresión de enfermedades pulmonares inflamatorias. Las células dendríticas residentes a nivel pulmonar cumplen un papel importante en la mediación del efecto de la disbiosis en la progresión de enfermedades pulmonares

inflamatorias crónicas (Figura 1b). Algunos de los factores que contribuyen a la disbiosis son: la deficiencia genética del gen Muc5b o pIgR que generan una disrupción de la barrera directa en el pulmón y los antibióticos que inhiben la actividad de células inmunitarias locales, y afectan la supervivencia de bacterias residentes. Otro factor que influye es la progresión de muchas enfermedades pulmonares, incluidas las infecciones virales y la fibrosis, que suelen ir acompañadas de defectos inmunitarios e inflamación crónica. Por otro lado, se encuentran los organismos transportados por el aire y el tabaquismo, que pueden afectar directa o indirectamente la composición bacteriana pulmonar. Las modificaciones en la dieta están asociadas con cambios de metabolitos que tienen efectos sistémicos sobre el sistema inmunológico. Es importante destacar la estrecha interacción del pulmón con el intestino que conforma el eje del intestino-pulmón, que está mediada principalmente por cambios de metabolitos y del estado de las células inmunitarias¹¹.

Se puede concluir que es creciente la evidencia de que tanto las señales ambientales tempranas como aquellas derivadas de la microbiota son fundamentales para el desarrollo del tejido linfoide en los recién nacidos, dando forma al sistema inmunológico del huésped a largo plazo. Por otro lado, se denota que la presencia de la microbiota respiratoria en un período inicial del desarrollo es crucial para regular la respuesta inmune adaptativa a los comensales en la vida adulta, influyendo en el delicado balance entre el huésped, la microbiota y el medio ambiente para determinar un equilibrio a largo plazo. A su vez, la deficiencia de la microbiota respiratoria y la disbiosis, afectan directamente la población de células inmunes a nivel local y sistémico, favoreciendo la aparición y progresión de diferentes enfermedades de las vías respiratorias. La microbiota tiene varios efectos en la inmunidad innata, dentro de los cuales se destacan la regulación del funcionamiento de la barrera mucosa mediante la modulación de la producción de moco, y por otro lado genera un descenso de la hiperreactividad de las vías respiratorias a los alérgenos a través del descenso del reclutamiento de células Natural Killer, como de la activación de células T reguladoras. Por último, es sabido que la microbiota pulmonar alterada está asociada con la patogenia de casi todas las enfermedades pulmonares crónicas. Sin embargo, se desconoce en gran medida si la disbiosis es una consecuencia o una causa de estas enfermedades.

¿Cuál es el rol de la microbiota en la patogenia de las enfermedades infecciosas del tracto respiratorio?

En esta sección se abordará el rol de la microbiota en la etiopatogenia de infecciones virales y bacterianas, su vinculación con el riesgo de infecciones frecuentes, así como también las perspectivas en la aplicación de estos conocimientos para el abordaje clínico de las infecciones del tracto respiratorio.

El avance en la investigación de los últimos años ha permitido realizar diversos e interesantes hallazgos acerca de la composición y el rol de la microbiota en el desarrollo de infecciones virales. Existen ciertos perfiles de microbiota que se vinculan con un riesgo aumentado para el desarrollo de patologías infecciosas. Un ejemplo de esto es la colonización temprana en neonatos por *S. pneumoniae*, *H. Influenzae* o *M. catarrhalis*, los cuales predisponen a un riesgo mayor para el desarrollo de cuadros infecciosos como bronquiolitis y neumonías virales.⁵ Se ha visto también que ratones expuestos a antibióticos orales, los cuales afectan la microbiota normal, están más predispuestos a la muerte tras la inoculación de virus *Influenza* intranasal.¹⁵ El cuestionamiento que rápidamente surge de estas asociaciones es, ¿Cuál es el mecanismo por el cual la microbiota favorece (o no) el desarrollo de infecciones virales? Si bien los mecanismos exactos aún no son del todo claros, se postula que la inmunomodulación, llevada a cabo por la interacción microbiota-sistema inmune, juega un rol clave¹⁶. En este mismo sentido, en un modelo de infección por virus *Influenza* se detectó que una bacteria era responsable del desarrollo de mecanismos de defensa antivirales mediados por citoquinas dependientes del inflamósoma y reacciones específicas de CD4 y CD8.¹⁷ Por otro lado, se ha visto que la replicación viral en el tracto respiratorio se puede ver favorecida por la presencia de *S. pneumoniae*, favoreciendo la recurrencia de infecciones virales en los pacientes colonizados por dicha bacteria.^{18,19} En consonancia, una investigación identificó microbiotas ricas en patógenos como *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. Influenzae*, *M. catarrhalis* y *Klebsiella pneumoniae* en individuos que se encontraban cursando infecciones virales,²⁰ vale aclarar que estos resultados mostraron correlación pero no dirección ni causalidad. En el caso particular de la infección por virus *Influenza* se han realizado hallazgos interesantes acerca de su vinculación con la microbiota. En una investigación en la que se caracterizó la microbiota respiratoria de pacientes que cursaban una infección por virus *Influenza* H1N1, se describió que un tercio de los pacientes fallecidos no tenía condiciones médicas que explicaran tal desenlace de la enfermedad.²¹ A partir de esta afirmación es posible preguntarse qué otra condición podría ser un factor de riesgo para severidad de esta infección, y si podría ser la composición de la microbiota respiratoria. Como respuesta a esta interrogante se encontró una publicación en la cual se plantea una correlación entre la composición de la microbiota nasofaríngea y la severidad del cuadro infeccioso por virus *Influenza*. Los investigadores encontraron que los individuos con cuadros severos poseían menor abundancia de *S. aureus* y mayor cantidad de *Prevotella*, *Streptobacillus*, *Porphyromonas*, *Granulicatella*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, y *Haemophilus*, en comparación con aquellos que presentaban cuadros más leves.²⁰ En otro estudio, los investigadores compararon composiciones de microbiota respiratoria de individuos infectados con virus *Influenza* y sus contactos sanos. Obtuvieron muestras realizando hisopados nasofaríngeos, y realizaron secuenciación de ARN. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un modelo probabilístico,²² que agrupó dichas muestras en cuatro comunidades

(Community state type -CST-) según su composición. Mediante estos procedimientos encontraron un cierto grupo de microbiotas orofaríngeas que se asociarían a un menor riesgo de enfermedad por virus *Influenza*. Estas composiciones serían más frecuentes en adultos y raras en niños¹⁶ (Figura 2).

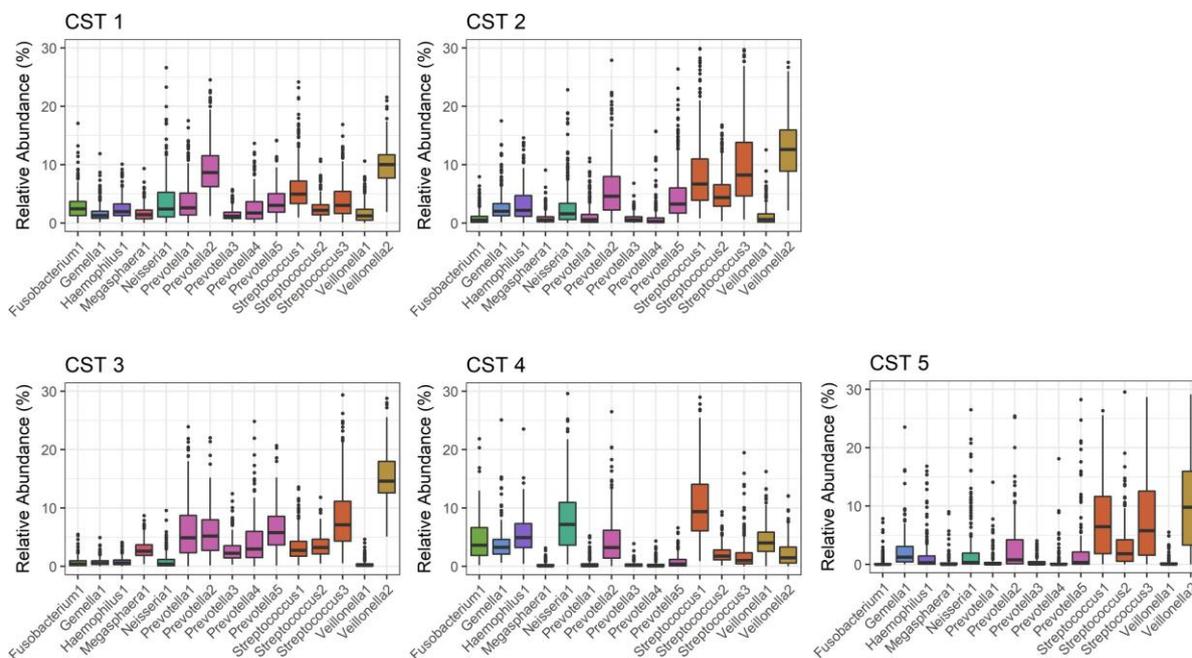


Figura 2 (Extraído de Lee KH y Cols.) En esta imagen se aprecian los diferentes CST y la frecuencia relativa de los oligotipos que los componen. El grupo CST 4 presentó un Odds menor para la infección por virus *Influenza*.¹⁶

Un grupo de investigación utilizó PCR para identificar bacterias en el tracto respiratorio de adultos con (AInf.) y sin infección (AS) por *Influenza A*. Estos investigadores encontraron que existían diferencias significativas: *S. aureus* estaba presente en 12% (AInf.) vs. 5% (AS), *S. pneumoniae* 24% (AInf.) vs. 11% (AS), y por último *H. Influenza* 32% (AInf.) vs. 10% (AS)²⁰. Nuevamente es relevante aclarar que tan solo se estableció correlación y no causalidad. En esta misma línea, otro grupo concluyó que personas adultas infectadas por virus *Influenza* expresaron una carga bacteriana mucho mayor de *S. aureus* y *S. pneumoniae*. Esta misma investigación demostró que sujetos a los que se les administró una vacuna intranasal a virus *Influenza* atenuado, presentaron un aumento en la variedad de su microbiota respiratoria alta, en relación a un grupo control.¹⁶

Si bien la cantidad de estudios aleatorizados y pruebas clínicas encontradas para esta revisión no son abundantes, los resultados presentados permiten realizar algunas conclusiones. En primer lugar, existe una clara correlación entre las infecciones virales, el virus *Influenza* ha sido el más estudiado, y la composición y variedad de la microbiota respiratoria. Como ya se aclaró, aún falta evidencia acerca de causalidad entre estas variables. Por otro lado, se podría plantear que el conocimiento y clasificación de la composición de la microbiota de un individuo, o una población, podría ser útil para predecir la evolución y el pronóstico ante una infección

respiratoria viral. Por último, como argumenta uno de los estudios referenciados, podría plantearse a la microbiota como un blanco terapéutico en el tratamiento de la infección por virus *Influenza*¹⁶.

Al igual que ocurre en las infecciones virales, la vinculación entre ambiente-huésped-microbiota jugaría un rol predisponente y determinante en la patogenia de las infecciones de origen bacteriano.⁵ Se plantea que la variación en la composición de la microbiota podría vincularse al riesgo de aparición y desarrollo de infecciones bacterianas. Esto ocurriría a causa de la disbiosis, tanto a nivel respiratorio como intestinal.²⁰ Un ejemplo de esta asociación es la colonización del TRA por *Rhinovirus*, la cual fue asociada a un mayor riesgo de adquisición de *S. pneumoniae* comunitario.²⁰ En consonancia con estos postulados otro grupo de investigación encontró que la neumonía aguda comunitaria (NAC) se asocia a disbiosis del tracto respiratorio superior, específicamente a una proliferación monomicrobiana.²³ Al momento de comparar poblaciones, este mismo grupo halló que los adultos mayores con NAC poseían una mayor proporción de *Streptococcus* y menor cantidad de *Gemellales*, *Prevotella* y *Veillonella*, en relación a adultos mayores sanos.²³ Resta conocer si esta variación de la microbiota es causa o consecuencia de la infección bacteriana. Otra investigación, que analizó la composición de la microbiota en lactantes a lo largo de los primeros dos años de vida, concluyó que existen determinados perfiles de composición de la microbiota (Figura 3) que se vinculan a mayor estabilidad y menor riesgo de infecciones²⁴.

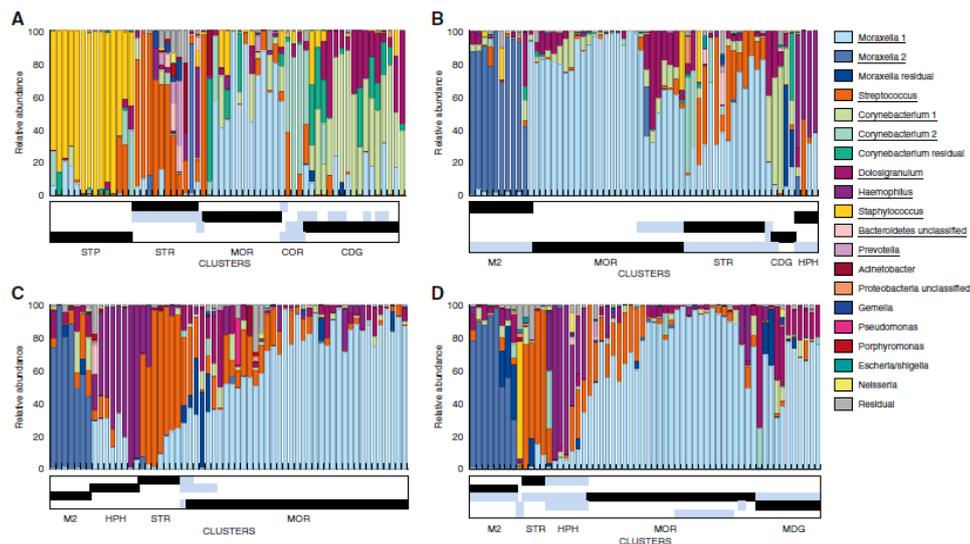


Figura 3 (Extraído de Biesbroek G. y Cols.) Los investigadores utilizaron algoritmos de procesamiento de datos para caracterizar y agrupar la composición de la microbiota en lactantes durante su desarrollo: 1.5 (A), 6 (B), 12 (C) y 24 (D) meses. Cada cluster se identifica según el oligotipo predominante: CDG *Corynebacterium* y *Dolosigranulum*, COR *Corynebacterium*, HPH *Haemophilus*, M2 *Moraxellalincolnii*, MDG *Moraxella* y *Dolosygranulum*, MOR *Moraxella*, STR *Streptococo*. Los grupos que tienen una mayor cantidad de *Moraxella* y *Corynebacterium* fueron asociados a mayor estabilidad y menor riesgo de enfermedad.²⁴

Si bien existe evidencia suficiente sobre la correlación entre la microbiota y las infecciones respiratorias, aún queda mucho por comprender, por ejemplo sobre los mecanismos que determinan esta vinculación. En dicho sentido, se ha propuesto que la disbiosis del tracto respiratorio superior, provocada principalmente por virus y bacterias, generaría las condiciones necesarias para el desarrollo de infecciones bacterianas.²⁰ Para el caso específico de la infección por *S. pneumoniae* no se han dilucidado completamente los mecanismos patogénicos, si bien se conocen determinados procesos. Un ejemplo de esto es la colonización normal y equilibrada del TRA por esta bacteria, la cual puede desequilibrarse cuando la microbiota se ve afectada, dando paso al desarrollo y progresión de la infección por *S. pneumoniae*.²³

Un posible mecanismo que explique la relación entre la patogenia de las infecciones respiratorias bacterianas y la composición de la microbiota es la modulación del sistema inmune. Un ejemplo de esto es la alta incidencia de tuberculosis activa en individuos que no mostraron anticuerpos IgG anti-*H. pylori*, en relación a aquellos que sí mostraban.¹⁷ Otro ejemplo, de la vinculación microbiota-sistema inmune, es la diferencia encontrada en la composición de la microbiota entre niños con neumonía por *Mycoplasma pneumoniae* (NMP). Aquellos individuos que presentaron NMP con el desarrollo de tapón mucoso bronquial mostraron relaciones aumentadas de *Mycoplasma/Shingomonas* y *Mycoplasma/Elizabethkingia*, en comparación con individuos con NMP sin tapón mucoso.²⁵ Estas diferencias en la composición de la microbiota podrían causar reacciones inmunes desproporcionadas con la consecuente manifestación clínica del tapón mucoso²⁶. En los casos anteriores se hace referencia a una reacción inmune exacerbada como factor etiopatogénico, pero, como es de esperar, un sistema inmune deficiente también puede ser un factor determinante en la progresión de estas infecciones. Un ejemplo de esto se evidencia en un estudio de caso-control en el cual se estudiaron pacientes pediátricos con infección neumocócica. Los investigadores encontraron perfiles de microbiota con mayor diversidad en los casos en relación a los controles. Los investigadores no solo plantean que esto pueda deberse a un sistema inmune deficiente, sino que también proponen utilizar estos hallazgos como biomarcadores de riesgo y severidad.²⁷ Estos son algunos ejemplos de posibles aplicaciones clínicas del conocimiento de la composición de la microbiota como marcador pronóstico o de gravedad de las infecciones respiratorias.

En cuanto a las consideraciones de la microbiota como un blanco terapéutico, diversos estudios han demostrado la capacidad de los probióticos de actuar en múltiples sitios, incluido el tracto respiratorio.²⁸ Las infecciones respiratorias altas como el resfriado común y las infecciones respiratorias bajas como neumonías podrían beneficiarse de tratamientos con probióticos. Éstos, en su función preventiva contribuyen a la reducción del sobrecrecimiento de los patógenos, con la consiguiente restauración de la microbiota perdida y su actividad metabólica. Esto permite

estimular la respuesta inmune y restablecer una microbiota competente que prevenga la infección por patógenos.²⁸

Si bien aún queda mucho por estudiar, todos estos avances demuestran la importancia clínica del conocimiento de la composición de la microbiota, y hacen prever la posible utilización de la misma como herramienta diagnóstica, pronóstica y terapéutica.

¿Cómo determina, la microbiota, el desarrollo de patologías respiratorias crónicas como el Asma o el EPOC?

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por una hiperrespuesta de la vía aérea con limitación variable a la espiración que lleva a exacerbaciones intermitentes de sibilancias, disnea, tos y opresión torácica. Es heterogénea con distintos fenotipos clínicos cuya expresión depende del juego de diversos factores ambientales sumados a la susceptibilidad genética^{29,30}.

Está demostrado que, comparado con una población control, los pacientes asmáticos presentan una mayor carga y diversidad bacteriana con una abundancia relativa de *Protobacteriae*,³¹ la cual se encuentra asociada con la hiperrespuesta bronquial y una disminución en *Bacteroidetes* y *Prevotella*.³² Dentro de las especies más abundantes en la microbiota bronquial de pacientes asmáticos se encuentran: *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Sphingomonadaceae*, y *Haemophilus*. Éste último es el patógeno potencial más frecuentemente aislado de la vía respiratoria de los pacientes asmáticos. Por otro lado, también se ha observado una baja proporción de *Lactobacillales*.³³ En cambio, en los pacientes sanos fueron aislados *Prevotella*, *Veillonella spp*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*. Existe evidencia acerca de que los pacientes con asma moderada presentan una microbiota que se asemeja más a la de los pacientes sanos que a la de los pacientes con asma severa.²⁹ De todos modos existe controversia sobre si la composición de la microbiota difiere de forma significativa entre pacientes con asma moderada y asma severa. Algunos autores plantean que no existe dicha diferencia³² mientras que otros argumentan que la composición de la microbiota varía según la progresión de la enfermedad y que tanto el asma severa como las exacerbaciones se asocian a la presencia de *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella*.³³ El desarrollo del aparato respiratorio cumple un rol importante en la patogenia de esta patología, y la microbiota también cumple un papel en este aspecto, habiéndose demostrado que una microbiota rica en *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae* y *Moraxella catarrhalis* en edades tempranas se relaciona con un aumento de la prevalencia de asma a los 5 años.³⁴ Pero no solo las bacterias juegan un rol relevante, también las infecciones virales cobran protagonismo en edades tempranas actuando como gatillos claves para el desarrollo de asma. La evidencia apunta a que los virus pertenecientes a la familia *Anelloviridae* fueron identificados como los más relevantes. Del mismo modo que los

anteriores, la exposición fúngica se encuentra asociada con el desarrollo, progresión, severidad y exacerbación en el asma.³³

El asma es una patología que presenta una mayor incidencia en los países desarrollados, donde se ha convertido en un problema importante de salud pública. Esto sugiere un papel relevante del factor ambiental en su etiología, posiblemente al alterar la composición y diversidad de la microbiota de la vía aérea.³⁵ Un término conocido como la *hipótesis de higiene* puede, en parte, explicar la incidencia desproporcionadamente alta de asma en occidente, particularmente en los países desarrollados. Esta teoría plantea que las infecciones y la exposición repetida a microorganismos durante la infancia, pueden estimular al sistema inmune promoviendo una respuesta protectora contra el riesgo de desarrollar asma a futuro.²⁹ La hipótesis de higiene plantea que existe una asociación entre la baja prevalencia de enfermedades infecciosas durante la infancia y el aumento en la prevalencia del desarrollo de alergias y asma, donde la reducida exposición a infecciones en las etapas tempranas de la vida llevaría a un trastorno en la tolerancia de la mucosa y un aumento en la patología autoinmune.³¹ Siguiendo este razonamiento, se plantea que factores como: la exposición a la tierra, al polvo, a los microbios, la utilización de antibióticos, vacunas, el contacto con animales de granja, el tamaño de la familia, el mecanismo de nacimiento vía cesárea o vaginal, la alimentación con fórmula o leche materna pueden determinar un riesgo o ser factor protector para el desarrollo de asma. Esto se podría explicar a través de la exposición al LPS, componente de bacterias gram negativas. En este sentido, un estudio demostró una menor incidencia de asma en ratones al suprimir la activación epitelial y de células dendríticas a través de la enzima modificadora de ubiquitina A20.³⁶

El uso de antiinflamatorios y antibióticos también pueden alterar la microbiota del aparato respiratorio, lo que puede llevar a resistencia, resiliencia, redundancia funcional o microbiota permanentemente alterada. Se ha demostrado que incluso previo al nacimiento puede existir exposición a los antibióticos por vía placentaria, lo cual generaría alteraciones de la microbiota materna, pudiendo repercutir a nivel perinatal.²⁹ Este proceso se explica por la exposición a microorganismos durante el desarrollo pulmonar cuando los neonatos son expuestos a bacterias, las cuales pueden afectar la maduración del tejido respiratorio normal, ocasionando susceptibilidad a patologías respiratorias tal como es el caso del asma alérgica.³⁶ Algunos estudios demostraron que niños viviendo en zonas rurales tendrían una menor prevalencia de asma que el grupo referencia, lo que sugiere que una exposición amplia de microorganismos ofrece un efecto protector contra el desarrollo de asma y atopías. Este fenómeno fue incluso mayor en adultos que permanecieron en el ambiente rural.³⁶ Se ha planteado otra hipótesis denominada *microbiota en desaparición*. Ésta plantea que al verse reducida la colonización por unos microorganismos específicos llamados “comensales antiguos”, los cuales colaboran en

múltiples procesos vinculados con la inmunidad, aumentaría la susceptibilidad a la infección por microorganismos potencialmente patógenos. Este planteo contrasta con la hipótesis de higiene ya que propone que la susceptibilidad es consecuencia de la reducción en la población de microorganismos comensales antiguos y no del descenso de microorganismos en general.²⁹

La microbiota no solo participa en la predisposición del asma, sino que también es protagonista de su fisiopatología. Según la evidencia hallada, el pulmón sano estaría más influenciada por la llegada y la depuración de microorganismos que por las condiciones pulmonares que influyen en las tasas de crecimiento bacteriano. Este patrón puede revertir en pacientes con patología pulmonar avanzada debido a afectaciones en el ambiente pulmonar inducidas por la progresión de la enfermedad.²⁹ Esto se explicaría por los microorganismos que pueden afectar la permeabilidad del epitelio, aumentando el riesgo de infección, mediante la invasión de células epiteliales causando muerte celular y posterior descamación. Al comprometer el epitelio, el ingreso de alérgenos y el efecto de la exposición ambiental a contaminantes pueden generar un aumento de futuras exacerbaciones y mayor respuesta inmune, por lo tanto existiría una mayor respuesta patológica y mayor riesgo de desarrollar asma.²⁹ El epitelio de la vía aérea también es fundamental en la respuesta inflamatoria del huésped y una gran fuente de mediadores proinflamatorios. Se ha mostrado que las células Th2 juegan un rol clave en la patogénesis de desórdenes alérgicos, llevando a que las células B realicen el cambio de clase y produzcan anticuerpos IgE específicos contra el alérgeno. Estas células Th2 reclutan y aumentan la sobrevivencia de eosinófilos y mastocitos, inducen hiperplasia de las células caliciformes y aumentan aún más la hiperrespuesta bronquial. En la barrera epitelial, sitio donde ocurre la presentación del alérgeno, al existir una disrupción en la continuidad de dicho tejido y pérdida de la barrera física, se propagaría aún más la respuesta alérgica e inflamatoria.²⁹ Existe un vínculo fuerte entre las infecciones respiratorias y la patogénesis del asma. El *Virus Respiratorio Sincicial* (VRS), el *Metapneumovirus*, el *Coronavirus*, los *Parainfluenza* y el *Rhinovirus* humano son algunos de los virus que se vinculan con enfermedades respiratorias como el asma. Las infecciones virales pueden tener efectos severos en pacientes asmáticos o personas con riesgo de desarrollar asma causando exacerbaciones y empeorando el pronóstico de la enfermedad, entre ellos se destaca el *Rhinovirus* humano que también puede actuar como gatillo para exacerbaciones del asma. Una infección aguda por VRS junto con una historia familiar de asma, incrementan sinérgicamente el riesgo de desarrollo de asma en un individuo, poniendo en evidencia la interacción entre genes y ambiente que tiene implicancias pronósticas en el asma.²⁹ También se conoce que las infecciones virales predisponen a infecciones bacterianas secundarias. Se ha demostrado que, luego de una exposición a VRS, hay un aumento en la adherencia de *Streptococcus pneumoniae* a las células epiteliales humanas.^{37,38} A su vez, la exposición a alérgenos fúngicos puede tener un efecto devastador en asmáticos. Los

hongos contienen proteínas que son perjudiciales para el epitelio de la vía aérea, amplifican las reacciones inmunes y actúan también como alérgenos. Es posible que la colonización fúngica en un paciente asmático constituya una fuente crónica de exposición a alérgenos, propagando la inflamación de la vía aérea.²⁹

Respecto a cómo se relacionan la microbiota de la vía aérea y el tratamiento del asma existen diversos planteos. En ensayos *in vitro* se demostró que el Salmeterol reduce la adherencia bacteriana a la mucosa de la vía respiratoria, así como el daño causado por *P. aeruginosa* y *H. Influenzae*. A su vez, el tratamiento con corticoides aumenta la abundancia de *Protobacteriae*, en particular *Pseudomonas* y disminuye *Bacteroidetes*. Por otro lado, el tratamiento a baja dosis con macrólidos también influyó sobre el crecimiento de patógenos y la función inmune innata.³⁹ También se plantea el tratamiento con probióticos en esta patología, lo cual tendría resultados prometedores según algunos ensayos. Estudios en los que se utilizaron *Lactobacillus Gasseri* PM A0005 en niños de 6 a 12 han demostrado mejorar los síntomas y el funcional respiratorio, con la reducción de los niveles en sangre de citoquinas proinflamatorias.⁴⁰ Por otro lado, el tratamiento con *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus dulbruecki*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Bifidobacterium bifidim*, por 12 semanas, en niños con asma atópica moderada genero una mejoría del funcional respiratorio y de las exacerbaciones.⁴¹

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una de las patologías respiratorias más prevalentes.³¹ Se trata de una enfermedad inflamatoria de la vía aérea que se caracteriza por bronquitis crónica, enfisema, obstrucción permanente al flujo de aire que no es reversible y función pulmonar disminuida.³³ La enfermedad, si bien es prevenible y tratable, muestra una morbi-mortalidad que va en aumento con el progreso de la misma.⁹ Entre los síntomas que la caracterizan se encuentra la disnea que suele ser progresiva y persistente, tos crónica que puede ser intermitente e improductiva y expectoración crónica.⁴² No se la considera únicamente como una enfermedad que involucra a los pulmones, sino más bien se asocia con un componente inflamatorio sistémico que une la enfermedad junto con otras comorbilidades extrapulmonares tales como patología cardiovascular, alteraciones músculo esqueléticas, diabetes, osteoporosis, ansiedad y depresión.⁴³

La diversidad de la microbiota y su abundancia relativa en algunas especies difiere substancialmente entre los pacientes con EPOC y personas sanas.³³ Está bien establecida la colonización en los bronquios por microorganismos potencialmente patógenos que incluye a especies como *H. Influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. parainfluenzae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* y no potencialmente patógenos como son: *Streptococcus viridans*, *Neisseria spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Enterococcus spp.* y *Staphylococcus spp.*⁴² También se han caracterizado especies fúngicas tales como *Cryptococcus*, *Alternaria*, *Cladosporium*,

Aspergillus, *Penicillium* y *Pneumocystis*.⁴² Pero la dirección de causalidad entre esta colonización y el proceso inflamatorio, limitación al flujo de aire y destrucción del parénquima pulmonar no está aún definida. Existe evidencia de una relación entre la aparición de los síntomas de exacerbación y la adquisición de nuevas cepas bacterianas.⁴⁴

Un estudio demostró que los diferentes sectores pulmonares en un sujeto con EPOC presentan comunidades bacterianas distintas, concordando con el hecho clínico que algunas formas de la enfermedad comienzan de manera más frecuente en determinadas zonas del pulmón.⁴² Está demostrado que la composición de la comunidad microbiana en las vías aéreas respiratorias inferiores de pacientes con EPOC difiere en pacientes fumadores y no fumadores, lo que indica que un componente de la enfermedad se asocia a cambios en la microbiota.³⁴ Existe una abundancia de *Proteobacteriae*, *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en los pacientes fumadores.⁹ Los pacientes con EPOC presentan bacterias potencialmente patógenas, y el proceso de colonización aparece temprano en la evolución de la enfermedad y aun cesando el hábito tabáquico, los pacientes con EPOC permanecen con su microbiota modificada.⁹ La colonización / infección de la vía aérea inferior puede jugar un rol importante en la progresión de EPOC. Hay estudios que demuestran una asociación entre la presencia de bacterias y mayores niveles de inflamación, frecuencia de exacerbaciones y disminución de la función pulmonar.⁴⁵

Las disbiosis que presenta el pulmón de estos pacientes puede ser responsable del estímulo inflamatorio constante que se observa en el EPOC y que, aunque estos organismos no son causantes de la enfermedad, podrían alterar el ambiente pulmonar favoreciendo su progresión.⁴² En un estudio comparativo, se caracterizó una comunidad particular presente en la vía aérea de pacientes con EPOC que se diferencia de la de los pacientes sanos, y muestra que cambios en la microbiota pulmonar se pueden asociar con aumento de inflamación de la vía aérea y progresión de la enfermedad.³¹ La inflamación crónica en el EPOC se asocia a una microbiota dominada por *Gamma proteobacteriae*, junto con *Actinobacteria*. Además, se asocia con infiltración de células inmunes en el tejido pulmonar incluyendo neutrófilos, eosinófilos y células B.³³

Se especula que la enfermedad pulmonar obstructiva crónica está causada en parte por inflamación secundaria a infecciones crónicas y recurrentes de la vía aérea. La ocurrencia y severidad de EPOC están mediadas por interacciones complejas entre el sistema inmune del huésped, factores ambientales y patógenos respiratorios.³¹ Se plantea la hipótesis de la especie piedra angular, la cual explica que incluso pequeños cambios en la cantidad de especies bacterianas pueden conllevar cambios importantes en la estructura de la microbiota total y en consecuencia llevar a alteraciones del estado de la enfermedad. Se demostró que el aumento de *Haemophilus spp.* y posiblemente de otras *Proteobacterias* pueden remodelar la microbiota pulmonar normal, llevándola a un estado de disbiosis y causando una respuesta pro inflamatoria

en el huésped.³¹ La posibilidad de que la microbiota alterada contribuya a la progresión de EPOC se abarca a través de la hipótesis del círculo vicioso.⁴⁶ Esta hipótesis propone que la inhalación de sustancias agresivas como tabaco o humo inducen alteraciones en el sistema inmune innato, que a su vez modifican la microbiota, permitiendo que bacterias específicas ingresen al tracto respiratorio por micro aspiración o inhalación, donde persisten y proliferan, volviéndose la microbiota más abundante. Las bacterias activan señales a través de PRRs en la vía aérea epitelial y células inmunes induciendo inflamación. Esta microbiota es capaz de causar el proceso inflamatorio en EPOC lo que lleva a obstrucción progresiva al aire y posiblemente daño parenquimatoso, afectando aún más los mecanismos de defensa inmune innata lo que lleva a que continúe la persistencia y proliferación bacteriana cerrando así el círculo vicioso. La teoría explica también por qué la injuria y pérdida de función característica del EPOC continúa incluso cuando se remueve la exposición al agente dañino. Cuando ocurre un cambio agudo en la microbiota, por ejemplo introduciendo una cepa nueva de un patógeno respiratorio, ocurren respuestas inflamatorias mayores, lo que clínicamente se presenta como una exacerbación.^{46,47}

El tratamiento actual para EPOC y sus exacerbaciones es discutido y controversial. Las guías clínicas recomiendan tratar exacerbaciones con broncodilatadores, antibióticos y corticosteroides sistémicos aunque estos se asocien con efectos limitados en reducir la mortalidad, efectos adversos y falta de especificidad a la heterogeneidad de las exacerbaciones.⁴³ En pacientes tratados con antibióticos existe controversia en el hecho que, si bien estudios reportan un rol protector para prevenir exacerbaciones, otros encuentran una mayor recurrencia de infecciones por *Clostridium difficile* luego de tratamiento antibiótico. De esto se puede concluir que es controversial la eficacia del uso de antibióticos durante las exacerbaciones, ya que éstos tienen consecuencias adversas en la microbiota al llevar a una pérdida de diversidad que puede causar mayor riesgo de exacerbaciones o progresión de la enfermedad.⁴³ Existen varios estudios que sugieren que el uso de corticoides inhalados y broncodilatadores pueden alterar la microbiota, llevando una mayor diversidad con enriquecimiento de *Proteobacteria* y miembros de otros *phylum*.⁴⁵ Un estudio demostró que pacientes tratados con corticosteroides inhalados muestran una supresión de marcadores inflamatorios y disminución significativa de la carga bacteriana dos semanas luego de la exacerbación, en comparación con pacientes que no utilizaron corticoides inhalados. Salmeterol reduce la adherencia bacteriana a la mucosa de la vía aérea y el daño epitelial inducido por *P. aeruginosa* y *H. Influenzae*. También se demostró que el uso de fluticasona disminuye las respuestas innatas y adaptativas antivirales llevando a menor eliminación viral, hipersecreción mucosa y mayor carga bacteriana pulmonar.³³

¿Cuál es la vinculación de la microbiota con el desarrollo y progresión del cáncer de pulmón?

Si bien no está del todo definido el rol de la microbiota respiratoria en el cáncer de pulmón, se conoce que hay cierta influencia de microorganismos relacionados con la patogenia de esta enfermedad.⁴⁸ Se ha demostrado que el desarrollo de cáncer de pulmón se ve influenciado por la asociación de inflamación crónica, la cual se caracteriza por infiltración de células y acumulación de factores proinflamatorios como las citoquinas, quimioquinas y prostaglandinas, las cuales estimulan la proliferación celular, la angiogénesis, la remodelación tisular y el desarrollo de metástasis.⁴⁹ Un hecho que sugiere una fuerte asociación entre la microbiota y la carcinogénesis es la correlación demostrada entre la reiterada utilización de antibióticos y el mayor riesgo de crecimiento tumoral.⁵⁰ Una de las incógnitas a develar es si la presencia de microbiota es un factor favorecedor o protector contra el cáncer de pulmón. Como respuesta a esta pregunta se halló un estudio en el cual se controló la evolución de cáncer, variedad adenocarcinoma, en ratones con microbiota frente a ratones GF, que tenían mutación del gen *Kras* y eliminación de *p53*. Se demostró que los ratones GF estaban significativamente más protegidos frente al cáncer en comparación con los que sí tenían microbiota. Al mismo tiempo, se expuso a algunos de los GF a microbiota para evaluar la evolución del cáncer, en este caso se vio una evolución mayor en comparación con los que continuaban siendo GF. Los ratones que fueron expuestos a microbiota desde un principio se sometieron a un tratamiento antibiótico basado en ampicilina, neomicina, metronidazol y vancomicina en diferentes momentos luego del inicio de formación del tumor. El resultado de este experimento mostró una supresión del crecimiento tumoral tanto para estadios avanzados como tempranos del tumor. De todas maneras, la información al respecto del tratamiento del cáncer asociando antibióticos aún es muy contradictoria y se debe seguir investigando.⁵⁰ A partir de esta evidencia surge la duda acerca de qué componentes de la microbiota se asociarían al desarrollo de cáncer. En este sentido, ha sido demostrado que la presencia de microorganismos tales como *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter* spp., *E. coli*, *S. pneumoniae*, *Legionella* y *Moraxella* están involucrados en la promoción de la inflamación de los tejidos pulmonares. También existe evidencia acerca de que los pacientes con cáncer de pulmón presentaron mayor proporción de microorganismos del género *Streptococcus* y *Neisseria*, pero menor proporción del género *Staphylococcus* que los pacientes control.⁵⁰ Los géneros *Acidovorax*, *Klebsiella*, *Rhodoferrax*, *Comamonas*, y *Polaromonas* están mayoritariamente relacionados al cáncer de tipo células pequeñas, y suelen estar ausentes o en bajas concentraciones en el adenocarcinoma pulmonar. Se plantea la posibilidad de que los géneros *Capnocytophaga*, *Selenomonas*, *Veillonella*, y *Neisseria* podrían ser potenciales biomarcadores de carcinogénesis tanto para el cáncer de células pequeñas como para el adenocarcinoma.⁵¹ Por otro lado, *Bradyrhizobium japonicum* solo fue hallado en

pacientes con cáncer (mayores cantidades en aquellos cánceres en estadio temprano del tipo escamoso y adenocarcinoma), mientras que *Acidovorax* solo se encontró en pacientes con cáncer y pacientes con enfermedad pulmonar no maligna.⁵² También existiría asociación entre la composición de la microbiota, el desarrollo de enfermedad sistémica y la histología tumoral. En aquellos casos de pacientes con cáncer metastásico se ha detectado una mayor abundancia de *Legionella* en comparación con pacientes con cáncer no metastásico o casos de no malignidad. También se ha identificado un aumento en la presencia de *Thermus* y ausencia de *Ralstonia* en adenocarcinoma en comparación con el carcinoma de células escamosas. También se ha vinculado *Pseudomonas* al adenocarcinoma.⁵¹ Esto apoya una relación entre la microbiota y la histología del tumor⁵³. Por otro lado, también existiría vinculación con microbiota exógena al tracto respiratorio. Así como se ha demostrado que la infección por *H. Pylori* se asocia a mayor riesgo de cáncer gástrico, también se ha planteado la posibilidad de que éste aumente la probabilidad de cáncer de pulmón, dado que sus lipopolisacáridos favorecen la producción de factores proinflamatorios. Entre estos se encuentran IL-1, IL-6 y TNF los cuales llevarían al desarrollo de bronquitis crónica, que se ve asociada al cáncer de pulmón. De todas maneras, se trata de suposiciones y esto aún no ha sido demostrado.⁵¹ Por otro lado, existen estudios que asocian a las bacteriotoxinas con el desarrollo tumoral. Ejemplos de esto son las toxinas de distensión citoletal, la familia de proteínas del factor necrotizante citotóxico y la toxina de *Bacteroides fragilis*, las cuales generan disrupción del sistema de reparación del ADN llevando a la carcinogénesis. Otro estudio demostró que la toxina microcistina de las cianobacterias se relaciona con descenso de los niveles de proteína CD36 y con un aumento de la concentración de enzima PARP1. Además, se ha mostrado que cambios en el microbioma llevan a producción de especies reactivas de oxígeno que conducen al daño del ADN⁵¹ lo que podría relacionarse con el desarrollo de cáncer. Por otro lado, un trabajo de investigación evidenció que la señalización de ERK y fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) se regulan positivamente *in vivo e in vitro* después de la exposición de las células epiteliales de las vías respiratorias a *Veillonella*, *Prevotella* y *Streptococcus*. PI3K es una vía clave involucrada en la patogenia del cáncer de pulmón de células no pequeñas, ya que regula la proliferación y supervivencia celular.⁵⁴ La activación de TLRs juega un rol esencial mediando la carcinogénesis en colon, estómago, hígado y páncreas. Incluso la supresión de TLR4 en ratones suprime el crecimiento tumoral. Esto se explica por la activación, mediada por TLRs, del factor nuclear κ B (NF- κ B) y la señal de transducción y transcripción 3 (STAT3), lo cual promueve la supervivencia de células malignas. A esto se suma el hecho de que la microbiota induce la señalización por MyD88 en células mieloides, que activan producción de IL-23 promoviendo la progresión y respuesta tumoral vía IL-17. Estudios recientes sugieren que una deficiencia de IL-17 promovería el crecimiento y metástasis neoplásica.⁵³ Los NLRs han demostrado ser mecanismos de defensa frente a invasiones bacterianas. En particular, NOD1 ha mostrado inducir efectos protectores impidiendo

una progresión de la inflamación a la carcinogénesis mientras que NOD2 juega un papel vital en la modulación de la microbiota. También, *Bacteroides fragilis* enterotoxigénica (ETBF) desencadena la activación de STAT3 por una respuesta selectiva Th17 en ratones, lo que indica que las bacterias comensales humanas pueden inducir cáncer a través de una vía dependiente de Th17. En adición, la activación de TLRs por la microbiota estimula la expresión de calcineurina y factor nuclear de activación de células T (NFAT) lo que sostiene la supervivencia y proliferación de células madre cancerosas.⁵³ Otra investigación demostró que el butirato derivado de microorganismos podría expandir el conjunto de células Treg mediante la activación de los receptores P3 (FOXP3) y los receptores acoplados a proteínas G. Junto a todo esto, se ha demostrado que la microbiota comensal contribuye a la respuesta celular $\gamma\delta$ T17 contra el cáncer de pulmón en modelo de ratón.⁵³

La patología maligna pulmonar coexiste frecuentemente con otras enfermedades del tracto respiratorio, y la microbiota no escapa a esta vinculación. Algunos trabajos han demostrado que la presencia de *Firmicutes* (*Streptococcus*) y *Bacteroidetes* (*Prevotella*) caracterizan la microbiota de los pacientes con enfisema y cáncer a diferencia de los pacientes que solo presentan enfisema.⁵² Por otro lado, estudios epidemiológicos han demostrado una valorable relación entre Tuberculosis (TB) y la presencia de cáncer. Esto se ha intentado explicar por la inflamación crónica del tejido pulmonar, proceso ya identificado con la carcinogénesis. Además, es sabido que la TB promueve la formación de TNF α y la síntesis de matriz extracelular. Así como la TB favorecería el desarrollo de patología maligna, también se debe mencionar que el tratamiento del cáncer conlleva a un estado de inmunodeficiencia, causado principalmente por la quimioterapia adyuvante, esto llevaría a un mayor riesgo para el desarrollo de TB.⁵³

Se ha evidenciado también que la composición de la microbiota podría condicionar el tratamiento del cáncer de pulmón. Se ha planteado que las bacterias dentro de las células malignas tienen la potencialidad para inactivar el fármaco quimioterapéutico contra el cáncer (Gemcitabina especialmente con la clase *Gammaproteobacteria*).⁵⁵ Otros estudios mostraron que los pacientes tratados con antibióticos antes, durante o poco después del tratamiento con ICIs (Inhibidores del punto de control inmunitario) disminuyeron significativamente su eficacia contra los cánceres epiteliales avanzados, incluido el cáncer de pulmón. También se demostró que el tratamiento previo con antibióticos se asoció con peores resultados en pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas tratados con ICI.⁵⁴ Además de jugar un efecto antitumoral a través de la modulación de la microbiota, algunos antibióticos, como macrólidos, también ejercen efectos farmacológicos directamente sobre las células tumorales, reduciendo la liberación de citoquinas proinflamatorias e inhibiendo la autofagia y la angiogénesis.⁵⁶ En resumen, existe evidencia contundente acerca de la vinculación de la microbiota respiratoria

con el cáncer de pulmón. La composición de la microbiota y la variación de la misma determinarían: el riesgo de desarrollo, la progresión hacia enfermedad sistémica, el tipo histológico y hasta condicionaría el tratamiento de esta patología.

CONCLUSIONES:

A partir de lo expuesto anteriormente es posible realizar las siguientes conclusiones:

-La microbiota respiratoria juega un rol clave en el desarrollo, maduración y regulación del sistema inmune, influyendo así en la patogenia de las enfermedades del tracto respiratorio.

-El proceso de disbiosis ocurre a partir de cambios ambientales, condiciones del tracto respiratorio y otros factores propios del huésped, favoreciendo así el desarrollo de patologías respiratorias.

-Existe una correlación entre la composición de la microbiota y las infecciones respiratorias. El conocimiento de esta asociación podría permitir el desarrollo de herramientas diagnósticas, pronósticas y terapéuticas.

-Respecto a las enfermedades crónicas es evidente el papel fundamental que tiene la microbiota, tanto en la patogenia, en la evolución, así como en su tratamiento.

-Se podría plantear que los cambios en la composición de la microbiota, que afectan los procesos antes mencionados, se vinculan con variaciones puntuales de la misma y no con grandes cambios.

-Si bien la evidencia aún es escasa, se puede considerar que ciertas composiciones de la microbiota se relacionan al tipo histológico de cáncer de pulmón. Esto podría utilizarse como un biomarcador.

-La composición de la microbiota condicionaría el tratamiento sistémico para la patología maligna del tracto respiratorio. Por lo tanto, la identificación de perfiles de microbiota sería de gran utilidad en la aplicación clínica.

-El creciente conocimiento de la vinculación de la microbiota con las diversas patologías del aparato respiratorio, permitirá el desarrollo de herramientas preventivas, diagnósticas, pronósticas y terapéuticas, para el abordaje de dichas enfermedades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Man WH, De Steenhuijsen Piters WAA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: Gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(5):259-270. doi:10.1038/nrmicro.2017.14
2. Beck JM. ABCs of the lung microbiome. In: *Annals of the American Thoracic Society.* Vol 11. ; 2014. doi:10.1513/AnnalsATS.201306-188MG
3. Esposito S, Principi N. Impact of nasopharyngeal microbiota on the development of respiratory tract diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(1). doi:10.1007/s10096-017-3076-7
4. Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EAM, et al. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(11):1283-1292. doi:10.1164/rccm.201407-1240OC
5. Unger SA, Bogaert D. The respiratory microbiome and respiratory infections. *J Infect.* 2017;74:S84-S88. doi:10.1016/S0163-4453(17)30196-2
6. Wu BG, Segal LN. Lung Microbiota and Its Impact on the Mucosal Immune Phenotype. *Microbiol Spectr.* 2017;5(3):1-19. doi:10.1128/microbiolspec.bad-0005-2016
7. Yu G, Gail MH, Consonni D, et al. Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol.* 2016;17(1). doi:10.1186/s13059-016-1021-1
8. Varricchio A, La Mantia I, Brunese FP, Ciprandi G. Inflammation, infection, and allergy of upper airways: New insights from national and real-world studies. *Ital J Pediatr.* 2020;46(1). doi:10.1186/s13052-020-0782-z
9. Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev Respir Med.* 2013;7(3):245-257. doi:10.1586/ers.13.24
10. Nguyen LDN, Viscogliosi E, Delhaes L. The lung mycobiome: An emerging field of the human respiratory microbiome. *Front Microbiol.* 2015;6(FEB):1-9. doi:10.3389/fmicb.2015.00089
11. Yang D, Xing Y, Song X, Qian Y. The impact of lung microbiota dysbiosis on inflammation. *Immunology.* 2020;159(2):156-166. doi:10.1111/imm.13139
12. Krishnamoorthy N, Khare A, Oriss TB, et al. Early infection with respiratory syncytial virus impairs regulatory T cell function and increases susceptibility to allergic asthma. *Nat Med.* 2012;18(10):1525-1530. doi:10.1038/nm.2896
13. Fukuyama S, Hiroi T, Yokota Y, et al. Initiation of NALT Organogenesis Is Independent of the IL-7R, LTβR, and NIK Signaling Pathways but Requires the Id2 Gene and CD3-CD4+CD45+ Cells. *Immunity.* 2002;17(1):31-40. doi:https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00339-4
14. Rangel-Moreno J, Carragher DM, De La Luz Garcia-Hernandez M, et al. The development of inducible bronchus-associated lymphoid tissue depends on IL-17. *Nat Immunol.* 2011;12(7):639-646. doi:10.1038/ni.2053
15. Abt MC, Osborne LC, Monticelli LA, et al. Commensal Bacteria Calibrate the Activation Threshold of Innate Antiviral Immunity. *Immunity.* 2012;37(1):158-170. doi:10.1016/j.immuni.2012.04.011
16. Lee KH, Gordon A, Shedden K, et al. The respiratory microbiome and susceptibility to *Influenza* virus infection. *PLoS One.* 2019;14(1):1-19. doi:10.1371/journal.pone.0207898
17. Hauptmann M, Schaible UE. Linking microbiota and respiratory disease. *FEBS Lett.* 2016;590(21):3721-3738. doi:10.1002/1873-3468.12421
18. Verkaik NJ, Nguyen DT, de Vogel CP, et al. *Streptococcus pneumoniae* exposure is associated with human metapneumovirus seroconversion and increased susceptibility to in vitro HMPV infection. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(12):1840-1844. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03480.x

19. De Lastours V, Malosh R, Ramadugu K, et al. Co-colonization by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in the throat during acute respiratory illnesses. *Epidemiol Infect.* 2016;144(16):3507-3519. doi:10.1017/S0950268816001473
20. Hanada S, Pirzadeh M, Carver KY, Deng JC. Respiratory viral infection-induced microbiome alterations and secondary bacterial pneumonia. *Front Immunol.* 2018;9(NOV):1-15. doi:10.3389/fimmu.2018.02640
21. Chaban B, Albert A, Links MG, Gardy J, Tang P, Hill JE. Characterization of the Upper Respiratory Tract Microbiomes of Patients with Pandemic H1N1 *Influenza*. *PLoS One.* 2013;8(7):1-11. doi:10.1371/journal.pone.0069559
22. Holmes I, Harris K, Quince C. Dirichlet multinomial mixtures: Generative models for microbial metagenomics. *PLoS One.* 2012;7(2):30126. doi:10.1371/journal.pone.0030126
23. De Steenhuijsen Piters WAA, Huijskens EGW, Wyllie AL, et al. Dysbiosis of upper respiratory tract microbiota in elderly pneumonia patients. *ISME J.* 2016;10(1):97-108. doi:10.1038/ismej.2015.99
24. Biesbroek G, Tsvitshivadze E, Sanders EAM, et al. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(11):1283-1292. doi:10.1164/rccm.201407-1240OC
25. Xu X, Wu L, Sheng Y, et al. Airway microbiota in children with bronchial mucus plugs caused by *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Respir Med.* 2020;170. doi:10.1016/j.rmed.2020.105902
26. Libertucci J, Young VB. The role of the microbiota in infectious diseases. *Nat Microbiol.* 2019;4(1):35-45. doi:10.1038/s41564-018-0278-4
27. Lee L-H, Mongodin EF, Salazar N, et al. Nasopharyngeal Microbiota in Children With Invasive Pneumococcal Disease: Identification of Bacteria With Potential Disease-Promoting and Protective Effects on behalf of the Catalan Study Group of Host-Pathogen Interaction in Patients With IPD ‡. *Front Microbiol* / www.frontiersin.org. 2019;1:11. doi:10.3389/fmicb.2019.00011
28. Popova M, Molimard P, Courau S, et al. Beneficial effects of probiotics in upper respiratory tract infections and their mechanical actions to antagonize pathogens. *J Appl Microbiol.* 2012;113(6):1305-1318. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05394.x
29. Sullivan A, Hunt E, MacSharry J, Murphy DM. "The Microbiome and the Pathophysiology of Asthma." *Respir Res.* 2016;17(1):1-11. doi:10.1186/s12931-016-0479-4
30. Johnston RA, Belenky P. Filling a hole in ozone research: The impacts of early life microbiome alterations on pulmonary responses to a non-atopic asthma trigger. *Physiol Rep.* 2020;8(1):8-10. doi:10.14814/phy2.14346
31. Wang Z, Bafadhel M, Haldar K, et al. Lung microbiome dynamics in COPD exacerbations. *Eur Respir J.* 2016;47(4):1082-1092. doi:10.1183/13993003.01406-2015
32. Bunney PE, Zink AN, Holm AA, Billington CJ, Kotz CM. Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiol Behav.* 2018;176(1):139-148. doi:10.1016/j.physbeh.2017.03.040
33. Budden KF, Shukla SD, Rehman SF, et al. Functional effects of the microbiota in chronic respiratory disease. *Lancet Respir Med.* 2019;7(10):907-920. doi:10.1016/S2213-2600(18)30510-1
34. Han MLK, Huang YJ, LiPuma JJ, et al. Significance of the microbiome in obstructive lung disease. *Thorax.* 2012;67(5):456-463. doi:10.1136/thoraxjnl-2011-201183
35. Wang J, Li F, Tian Z. Role of microbiota on lung homeostasis and diseases. *Sci China Life Sci.* 2017;60(12):1407-1415. doi:10.1007/s11427-017-9151-1
36. Mathieu E, Escribano-Vazquez U, Descamps D, et al. Paradigms of lung microbiota functions in health and disease, particularly, in asthma. *Front Physiol.* 2018;9(AUG):1-11. doi:10.3389/fphys.2018.01168

37. Proud D, Leigh R. Epithelial cells and airway diseases. *Immunol Rev.* 2011;242(1):186-204. doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01033.x
38. Hament JM, Aerts PC, Fleer A, et al. Enhanced adherence of *Streptococcus pneumoniae* to human epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Pediatr Res.* 2004;55(6):972-978. doi:10.1203/01.PDR.0000127431.11750.D9
39. Taylor SL, Leong LEX, Choo JM, et al. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(1):94-103.e15. doi:10.1016/j.jaci.2017.03.044
40. Chen YS, Lin YL, Jan RL, Chen HH, Wang JY. Randomized placebo-controlled trial of lactobacillus on asthmatic children with allergic rhinitis. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45(11):1111-1120. doi:10.1002/ppul.21296
41. Gutkowski P, Madaliński K, Grek M, Dmeńska H, Syczewska M, Michalkiewicz J. *Effect of Orally Administered Probiotic Strains Lactobacillus and Bifidobacterium in Children with Atopic Asthma.* Vol 35. Termedia; 2010.
42. Campano Cuevas E. Descripción de la microbiota fúngica presente en el tracto respiratorio de sujetos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. 2016.
43. Toraldo DM, Conte L. Influence of the Lung Microbiota Dysbiosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations: The Controversial Use of Corticosteroid and Antibiotic Treatments and the Role of Eosinophils as a Disease Marker. *J Clin Med Res.* 2019;11(10):667-675. doi:10.14740/jocmr3875
44. Faner R, Sibila O, Agustí A, et al. The microbiome in respiratory medicine: Current challenges and future perspectives. *Eur Respir J.* 2017;49(4):1-12. doi:10.1183/13993003.02086-2016
45. Einarsson GG, Comer DM, McIlreavey L, et al. Community dynamics and the lower airway microbiota in stable chronic obstructive pulmonary disease, smokers and healthy non-smokers. *Thorax.* 2016;71(9):795-803. doi:10.1136/thoraxjnl-2015-207235
46. Sethi S. Chronic obstructive pulmonary disease and infection disruption of the microbiome? *Ann Am Thorac Soc.* 2014;11(SUPPL. 1):43-47. doi:10.1513/AnnalsATS.201307-212MG
47. Mammen MJ, Sethi S. COPD and the microbiome. *Respirology.* 2016;21(4):590-599. doi:10.1111/resp.12732
48. Lee SH, Sung JY, Yong D, et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer.* 2016;102:89-95. doi:10.1016/j.lungcan.2016.10.016
49. Jin C, Lagoudas GK, Zhao C, et al. Commensal Microbiota Promote Lung Cancer Development via $\gamma\delta$ T Cells. *Cell.* 2019;176(5):998-1013.e16. doi:10.1016/j.cell.2018.12.040
50. Liu HX, Tao LL, Zhang J, et al. Difference of lower airway microbiome in bilateral protected specimen brush between lung cancer patients with unilateral lobar masses and control subjects. *Int J Cancer.* 2018;142(4):769-778. doi:10.1002/ijc.31098
51. Kovaleva O V., Romashin D, Zborovskaya IB, Davydov MM, Shogenov MS, Gratchev A. Human Lung Microbiome on the Way to Cancer. *J Immunol Res.* 2019;2019:1394191. doi:10.1155/2019/1394191
52. Jin J, Gan Y, Liu H, et al. Diminishing microbiome richness and distinction in the lower respiratory tract of lung cancer patients: A multiple comparative study design with independent validation. *Lung Cancer.* 2019;136(January):129-135. doi:10.1016/j.lungcan.2019.08.022
53. Mao Q, Jiang F, Yin R, et al. Interplay between the lung microbiome and lung cancer. *Cancer Lett.* 2018;415:40-48. doi:10.1016/j.canlet.2017.11.036
54. Ramírez-Labrada AG, Isla D, Artal A, et al. The Influence of Lung Microbiota on Lung Carcinogenesis, Immunity, and Immunotherapy. *Trends in Cancer.* 2020;6(2):86-97. doi:10.1016/j.trecan.2019.12.007

55. Ekanayake A, Madegedara D, Chandrasekharan V, Magana-Arachchi D. Respiratory Bacterial Microbiota and Individual Bacterial Variability in Lung Cancer and Bronchiectasis Patients. *Indian J Microbiol.* 2020;60(2):196-205. doi:10.1007/s12088-019-00850-w
56. Sommariva M, Le Noci V, Bianchi F, et al. The lung microbiota: role in maintaining pulmonary immune homeostasis and its implications in cancer development and therapy. *Cell Mol Life Sci.* 2020;(0123456789). doi:10.1007/s00018-020-03452-8